

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel
Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade



Tese

**Diversidade genética de biótipos de arroz-daninho e possíveis respostas num
cenário de mudanças climáticas**

Leonard Bonilha Piveta

Pelotas, 2017

Leonard Bonilha Piveta

Diversidade genética de biótipos de arroz-daninho e possíveis respostas num cenário de mudanças climáticas

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Fitossanidade (área de conhecimento: Herbologia).

Orientador: José Alberto Noldin, Ph.D.

Coorientadores: Fabiane Pinto Lamego, Dra.

Carlos Eduardo Schaedler, Dr.

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

P579d Piveta, Leonard Bonilha

Diversidade genética de biótipos de arroz-daninho e possíveis respostas num cenário de mudanças climáticas / Leonard Bonilha Piveta ; José Alberto Noldin, orientador ; Fabiane Pinto Lamego, Carlos Eduardo Schaedler, coorientadores. — Pelotas, 2017.

125 f. : il.

Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, 2017.

1. Arroz-vermelho. 2. Polimorfismo. 3. CO₂. 4. Estresse abiótico. 5. HSP. I. Noldin, José Alberto, orient. II. Lamego, Fabiane Pinto, coorient. III. Schaedler, Carlos Eduardo, coorient. IV. Título.

CDD : 633.18

Leonard Bonilha Piveta

Diversidade genética de biótipos de arroz-daninho e possíveis respostas num cenário de mudanças climáticas

Tese aprovada, como requisito parcial, para obtenção do grau de Doutor em Fitossanidade, Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 26/05/2017

Banca examinadora:

Prof. Dr. José Alberto Noldin. (Orientador)
Ph.D. em Agronomia pela Texas A&M University

Prof. Dr. Luis Antonio de Avila.
Ph.D. em Agronomia pela Texas A&M University

Prof. Dra. Fabiane Pinto Lamego
Dra. em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Anderson Luis Nunes
Dr. em Fitotecnia pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Prof. Dr. André Andres
Ph.D. em Agronomia pela Università Degli Studi di Torino

Aos meus pais, Avelino e Ana Beatriz;
À meu irmão, Bernard;
À minha esposa, Samantha.

Ofereço e Dedico

Agradecimentos

À Deus, pelo dom da vida, saúde, força e perseverança em todos os momentos.

À minha família, meus pais Avelino e Ana Beatriz, meu irmão Bernard, pelo carinho, apoio, dedicação, suporte, incentivo e ensinamentos que me guiam em todos os momentos da minha vida.

À minha esposa Samantha pelo amor, fibra, incentivo, paciência e companheirismo em todos os momentos, principalmente nos desafios que enfrentamos nesse período, que nos permitiram evoluir pessoalmente e profissionalmente.

Aos meus padrinhos, Adalberto e Cleonice, e meu primo Andrey, por todo o suporte, companheirismo e carinho.

Aos meus sogros, Valdir e Vânia, pelo acolhimento, incentivo e amizade.

Ao Professor Jesus Juarez Oliveira Pinto, exemplo de competência, caráter e de amor à profissão, meus sinceros agradecimentos por sempre me incentivar na busca pelo aprimoramento profissional.

Aos professores José Alberto Noldin e Luis Antonio de Avila pelo incentivo, apoio, amizade e confiança.

À Universidade Federal de Pelotas e ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade pela minha formação, oportunidade e estrutura oferecida para a realização do meu trabalho.

À “University of Arkansas” e, em especial, à Dr. Nilda Roma Burgos pela oportunidade, suporte, receptividade, orientação e amizade durante meu doutorado sanduíche.

Ao amigo Bill Moeller pelo acolhimento e ajuda durante o período em Fayetteville, Arkansas.

Às amigas Gabriela Moraes, Claudia Oliveira e Lariza Benedetti pelo auxílio em biologia molecular e ao amigo João Paulo Refatti pelo auxílio com o experimento de mudanças climáticas.

Aos colegas e amigos da UFPel: Luiz Fernando Martini, Fábio Schreiber, Marlon Bastiani, Vinícios Gerhke, Andrew Bortoli, Eduardo Nogueira, Rafael Becker, Ismael Canestrini, Roberto Wickert, Ricardo Huther, Egeu Dutra, Jallison Nunes e Joelmir Oliveira, pela amizade e companheirismo.

Aos colegas e amigos da “University of Arkansas”: Teal Penka, Josiane Argenta, Pâmela de Lima, Chris Rouse, Leopoldo Estorninos, Reiofeli Salas, Taghi Barapour. Igualmente, agradeço os amigos: Luca Saldanha, Mariana Bragato, Redentor Burgos, Kevin Mills, Matheus Palhano, Malu Palhano, Fellipe Raymundo, Thalita Santos, Kathia Mancuso, Maurício Mancuso e Luis Freitas pelos momentos de excelente convívio e amizade.

Ao pessoal do Centro de Herbologia (CEHERB) da FAEM/UFPEL.

À sociedade brasileira, que através da CAPES e CNPq, financiaram esta pesquisa.

Á todos os que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização deste trabalho.

*“The greater our knowledge increases,
the greater our ignorance unfolds.”*

John F. Kennedy

Resumo

PIVETA, Leonard Bonilha. **Diversidade genética de biótipos de arroz-daninho e possíveis respostas num cenário de mudanças climáticas**. 2017. 125f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

O arroz-daninho (*Oryza sativa* L.) é a principal planta-daninha da cultura do arroz. A alta variabilidade genética entre populações dessa espécie contribui para a grande diversidade fenotípica entre os biótipos e diferentes respostas aos estresses ambientais. Nesse sentido, o presente trabalho teve por objetivo avaliar a diversidade genética em populações de arroz-daninho oriundos dos Estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina através de descritores morfológicos, bem como, a expressão gênica de proteínas e fatores de choque térmico sob estresses abióticos de déficit hídrico e alta temperatura e, avaliar respostas de populações de arroz-daninho ao aumento de CO₂ atmosférico. Os resultados permitiram concluir que existe grande polimorfismo entre as populações de arroz-daninho, com 14 grupos distintos quanto às características fenotípicas qualitativas e quantitativas. Os 249 biótipos de arroz-daninho estudados são da subespécie indica. O alto nível de expressão de *HSFA2a* para estresse por alta temperatura e de *HSFA7* para o estresse de déficit hídrico, e de *HSPs* (*HSP24.15*, *HSP74.8* e *HSP80.2*) para ambos os estresses, demonstram que esses parâmetros têm papel fundamental no mecanismo de defesa contra estresses abióticos. Os biótipos de arroz-daninho resistente e suscetível ao grupo químico das imidazolinonas avaliados em condição de elevada concentração de CO₂ atmosférico (700 ppm) aumentam a produtividade em 15,4% em relação aos que crescem em condição de CO₂ ambiente (400 ppm). A concentração de CO₂ atmosférico, ambiente e elevada, não afeta a interação do herbicida imazethapyr com o biótipo resistente aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas.

Palavras-chave: arroz-vermelho; polimorfismo; CO₂; estresse abiótico; *HSP*.

Abstract

PIVETA, Leonard Bonilha. **Genetic diversity of weedy rice biotypes and possible responses in a climate change scenario**. 2017. 125p. Dissertation Doctor of Plant Protection – Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

Weedy rice (*Oryza sativa* L.) is the main weed of rice crop. The high genetic variability among this specie's populations contribute to phenotypic diversity between biotypes and the different responses by environmental stress. This research aimed to evaluate the genetic diversity of weedy rice populations from Rio Grande do Sul and Santa Catarina states through morphological descriptors, as well, the gene expression of heat shock proteins and heat shock factors under abiotic stresses by water restriction and high temperature and, to evaluate weedy rice populations under increase atmospheric CO₂. The results evidence great polymorphism between the populations of weedy rice, with 14 distinct groups by qualitative and quantitative phenotypic characteristics. All of 249 weedy rice studied are of the subspecies indica. The high level of expression of *HSFA2a* by high temperature and *HSFA7* by water deficit stress, and *HSPs* (*HSP24.15*, *HSP74.8*, *HSP80.2*) for both stresses, showed that these proteins play a fundamental role in the defense mechanism against abiotic stresses in the weedy rice. The weedy rice resistant and susceptible to imidazolinones herbicides under elevated atmospheric CO₂ (700 ppm) increase 15.4% the yield when compared to ambient CO₂ (400 ppm). The atmospheric CO₂ concentration, ambient and higher, does not affect the interaction between the herbicide imazetaphyr and the imi-resistant weedy rice.

Keywords: red rice; polymorphism; CO₂; abiotic stress; *HSP*.

Lista de Figuras

- Figura 1** - Contribuição relativa dos caracteres quantitativos para dissimilaridade genética de 249 acessos de arroz-daninho. EXS – exserção da panícula; EST – estatura da planta; CG – comprimento da cariopse; EG – Espessura da cariopse; LG – largura da cariopse; RG – Relação entre o comprimento e a largura da cariopse; CA – comprimento da arista; CFB – comprimento da folha bandeira; LFB – largura da folha bandeira; CP – comprimento da panícula. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.58
- Figura 2** - Teste do Fenol para determinação da subespécie de acesso de arroz-daninho. (A) as sementes ficam embebidas em solução de 1,5% de concentração com fenol por período de 24-48hrs. (B) as sementes são secas com papel toalha e colocadas em câmara de ar forçado (capela) para serem secas e posteriormente avaliadas. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2017.....58
- Figura 3** - Dendrograma obtido a partir da matriz de dissimilaridade através dos caracteres quantitativos e qualitativos de 249 acessos de arroz-daninho, pelo método de Ligação Média entre Grupo (UPGMA). Medida de similaridade média entre grupo = 0,2181. G1 – G14 – Clusters 1 ao 14, respectivamente. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.61
- Figura 4** - Diversidade das morfológica das plantas e da coloração de glumelas, da cor de grãos descascados, presença e ausência de arista entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. G1 – G7 = clusters de 1 ao 7, respectivamente. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.62
- Figura 5** - Diversidade das morfológica das plantas e da coloração de glumelas, da cor de grãos descascados, presença e ausência de arista entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. G8 – G14 = clusters de 8 ao 14, respectivamente. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.64

- Figura 6** - Diferença de estatura de arroz-daninho provenientes do RS e SC. A) biótipo 15-123, com estatura de 192 cm oriundo da mesorregião Médio Vale do Itajaí, SC. B) biótipo 15-246, com estatura de 70,3 cm oriundo da mesorregião Campanha, RS. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2017.**66**
- Figura 7** - Distribuição da estatura e do comprimento de folha bandeira entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.**67**
- Figura 8** - Distribuição da largura da folha bandeira, comprimento e exserção da panícula e do comprimento das aristas entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.**68**
- Figura 9** - Distribuição do Comprimento, Largura, Espessura e relação entre Comprimento e Largura da cariopse entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.**69**
- Figura 10** - Distribuição das cores da folha, aurícula, lígula e ápículo entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.**70**
- Figura 11** - Distribuição da pubescência da folha e das glumelas entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.**71**
- Figura 12** - Distribuição do tipo de panícula, ângulo da folha bandeira, distribuição da arista e degrane entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.**72**
- Figura 13** - Distribuição da cor das glumelas e das sementes entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.**73**
- Figura 14** - Diversidade da coloração de glumelas, da cor de grãos descascados, presença e ausência de arista entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.**73**
- Figura 15** - Distribuição dos locais onde os biótipos de arroz-daninho utilizados no estudo de expressão de *HSPs* e *HSFs* foram coletados. Em azul, Dom Pedrito-RS; laranja, Gaspar-SC; vermelho, São José do Rio do Peixe-PB; amarelo, Apodi-RN; e roxo, Bonfim-RR. Fonte: Google Maps, 2017.**83**
- Figura 16** - Experimento de déficit hídrico. A) Plantas de arroz e arroz-daninho sob estresse hídrico; B) Reposição diária da água para 50% da capacidade de campo. UARK, Fayetteville, AR, 2016.**86**

Figura 17- Produtividade média em arroz e arroz-daninho sob estresse de alta temperatura. Barras cinzas – efeito principal de biótipos (Tukey, $p < 0,05$); Barras listradas – efeito principal do estresse (Teste t, $p < 0,05$). UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.....	90
Figura 18 - Médias do clorofilômetro (SPAD) para arroz e arroz-daninho sob estresse hídrico. Barras cinzas – efeito principal de biótipos (Tukey, $p < 0,05$); Barras listradas – efeito principal do estresse (Teste t, $p < 0,05$). UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.....	94
Figura 19 - Produtividade média em arroz e arroz-daninho sob estresse de déficit hídrico. Barras cinzas – efeito principal de biótipos (Tukey, $p < 0,05$); Barras listradas – efeito principal do estresse (Teste t, $p < 0,05$), ns = não significativo. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.	94
Figura 20 - Expressão relativa de <i>HSF</i> em arroz e arroz-daninho sob estresse abiótico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2017.	96
Figura 21 - Expressão Relativa de <i>HSP</i> em arroz e arroz-daninho sob estresse abiótico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2017.	97
Figura 22 - Normais climatológicas de precipitação (mm), nas regiões onde foram coletadas as plantas de arroz-daninho. Fonte: INMET, 2017.	98
Figura 23 - Normais climatológicas de temperatura máxima ($^{\circ}\text{C}$), nas regiões onde foram coletadas as plantas de arroz-daninho. Fonte: INMET, 2017.....	99
Figura 24 - Avaliação de biótipos de arroz-daninho com o medidor portátil de fotossíntese Li-Cor 6400XT. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.	111
Figura 25 - Regressão das médias das estaturas de biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO_2 atmosférico. Intervalo de confiança = 95%. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.	113
Figura 26 - Regressão das médias do número de afilhos de biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO_2 atmosférico. Intervalo de confiança = 95%. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.	114

Lista de Tabelas

Tabela 1 - Lista dos 249 acessos de arroz-daninho coletados nos estados do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.....	54
Tabela 2 - Lista de 24 descritores morfológicos avaliados nos acessos de arroz-daninho. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.....	55
Tabela 3 - Resumo da análise de variância dos caracteres quantitativos de 249 acessos de arroz-daninho. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.	57
Tabela 4 - Médias dos descritores quantitativos dos 14 grupos de arroz-daninho dos estados do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.	59
Tabela 5 - Descrição da localização das cultivares arroz e biótipos de arroz-daninho utilizados no estudo da expressão de <i>HSPs</i> e <i>HSFs</i> . UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.....	82
Tabela 6 - Genes expressos em arroz e arroz-daninho sob estresses abióticos. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.....	87
Tabela 7 - Resumo da análise de variância do arroz e arroz-daninho sob estresse de alta temperatura. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.....	88
Tabela 8 - Médias da estatura e número de afilhos em arroz e arroz-daninho submetidos a estresse por alta temperatura e por déficit hídrico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.....	89
Tabela 9 - Médias da taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs), Transpiração (E) e medidas com clorofilômetro (SPAD) em arroz e arroz-daninho submetidos a estresse de alta temperatura. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.....	90
Tabela 10 - Resumo da análise de variância do arroz e arroz-daninho sob estresse de déficit hídrico. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.....	91

Tabela 11 - Médias da estatura e número de afilhos em arroz e arroz-daninho submetidos a estresse por alta temperatura e por déficit hídrico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.....	92
Tabela 12 - Médias da taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs) e Transpiração (E) em arroz e arroz-daninho submetidos a estresse de déficit hídrico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.....	92
Tabela 13 - Resumo da análise de variância de taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs), Transpiração (E) a clorofilômetro (SPAD) dos biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO ₂ atmosférico. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.	111
Tabela 14 - Resumo da análise de variância de esterilidade das espiguetas, N° de panículas por planta e produtividade dos biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO ₂ atmosférico. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.....	112
Tabela 15 - Parâmetros da equação polinomial cúbica para as variáveis estatura e número de afilhos de biótipos de arroz- sob diferentes concentrações de CO ₂ atmosférico. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.	114
Tabela 16 - Médias da taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs), Transpiração (E) a clorofilômetro (SPAD) dos biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO ₂ atmosférico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.....	116
Tabela 17 - Médias da Esterilidade de Espiguetas, N° de panículas por planta e produtividade dos biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO ₂ atmosférico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.....	117

Sumário

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	18
2 CAPÍTULO I - Revisão de Literatura	20
2.1 Aspectos gerais e evolutivos do arroz (<i>Oryza sativa</i> L.)	20
2.2 O arroz-daninho (<i>Oryza sativa</i> L.).....	21
2.3 Herbicidas Inibidores da enzima ALS e a Tecnologia Clearfield®.....	23
2.4 Fluxo gênico	25
2.5 Diversidade genética de populações de <i>Oryza sativa</i>	27
2.6 Análise de variabilidade e estrutura genética	28
2.7 Estresses abióticos por calor e déficit hídrico em arroz.....	30
2.8 <i>Heat Shock Proteins (HSPs)</i> e <i>Heat Shock Factors (HSFs)</i>	33
2.9 Aumento da concentração de CO ₂ atmosférico e interações biológicas nas plantas	35
2.10 Referências Bibliográficas	38
3 CAPÍTULO II - Variabilidade fenotípica de arroz-daninho do Rio Grande do Sul e Santa Catarina	51
3.1 Introdução.....	51
3.2 Material e Métodos	52
3.3 Resultados e Discussão	56
3.4 Conclusões	74
3.5 Referências Bibliográficas	76
4 CAPÍTULO III - Respostas fisiológicas e Variação da Expressão de genes <i>HSPs</i> e <i>HSFs</i> em arroz-daninho sob estresse de déficit hídrico e alta temperatura.....	79
4.1 Introdução.....	79
4.2 Material e Métodos	82
4.2.1 Material Vegetal	82
4.2.2 Metodologia do experimento com estresse hídrico e térmico	84

4.2.3 Análise de expressão gênica	86
4.3 Resultados e Discussão	88
4.3.1 Parâmetros morfológicos e fisiológicos	88
4.3.2 Análise de expressão gênica	95
4.4 Conclusões	100
4.5 Referências Bibliográficas	101
5 CAPÍTULO IV - Resposta de arroz-daninho suscetível e resistente aos inibidores da ALS ao aumento na concentração de CO₂ atmosférico.	107
5.1 Introdução.....	107
5.2 Material e Métodos	109
5.2.1 Material Vegetal	109
5.2.2 Condução e análises.....	109
5.3 Resultados e Discussão	111
5.4 Conclusões	119
5.5 Referências Bibliográficas	120
6 CONCLUSÕES GERAIS	124

1 INTRODUÇÃO GERAL

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos alimentos mais importantes da dieta da população brasileira e de outros países do mundo. O Brasil é o único país não asiático a figurar entre os 10 maiores produtores mundiais de arroz, tendo alcançado produção de 12 milhões de toneladas na safra 2016/2017 (CONAB, 2017).

A introdução do arroz resistente as imidazolinonas (tecnologia Clearfield®) facilitou o controle seletivo de arroz-daninho, que, juntamente com outras práticas de manejo, como semeadura na época adequada, manejo correto de irrigação e adubação contribuíram para o aumento de 50% na produtividade, no período entre 2002 e 2015, na cultura do arroz irrigado no sul do Brasil (MEROTTO et al., 2016). Essa tecnologia teve impacto econômico e social significativo, principalmente, no estado do Rio Grande do Sul, onde são cultivados em torno de 1,1 milhão de hectares e, em Santa Catarina, em torno de 150 mil hectares (SOSBAI, 2016).

O rápido aumento de produtividade ocasionou maior rentabilidade de produtores e melhorou características sociais e econômicas em regiões produtoras de arroz. A tecnologia que permitiu cultivares de arroz resistente as imidazolinonas é o evento mais importante na cadeia orizícola desde a introdução das cultivares modernas (anãs) na década de 70. Entretanto, diversos biótipos de arroz-daninho resistente à herbicidas inibidores da ALS tem sido identificados nas regiões produtoras de arroz irrigado após três safras da introdução da tecnologia Clearfield® no Brasil (MENEZES et al., 2009; ROSO et al, 2010a). Problemas similares foram encontrados nos Estados Unidos (SHIVRAIN et al., 2007; BURGOS et al., 2008), Grécia (KALOUMENOS et al., 2013) e Itália (ANDRES et al., 2014). Nesse sentido, o desafio é manejar o arroz-daninho resistente as imidazolinonas, que em alguns locais, já apresenta infestações similares as que ocorriam antes da introdução da tecnologia Clearfield®.

Atualmente, estão sendo desenvolvidas diversas linhagens de arroz transgênico resistentes a vários herbicidas (RYFFEL, 2014; CHHAPEKAR et al.,

2015, TIAN et al., 2015) e outras variedades de arroz não-transgênico resistentes aos herbicidas inibidores da ACCase (WEBSTER et al., 2015). Os problemas relacionados ao fluxo gênico do arroz resistente as imidazolinonas devem ser considerados para o desenvolvimento dessas novas cultivares transgênicas e não-transgênicas para evitar o aumento da ocorrência de arroz-daninho resistente à herbicidas. Hoje em dia, no estado do Rio Grande do Sul, cerca de 70% das áreas são semeadas com cultivares Clearfield® (COSTA, 2017). A presença de arroz-daninho resistente a herbicidas juntamente com as diferentes características de cada região de cultivo, endossam a avaliação do arroz-daninho resistente as imidazolinonas.

No contexto de mudanças climáticas globais, estudos recentes (IPCC, 2014; O'NEILL et al., 2017) predizem o incremento na concentração de CO₂ atmosférico, o aumento da temperatura média do ar e mudanças nos regimes pluviométricos em regiões produtoras de alimentos até o final do século. Nesse sentido, os estresses (alta temperatura e déficit hídrico) causados pelas mudanças climáticas, podem tornar as culturas mais vulneráveis a oscilações de produtividade, comprometendo a segurança alimentar de diversos países.

2 CAPÍTULO I - Revisão de Literatura

2.1 Aspectos gerais e evolutivos do arroz (*Oryza sativa* L.)

O arroz é o alimento básico mais importante para metade da população global, principalmente para países em desenvolvimento, sendo cultivado em todos continentes, com exceção da Antártida (ABRAHAM et al., 2016; ZHAO et al., 2016). No Brasil, é um dos alimentos que compõem a cesta básica, constituindo-se em uma das principais fontes de calorias na alimentação. Em decorrência disso, desempenha papel estratégico na solução de questões de segurança alimentar (FAO, 2017).

O Brasil, com uma produção anual entre 11 e 13 milhões de toneladas de arroz, participa com 79,3% da produção do Mercosul, seguido por Uruguai, Argentina e Paraguai (SOSBAI, 2016; FAO, 2017). Dentre as regiões produtoras destaca-se os estados do Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC) que cultivam de forma irrigada, representando cerca de 80% da produção nacional com quase totalidade do arroz produzido da classe longo-fino (agulhinha) (SOSBAI, 2016).

A cultura do arroz irrigado possui potencial de crescimento de produção, porém, o patamar de produtividade é limitado por diversos fatores como: época de semeadura, manejo de adubação, qualidade de sementes, manejo da irrigação, controle de insetos, doenças e plantas daninhas. Diversas são as plantas daninhas que infestam a lavoura orizícola, estima-se que ao redor de 78% pertencem às espécies monocotiledôneas (liliopsidas), das quais, 65% são da família Poaceae (SOSBAI, 2016).

Dentre as plantas daninhas destaca-se o arroz-daninho, que é considerado um dos principais infestantes das lavouras de arroz à nível global, pois pertence ao gênero *Oryza*, por isso, apresenta semelhanças morfológicas, fisiológicas, genéticas e bioquímicas ao cultivado, o que dificulta o seu controle (SUDIANTO et al., 2016), podendo acarretar perdas superiores a 50% na produção (SHIVRAIN et al., 2010).

O arroz é espécie diploide, com $x=12$ cromossomos ($2n=24$ cromossomos), com genoma "AA" do grupo *Oryza*, pertencente à família Poaceae, planta anual com reprodução por autogamia, classificada no grupo com sistema fotossintético C_3 , e adaptada ao ambiente aquático (LU; SNOW, 2005). Essa adaptação é devida à presença de aerênquima no colmo e nas raízes da planta, que possibilita a passagem de oxigênio do ar para a rizosfera (TAIZ; ZEIGER, 2013).

Esse cereal tem o centro de origem no continente asiático, sendo que tanto o arroz cultivado quanto o arroz-daninho evoluíram a partir de espécies silvestres do gênero *Oryza* (TONG et al., 2017). Dentre as espécies de arroz cultivado existem duas subespécies principais: *Oryza sativa indica* e *O. sativa japonica* (HUANG et al., 2012).

A domesticação do arroz cultivado (*Oryza sativa*) é considerado proveniente do arroz selvagem (*Oryza rufipogon*) milhares de anos atrás (FULLER et al., 2010) ambos pertencem ao pool gênico diploide e que podem hibridizar entre si, assim como *O. nivara*, *O. glumaepatula*, *O. meridionalis*, *O. breviligulata*, *O. longistaminata*, e *O. glaberrima* (JENA, 2010; MENGUER et al., 2017).

A domesticação em diferentes regiões climáticas da Ásia resultou na evolução de dois tipos de arroz japônica. O arroz japônica tropical que é cultivado no sul dos Estados Unidos e o arroz japônica temperado é cultivado no Japão e na Califórnia. No Brasil, o arroz cultivado na maioria das áreas pertence a subespécie indica. Já a espécie *O. glaberrima* é cultivada no continente africano, de onde é oriunda (CHEN et al., 2016), e é considerada planta daninha em outras regiões do globo (LINARES, 2002).

2.2 O arroz-daninho (*Oryza sativa* L.)

O arroz-daninho, também denominado arroz-vermelho ou arroz-preto é oriundo da Ásia, e considerada uma das principais plantas infestantes da lavoura orizícola do sul do Brasil (NOLDIN et al., 2006; ANDREs et al., 2013a; GOULART et al., 2014; SANTOS et al., 2014; MEROTTO et al., 2016) e de lavouras em outras regiões produtoras ao redor do globo (BURGOS et al., 2014; GEALY et al., 2015; ZISKA et al., 2015; KRAEHMER et al., 2016; BUSI et al., 2017), em razão das perdas econômicas causadas pela diminuição do potencial produtivo do arroz cultivado em função da competição interespecífica.

A pigmentação do pericarpo, juntamente com o degrane das sementes, é uma das características principais do arroz-daninho (GROSS et al., 2010). Diversos biótipos possuem o pericarpo vermelho devido às proantocianidinas (flavonoides) que é característica fenotípica controlada pelo gene regulatório Rc, o qual codifica o fator de transcrição bHLH, que foi alvo genético de seleção, durante a domesticação do arroz (SWEENEY et al., 2007). Por outro lado, a maioria das cultivares de arroz cultivado não apresenta pigmentação no pericarpo e 97% desses, perdem a função do alelo Rc (SWEENEY et al., 2007), que também participa na síntese de ácido abscísico envolvido na dormência das sementes (GU et al., 2011).

As plântulas de arroz-daninho são morfologicamente muito parecidas com a do arroz cultivado, fator esse que dificulta a detecção até o estágio reprodutivo, o que dificulta o seu controle. Por apresentar taxa de crescimento rápido, alto degrane e dormência de sementes, bem como, a cor do pericarpo muitas vezes escura, a infestação da lavoura com a daninha afeta a colheita e o beneficiamento dos grãos colhidos, tanto em regiões tropicais e temperadas (GEALY et al., 2012; CUI et al., 2016).

Uma planta de arroz-daninho pode produzir mais de 2000 sementes em um ciclo de florescimento (HAMID et al., 2007), permanecendo viáveis sob o solo por até 10 anos (NOLDIN et al., 2006). A facilidade de dispersão por sementes, dormência, tolerância à estresses e a habilidade competitiva em relação ao arroz cultivado, além de pertencer a mesma espécie, tornam o controle do arroz-daninho muito difícil comparado a outras plantas daninhas (DAI et al., 2017). Por outro lado, com a introdução de arroz resistente ao grupo químico das imidazolinonas (tecnologia Clearfield®), o controle químico seletivo da planta daninha na cultura do arroz se tornou possível (SOSBAI, 2016).

A perda de produtividade ocasionada pelo arroz-daninho varia de menos que 5% até mais de 90% em áreas severamente infestadas (OLAJUMOKE et al., 2016). O impacto na produtividade varia conforme o nível de infestação, duração da interferência, cultivar utilizada e a prática de manejo da cultura utilizada pelo produtor (SUDIANTO et al., 2013). No Brasil, as perdas diretas médias por competição com arroz-daninho são em torno de 20% (ANDRES et al., 2014; FLECK et al., 2008). Similarmente, na região orizícola do sul dos Estados Unidos, o arroz-daninho caracteriza-se por ser o principal problema em relação à competição com as cultivares de arroz (BURGOS et al., 2014). Os prejuízos causados aos produtores do

estado do Arkansas, EUA, em 2006 foram de aproximadamente U\$ 300,00 por hectare (BURGOS et al., 2008).

2.3 Herbicidas Inibidores da enzima ALS e a Tecnologia Clearfield®

A enzima acetolactato sintase (ALS; EC 4.1.3.18; AHAS, acetohidroácido sintase) catalisa o primeiro passo na biossíntese dos aminoácidos de cadeia ramificada valina, leucina e isoleucina (POWLES; YU, 2010). Algumas bactérias e as plantas conseguem sintetizar os esqueletos de carbono destes aminoácidos a partir de piruvato (valina), piruvato mais acetil-CoA (leucina) ou piruvato mais 2-cetobutirato (isoleucina) (DUGGLEBY et al., 2008). O uso de herbicidas inibidores da ALS em plantas sensíveis, leva à falta desses aminoácidos, o que ocasiona o retardo ou inibição do crescimento das plantas poucas horas após a aplicação pois afetam a síntese de proteínas, que são importantes na divisão celular (SHANER, 2014).

A enzima ALS é composta por dois tipos de subunidades. Uma delas, chamada subunidade maior, é a que possui atividade catalítica e apresenta, massa molecular de 59-66KDa em eucariotos (DUGGLEBY et al., 2008). A segunda subunidade possui atividade regulatória e seu tamanho varia entre organismos, na faixa de 10-20KDa em bactérias, 34KDa em leveduras e 50KDa em plantas (DUGGLEBY et al., 2008). Através de cristalografia da subunidade catalítica de AHAS de *Arabidopsis thaliana* foi determinada a estrutura da enzima em conjunto com os herbicidas clorimuron-etil (SU) e imazaquin (IMI) (MCCOURT et al., 2006). A subunidade catalítica da enzima AHAS de *A. thaliana* na presença de herbicida ou de cofatores (ThDP, Mg^{+2} , FAD) cristaliza e adquire a forma de tetrâmero. Já em solução, sem a presença de cofatores ou herbicida esta subunidade está em forma de dímeros. Cada polipeptídeo da subunidade catalítica da AHAS consiste de três domínios: α (86-280 resíduos), β (281-451 resíduos) e γ (463-639 resíduos) (DUGGLEBY et al., 2008).

Os herbicidas inibidores da ALS englobam cinco classes químicas: sulfoniluréias (SU), imidazolinonas (IMI), pirimidiltio-benzoatos (PTB), triazolpirimidinas (TP) e sulfonilamino-carbonil-triazolinonas (SCT) (SHANER, 2014). Entre as características favoráveis dos herbicidas inibidores da ALS estão a utilização em baixas concentrações, o amplo espectro de controle, a ampla janela de

aplicação, a atividade residual no solo, a seletividade sobre diversas culturas e a baixa toxicidade sobre mamíferos (MCCOURT et al., 2006). O perfil toxicológico favorável dos herbicidas inibidores da ALS explica-se pelo fato de atuarem em enzima ausente em mamíferos (SUDIANTO et al., 2013). No entanto, trata-se de herbicidas propensos a selecionarem populações resistentes devido à alta taxa de mutação natural no gene ALS (10^{-6} a 10^{-4}) e à capacidade de serem detoxificados por plantas (PRESTON; POWLES, 2002; CARVALHO et al., 2009). Esses fatores, somados ao uso intenso, selecionaram populações de plantas daninhas de diversas espécies com resistência aos herbicidas inibidores da enzima ALS (HEAP, 2017).

O estudo da estrutura cristalográfica da enzima ALS levou ao melhor entendimento de um dos mecanismos de resistência aos herbicidas inibidores da enzima, o mecanismo de local de ação alterado, o que torna a enzima insensível ao herbicida. Porém, mecanismos não relacionados ao local de ação têm sido investigados como causa da resistência, incluindo casos de resistência múltipla e cruzada (YU; POWLES, 2014).

O arroz Clearfield® (CL), que utiliza cultivares não transgênicas, resistentes aos herbicidas imidazolinonas (TAN et al., 2005), representa importante método de controle de arroz-daninho e tem sido utilizada em várias regiões produtoras. A obtenção na década de 90, de linhagem de arroz resistente as imidazolinonas (IMI-rice) chamada 93-AS-3510 foi obtida através de mutagênese induzida por etil metanossulfonato - EMS (CROUGHAN, 1998). Essa linhagem, conhecida como de primeira geração, foi utilizada para desenvolver às cultivares CL 121 e CL 141 nos Estados Unidos (SUDIANTO et al., 2013). No Brasil, pesquisadores do Instituto Riograndense do Arroz (IRGA), iniciaram o processo de transferência dessa característica, por meio de retrocruzamento, para seus genótipos, que resultou na cultivar IRGA 422 CL (VILLA et al., 2006).

Técnica similar foi utilizada para desenvolver a linhagem PWC16 (TAN et al., 2005), de segunda geração, que também foi utilizada para desenvolver a cultivar CL 161 nos Estados Unidos (WENEFRIDA et al., 2007) e diversos híbridos CL no Brasil (ROSO et al., 2010b). Na Argentina, foi desenvolvida a cultivar Puitá INTA CL através de mutação induzida também resistente as imidazolinonas (LIVORE, 2007). Baseadas nessas cultivares precursoras, muitas outras foram desenvolvidas nos Estados Unidos, Brasil e outras regiões que utilizam cultivares de arroz resistente as imidazolinonas (SUDIANTO et al., 2013; MEROTTO et al., 2016) .

O local de mutação no gene da ALS que confere resistência as imidazolinonas nas linhagens 93-AS-3510, PWC16 e na cultivar Puitá INTA CL são Gly₆₅₄Glu, Ser₆₅₃Asn, e Ala₁₂₂Thr, respectivamente (ROSO et al., 2010b), que resultam em diferentes níveis de resistências aos herbicidas imidazolinonas (AVILA et al., 2005). A maior parte das mutações que conferem resistência aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas acontece na substituição de aminoácidos nos domínios α e γ , sendo que muitos pesquisadores se referem a essas duas regiões como domínios A e B no gene ALS (TRANEL; WRIGHT, 2002)

2.4 Fluxo gênico

O fluxo gênico é processo que envolve duas etapas incluindo a polinização entre espécies sexualmente compatíveis, seguido de introdução de alelos ou genes novos em população receptora, a partir de outra população (GEALY et al., 2003). Diversos trabalhos têm mostrado a possibilidade de cruzamento natural entre o arroz cultivado e o arroz-daninho, bem como a ocorrência de plantas daninhas resistentes aos herbicidas, inclusive o arroz-daninho (LU; SNOW, 2005; RAJGURU et al., 2005; BUSCONI et al., 2014; GEALY et al., 2015; MEROTTO et al., 2016).

O cruzamento permite maiores oportunidades para a hibridação natural e introgressão entre arroz-daninho e arroz cultivado (CAO et al., 2006; LU; YANG, 2009). Porém, o cruzamento espontâneo de cultivares CL com arroz-daninho, podem causar a introgressão de genes do arroz cultivado em poucas gerações (GEALY et al., 2003) aliado a pressão de seleção, pelo uso contínuo de herbicidas imidazolinonas, favorecendo a proliferação de arroz-daninho resistente. O principal fator que afeta o cruzamento entre o arroz cultivado e o arroz-daninho é a sincronização no florescimento, ou seja, o doador de pólen e o receptor necessitam estar na antese no mesmo período. Em geral, a taxa de cruzamento entre arroz cultivado e arroz-daninho é inferior a 1% (MAGALHÃES et al., 2001; GEALY et al., 2003; SHIVRAIN et al., 2007).

Em estudo realizado para avaliar o fluxo gênico entre cultivares, híbrido e arroz-daninho resistente a imidazolinonas (doadores de pólen) e IRGA 417 (não CL - receptor), Goulart et al. (2016) concluíram que a taxa de cruzamento variou entre 0,0142 e 0,0344%. A partir do doador de pólen a taxa de cruzamento decresce até 0% na distância de três metros e meio (3,5m) onde não há mais cruzamento,

independente da direção do vento (GOULART et al., 2016). Já, Shivrain et al (2007) detectaram o cruzamento entre o arroz CL (CL 161) e arroz-daninho no Arkansas, EUA, até seis metros (6 m) de distância do doador de pólen. Entretanto, Song et al. (2003) reportaram o cruzamento entre “Minghui-63” e *O. rufipogon* até a distância de 43,2 m em condições de campo na China.

O gene ALS de dois acessos de arroz-daninho resistentes a imazethapyr oriundos do estado de Arkansas, EUA, foi sequenciado, sendo a sequência de 1935 pares de bases idêntica à do arroz cultivado (SALES et al., 2008). Segundo estes autores, o alinhamento da sequência de nucleotídeos identificou seis bases polimórficas nas quais três resultaram em substituição de aminoácidos no gene ALS e uma destas substituições foi G₆₅₄E, sendo esta mutação encontrada nas cultivares de arroz CL 121 e CL 141. No mesmo trabalho, foi encontrada outra mutação, a V₆₆₉M, sendo esta a primeira mutação descrita para acessos de arroz-daninho resistente, suportando a hipótese de que esta resistência se deva a processo de evolução natural advindo da pressão de seleção com herbicidas imidazolinonas.

O arroz-daninho resistente pode estar evoluindo tanto em função da pressão de seleção gerada pelo uso indiscriminado de herbicida, como pela ocorrência de fluxo gênico entre o arroz cultivado CL e a planta daninha (SALES et al., 2008). Uma das consequências destes fenômenos é a perda da possibilidade da utilização de herbicida para controle de arroz-daninho de maneira seletiva, que hoje é a principal estratégia de controle desta planta daninha em lavouras de arroz no sul do Brasil (SOSBAI, 2016).

A determinação dos processos da evolução da resistência são importantes para indicar a melhor estratégia de prevenção e manejo do arroz-daninho resistentes aos herbicidas imidazolinonas. Baseado nisso, se a resistência aos herbicidas em arroz-daninho for devida principalmente a processos independentes de seleção de mutantes, o manejo poderia ser realizado com base na redução da pressão de seleção pelos herbicidas. No caso do arroz, isso é alcançado através da rotação de culturas que permite a utilização de herbicidas de distintos mecanismos de ação (BURGOS et al., 2008; ANDRES et al., 2013a). Por outro lado, se a resistência for devida ao fluxo gênico de arroz-daninho resistente para outras áreas orizícolas, o manejo da resistência deve ter como base a utilização de sementes certificadas, livres dessa planta daninha e limpeza de maquinário compartilhado ou alugado. Por fim, se a resistência de arroz-daninho provir fundamentalmente de fluxo direto de

cultivares resistentes aos herbicidas, as estratégias de controle deverão basear-se no controle de escapes de arroz-daninho. Para tanto, práticas como roquiung ou catação manual e aplicação sequencial de herbicidas devem ser utilizadas (ANDRES et al., 2013b).

Ainda, o conhecimento de possíveis alterações adaptativas nas plantas resistentes, independente da origem da resistência, auxilia na determinação de métodos de manejo que, baseados nestas alterações, sejam mais efetivos no controle de populações de arroz-daninho resistentes.

2.5 Diversidade genética de populações de *Oryza sativa*

A diversidade genética é a expressão utilizada para descrever as variações genéticas herdáveis encontradas entre e dentro de espécies, populações de uma espécie, ou indivíduos de uma população (HUGHES et al., 2008). Estudos genéticos em arroz têm elucidado aspectos importantes do gênero *Oryza*, que contém duas espécies cultivadas e aproximadamente 21 espécies silvestres distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da Américas Central e do Sul, na África, Oceania e Ásia (SUNDARAMOORTHY et al., 2009; KUMAGAI et al., 2010; ROULIN et al., 2010; SHIVRAIN et al., 2010; HUANG et al., 2012).

A predominância de autogamia no gênero *Oryza* determina que o fluxo gênico seja comumente restrito. Como resultado, é esperada grande diversidade genética entre populações geograficamente ou ecologicamente distantes. Nesse sentido, estudos têm mostrado alta diversidade genética entre populações de *Oryza* em diversas regiões onde o cultivo de arroz é importante. Em estudo realizado por Garris et al. (2005) indicaram que a estrutura genética de 233 acessos de *Oryza sativa* oriundos dos cinco continentes é composta por cinco grandes grupos relacionados à subespécie ou ambiente que são indica, aus, aromatic, japonica tropical e japonica temperada. Entretanto, a composição genética dos acessos de arroz foi mostrada ser composta por misturas em diferentes graus destes grupos (GARRIS et al., 2005).

No Brasil, estudos têm demonstrado alta variabilidade em cultivares tradicionais de arroz (BRONDANI et al., 2006; STRECK et al., 2017). Além disso, Borba et al. (2009a; 2009b) mostraram alta variabilidade tanto nas variedades tradicionais quanto nas variedades comerciais componentes do banco de

germoplasma de arroz da Embrapa. Estes estudos indicaram haver notável estruturação genética das variedades baseadas tanto no sistema de cultivo em terras baixas ou em sequeiro, quanto na origem dos acessos (BORBA et al., 2009b).

A diversidade genética no gênero *Oryza* não se limita às variedades cultivadas. Também o arroz-daninho apresenta elevada variabilidade. Nos últimos anos, diversos estudos têm demonstrado que populações de arroz-daninho de certas regiões são compostas por misturas entre diversas espécies do gênero *Oryza* (REAGON et al., 2010; GOULART et al., 2014; TONG et al., 2017). Estudos recentes mostraram que certas populações de arroz-daninho nos EUA estão estreitamente associadas a *O. sativa*, *O. nivara*, e *O. rufipogon* o que indica ocorrência de fluxo gênico entre estas espécies (LONDO; SCHAAL, 2007; GEALY et al., 2009).

Ainda, Reagon et al. (2010) mostraram que acessos de arroz-daninho dos estados de Arkansas, Louisiana, Mississippi, Missouri e Texas, nos EUA, são compostas principalmente por *Oryza sativa* spp *indica* e *O. sativa* spp *indica* vs *aus*. Este fato é atribuído a diferentes eventos de introdução de espécies silvestres do gênero *Oryza* (LONDO; SCHAAL, 2007) e também de variedades cultivadas que eventualmente deixaram de ser exploradas comercialmente (CAO et al., 2006). A possibilidade de hibridizações entre espécies possuindo o mesmo genoma, no caso AA, contribui para manutenção da variação genética do arroz-daninho e favorece sua persistência em praticamente todas as áreas de cultivo de arroz através de rápida adaptação a diferentes práticas agrônômicas e ao ambiente (MEROTTO et al., 2016).

Apesar do grande problema que o arroz-daninho representa para a cultura do arroz no Brasil, o conhecimento de sua diversidade genética ainda é limitado. Entretanto, estão disponíveis ferramentas em biologia molecular capazes de caracterizar geneticamente populações de arroz-daninho. Os marcadores moleculares microssatélites (SSR), por exemplo, têm sido amplamente utilizados na caracterização genética de populações de diversas espécies incluindo o arroz (SHIVRAIN et al., 2010; NACHIMUTHU et al., 2015).

2.6 Análise de variabilidade e estrutura genética

A diversidade genética pode ser analisada a partir de um locus gênico em três níveis (WRIGHT, 1943). Em indivíduos, a diversidade genética pode ser observada

quando se encontram indivíduos homozigotos e heterozigotos. Já em populações, a diversidade está presente quando indivíduos diferentes apresentam alelos diferentes. Em uma espécie, a diversidade pode estar presente entre populações, no caso de algumas destas populações possuírem alelos que outras não possuem (WRIGHT, 1943). Neste caso, é dito que a diversidade está dividida entre populações de uma espécie (LOWE et al., 2004).

A avaliação da diversidade genética pode ser realizada baseada nas frequências alélicas obtidas através de marcadores moleculares codominantes como os SSR (LAURENTIN, 2009; HUANG et al., 2012). Estes permitem a detecção de alelos individuais em cada locus, tanto heterozigoto como homozigoto. A partir disso, número de alelos por locus e o número de loci polimórficos podem ser calculados. Os valores observados são indicadores de diversidade genética (HART; CLARK, 2007).

O número de alelos por *locus* (A), conhecido também como riqueza alélica, é obtido pela relação entre o número de alelos encontrados em determinada população e o número total de *loci* estudados. Já o número de *loci* polimórficos (P) é a relação entre o número de *locus* polimórficos e o número total de *loci* estudados em determinada população (LANGE, 2003). Este valor indica a quantidade de polimorfismo existente em determinada população e permite a comparação entre populações. Ainda, é possível calcular o número de alelos por *locus* polimórfico (AP) que é a relação entre o número de alelos observados em *loci* polimórficos pelo número de *loci* polimórficos estudados (LOWE et al., 2004). Medidas mais informativas podem ser obtidas das frequências alélicas observadas, que permitem comparações entre a heterozigosidade esperada e observada. A heterozigosidade observada (H_o) é a proporção de indivíduos heterozigotos nas amostras da população. A heterozigosidade esperada (H_e), também referida como diversidade total de Nei (1973, 1978), é definida como a quantidade de heterozigosidade que estaria presente em determinada população, dada frequência alélica observada em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

A diversidade total (H_T), existente em determinada população é resultante de duas proporções distintas. A proporção de diversidade que é devida à variação dentro das populações é conhecida como H_s . Este valor representa a heterozigosidade média dentro das populações. Já a proporção referente à variação entre populações é conhecida como D_{ST} (NEI, 1973, 1978). A razão entre estas duas

proporções, D_{ST} e H_s , resulta na proporção da diversidade genética devida à diferença entre subpopulações em relação à diversidade genética na população. Esta razão é chamada de coeficiente de diferenciação genética de Nei ou G_{ST} (NEI, 1973, 1978).

A determinação de populações é fundamental em estudos de genética de populações. Normalmente isto é realizado a partir da origem geográfica das amostras ou fenótipos. Entretanto, a estrutura genética de populações nem sempre está relacionada com a distância geográfica dos indivíduos (EVANNO et al., 2005). Por isso, nos últimos anos, métodos de *assignment* têm sido amplamente utilizados em estudos de genética de populações (LONDO; SCHAAL, 2007; APER et al., 2010; HUFFORD et al., 2011). Um dos modelos de *assignment* mais utilizados é o proposto por Pritchard et al. (2000). Neste modelo, os acessos são agrupados probabilisticamente por meio de inferência bayesiana a um número K de populações, sendo o valor de K desconhecido. O método busca determinar a população à qual pertence cada indivíduo a partir de matrizes de F_{ST} , sem considerar informações de coleta destes indivíduos (PRITCHARD et al., 2000). Este método vem sendo continuamente aperfeiçoado com o intuito de conferir maior robustez aos resultados obtidos com os mais variados conjuntos de dados (HUBISZ et al., 2009). Assim, vários estudos sobre estrutura populacional de arroz e arroz-daninho têm sido realizados com base neste método (SHIVRAIN et al., 2010; GOULART et al., 2014; WANG et al., 2014).

2.7 Estresses abióticos por calor e déficit hídrico em arroz

O uso eficiente de recursos naturais, a redução do desperdício de alimentos e o aumento de produção das culturas são fundamentais para suprir a demanda crescente por alimentos (FOLEY et al., 2011; PALMGREN et al., 2014). No entanto, existe o desafio de produzir mais conciliando com a redução na degradação do solo, menor uso de água e manutenção da biodiversidade em ambientes que estão expostos a estresses abióticos crescentes (SANG; GE, 2007; MUELLER et al., 2012; PALMGREN et al., 2014). Em diversas regiões produtoras de arroz, a expansão de área está atrelada à ambientes mais quentes e secos (KADAM et al., 2014).

O déficit hídrico e temperatura (calor ou frio) são dois dos principais fatores que afetam o crescimento das plantas (MEENA et al., 2017). A exposição

frequentemente à flutuações e adversidades ambientais, submetem as plantas a processo dinâmico de respostas rápidas, isso se deve à intrínseca capacidade metabólica (SIMONTACCHI et al., 2015), e de complexo sistema de sinalização, que reprograma a expressão de genes, priorizando os genes responsivos à estresses (HONG et al., 2016). Todo o processo de resposta à estresses leva a uma série de alterações moleculares, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (GILROY et al., 2014; ZANDALINAS et al., 2017).

Condições de estresses abióticos podem induzir a acumulação de espécies reativas de oxigênio (ROS), incluindo H_2O_2 que tem função na sinalização em transdução de sinais de moléculas, mas pode também, causar dano celular e inibição na fotossíntese (ZANDALINAS et al., 2017). Para prevenir o dano causado por ROS, o maquinário antioxidante da planta é ativado (BAXTER et al., 2014). As enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POX), catalase (CAT), ascorbato-peroxidase (APX), glutathione redutase (GR) e glutathione-S-transferase (GST) são as principais moléculas que agem para prevenir o dano causado pelas ROS (ZHANG et al., 2010; MENGUER et al., 2017).

O estresse por alta temperatura pode causar danos reversíveis ou pode ser prejudicial para determinada cultura, dependendo da espécie. As plantas com temperatura basal menor serão mais sensíveis ao aquecimento global. Por exemplo, se tomarmos a diminuição relatada no rendimento de trigo (cultura temperada) de 4% para cada aumento $1^\circ C$ na temperatura (ASTHIR et al., 2009) e o cruzarmos essa informação com o aumento de temperatura previsto (XU et al., 2009), podemos hipotetizar queda no rendimento de 7,2 até 16% ao longo do próximo século.

O aumento de temperatura altera o regime de chuvas e indiretamente afeta a fotossíntese podendo culminar no aumento da fotorrespiração das culturas (SHARKEY, 2005; HEDHLY et al., 2008). A faixa de temperatura ótima para o desenvolvimento do arroz situa-se entre 20 e $35^\circ C$ (YOSHIDA, 1981). Em 2003, a região de Yangtze River, na China, sofreu ondas de calor durante o dia acima de $38^\circ C$ por período de 20 dias. Esse evento extremo causou a perda estimada de 5,18 milhões de toneladas de arroz (LI et al., 2004). Gourdji et al. (2013) constataram que durante o período reprodutivo do arroz pelo menos 8% das áreas no ano 2000 sofreram pelo menos 5 dias com temperaturas superiores a $36^\circ C$, e fizeram a projeção que, em 2030 (16%) e 2050 (27%) as áreas podem sofrer por estresse de alta temperatura durante o mesmo período de desenvolvimento.

A temperatura do dossel é tipicamente menor que a temperatura ambiente devido a condutância estomática, que pode ser chamada de depressão da temperatura do dossel (CTD) (AMANI et al., 1996). A CTD varia significativamente conforme o genótipo (SHI et al., 2015) o que sugere que alguns genótipos são mais eficientes no resfriamento sob altas temperaturas. A esterilidade das espiguetas induzida pelo estresse térmico, na floração, pode ser atribuída a deiscência das anteras, onde ocorre o ressecamento dos grãos de pólen (JAGADISH et al., 2011).

Por definição, o déficit hídrico é o período em que a precipitação é inferior à média ou totalmente ausente, resultando em quantidades inadequadas de água para uso humano, agricultura, vegetação e fauna (BERGER et al., 2016). O arroz cultivado (*O. sativa*) demanda grandes quantidades de água durante o ciclo de desenvolvimento, devido as suas raízes superficiais quando comparado a outras culturas (KONDO et al., 2000; MENGUER et al., 2017). Por outro lado, espécies presentes em regiões de solo com baixa umidade são candidatas, em programas de melhoramento, para serem doadores no cruzamento com o arroz cultivado, como por exemplo, *O. australiensis*, *O. glaberrima* e *O. longistaminata* (NDJIONDJOP et al., 2010; ATWELL et al., 2014). A espécie *O. rufipogon*, genótipo Dongxiang, foi usado em melhoramento da tolerância ao déficit hídrico em arroz cultivado e uma linhagem oriunda do cruzamento, demonstrou alta tolerância ao estresse quando comparado ao arroz cultivado, com alta taxa de sobrevivência, elevados teores de prolina e acumulação de açúcares solúveis (ZHANG et al., 2014).

O déficit hídrico reduz drasticamente as taxas de fotossíntese líquida, inicialmente causado pelo fechamento de estômatos para evitar a perda de água, que resulta na redução de CO₂ disponível nos cloroplastos (CHAVES et al., 2003). Apenas na Ásia, 23 milhões de hectares de arroz cultivado (10 milhões em terras altas e 13 milhões em terras baixas) estão sujeitos a eventos de déficit hídrico (FISCHER et al., 2012). É estimado que até 50% do arroz cultivado é afetado por algum tipo de déficit hídrico durante o ciclo de desenvolvimento (MOSTAJERAN; RAHIMI-EICHI, 2009).

A água disponível no solo é o primeiro fator limitante associado com o déficit hídrico (VERSLUES et al., 2006), o decréscimo do montante disponível, resulta em queda na translocação de água na planta e afeta o crescimento e a assimilação de nitrogênio (NEUMANN, 2008; XUE et al., 2016). Condições de estresse induzem as ROS que pode culminar em peroxidação lipídica, oxidação de proteínas e danos no

DNA (NAHAR et al., 2016). Caso o déficit hídrico seja prolongado, pode inibir a germinação de sementes, diminuição do conteúdo de clorofila na folha, induz a planta abortar folhas, ao murchamento, dessecação e/ou morte (NAHAR et al., 2016).

Estudos recentes (JAGADISH et al., 2012; IPCC, 2014) predizem maior variabilidade na produtividade de arroz por maior exposição a eventos frequentes de estresse por calor e por alta variabilidade nos padrões de precipitação face o aquecimento global. Nesse sentido, o entendimento dos efeitos dos estresses por alta temperatura e por déficit hídrico na cultura do arroz são fatores importantes para traçar medidas protetivas do potencial produtivo das cultivares.

2.8 Heat Shock Proteins (*HSPs*) e Heat Shock Factors (*HSFs*)

Em todos os organismos, a homeostase celular em condições ótimas e adversas de crescimento e desenvolvimento pode ser assegurada por uma família de proteínas altamente conservada entre as espécies, as proteínas de choque térmico (Heat Shock Proteins - *HSPs*). Estas proteínas foram descobertas em glândulas salivares da mosca das frutas (*Drosophila*) como resposta a estresse por calor (ASHBURNER; BONNER, 1979), mas atualmente é amplamente conhecido que estas proteínas são induzidas por inúmeros outros estresses (SÜLE et al., 2004; JACOB et al., 2017). *HSPs* são chaperonas moleculares que regulam o dobramento, localização, acúmulo e degradação de proteínas em diferentes espécies de eucariotos e procariotos, desempenhando um papel amplo em muitos processos celulares (HASLBECK; VIERLING, 2015). Em todos os organismos, a indução de *HSPs* é rápida e intensa, e o efeito de proteção das *HSPs* pode ser atribuído à atuação conjunta destas proteínas. A maioria das *HSPs* é codificada pelo genoma nuclear, e a sua função pode ser em diferentes compartimentos da célula, incluindo citoplasma, mitocôndria, cloroplasto e retículo endoplasmático (USMAN et al., 2014; HASLBECK; VIERLING, 2015; JACOB et al., 2017).

As proteínas *HSPs* foram divididas em duas categorias, as que são constitutivamente expressas e as que são induzidas por estresse (OHAMA et al., 2017), e de acordo com seu peso molecular aproximado, as *HSPs* foram agrupadas em famílias, *HSP100*, *HSP90*, *HSP70*, *HSP60*, *sHSPs* (small heat shock protein) (USMAN et al., 2014), e cochaperonas *HSP40* ou *DNAJ* (QIU et al., 2006).

A família *HSP100* ou proteases caseinolíticas tem a capacidade de promover a dissociação de proteínas agregadas numa reação dependente de ATP (PARSELL et al., 1994). Esta remodelagem pode ser útil em múltiplas funções, como a regulação da atividade de complexos proteicos, desdobramento de proteínas para facilitar a ação de proteases, e facilitar o redobramento de proteínas desnaturadas agregadas (USMAN et al., 2014). Evidências *in vivo* e *in vitro* indicam que a função de proteção desta classe de chaperonas é resultado da sua atividade de solubilizar proteínas em cooperação com as chaperonas *HSP70* (CARRONI et al., 2014).

A família *HSP90* é abundante, altamente conservada, e essencial para a viabilidade da célula. Proteínas *HSP90* contêm dois domínios altamente conservados, o domínio de ligação de ATP na região N-terminal, e região de ligação altamente rica em ácido glutâmico (KRISHNA; GLOOR, 2001). Estas proteínas são encontradas em diferentes compartimentos da célula, e são responsáveis pelo redobramento de proteínas desnaturadas e pelo dobramento de proteínas recém sintetizadas. Além disso, atuam na regulação de várias moléculas de sinalização celular (WANG et al., 2015).

As proteínas *HSP70* além de assistir ao redobramento de proteínas nativas sob condições de estresse, têm papel essencial na prevenção da agregação de proteínas (BECHTOLD et al., 2008). *HSP70* se ligam a proteínas desnaturadas, forçando seu redobramento para forma nativa, evitando a agregação das proteínas (USMAN et al., 2014). A diversidade dos membros *HSP70* é explicada pela presença de homólogos distintos no citosol, no lúmen, no retículo endoplasmático, e na matriz das mitocôndrias e cloroplastos. Os homólogos de *HSP70* localizados no retículo endoplasmático são chamados de proteínas de ligação (BiP) (VIERLING et al., 1991). Membros da família *HSP70* são caracterizados por um domínio de ligação de ATP na região N-terminal (EFEOGLU, 2009).

Membros da família *HSP60* são codificados por genes nucleares, mas atuam nas mitocôndrias e cloroplastos. *HSP60* são chaperonas que ajudam no dobramento de proteínas e na montagem das subunidades de complexos proteicos. Adicionalmente, *HSP60* cooperam com outras chaperonas, principalmente a *HSP70* no transporte celular (JACOB et al., 2017).

Ao contrário das outras classes de *HSPs*, as *sHSPs* são incapazes de atuar no dobramento de proteínas não nativas de maneira individual, sendo necessário a formação de complexos com outras *HSPs* (HASLBECK; VIERLING, 2015). Todos os

membros da família *sHSP* apresentam um domínio de 90 aminoácidos na região C-terminal, chamado de domínio *α -crystalin* ou domínio de choque por calor (SUN et al., 2002). Em plantas, estas proteínas são codificadas por genes nucleares, e são divididas em três classes. As CI, CII e CIII são localizadas no citosol ou no núcleo, e as classes CIV, CV e CVI são localizadas nos cloroplastos, retículo endoplasmático e mitocôndria (EFEOGLU, 2009).

Proteínas *HSP40* ou *DNAJ* são cochaperonas da maquinaria *HSP70*, tendo papel importante na ativação da atividade ATPase da *HSP70*, estabilizando sua ligação com as outras proteínas. Embora as proteínas *DNAJ* sejam menos abundantes que as *HSP70*, podem atuar cataliticamente, interagindo transientemente, servindo a mais que uma *HSP70* ao mesmo tempo. *DNAJ* são caracterizadas por diferentes tipos de domínios, como o domínio J, domínio Zinc-finger, e um domínio presente na região C-terminal (RAJAN; D´SILVA, 2009).

A transcrição da maioria os genes codificadores de *HSPs* é regulada por fatores de transcrição de choque de calor (Heat shock factors - *HSFs*), localizados no citoplasma (HU et al., 2009; ZHANG et al., 2015). *HSFs* são componentes finais da rota de transdução de sinais que media a ativação de genes de resposta ao calor e a grande número de estressores químicos (NAKAI, 1999). Embora haja considerável diferença no tamanho e na sequência dos *HSFs*, sua estrutura básica é conservada entre os eucariotos (NOVER et al., 2001). Estudos demonstram que a superexpressão de *HSFs* em plantas resultou em aumento da tolerância a calor, sal, estresse osmótico, déficit hídrico e frio (CHANDEL et al., 2013; JIN et al., 2013; LIU et al., 2013; ZHANG et al., 2015). A coexpressão de *HSFs* em resposta a diferentes estresses abióticos indica que estes fatores de transcrição podem regular múltiplos mecanismos. Desta forma, os *HSFs* são considerados uma família gênica importante, e seu potencial de resposta a diferentes estresses podem ser utilizados na obtenção de plantas tolerantes a estresses ambientais (CHANDEL et al., 2013).

2.9 Aumento da concentração de CO₂ atmosférico e interações biológicas nas plantas

A concentração de dióxido de carbono (CO₂) na atmosfera chegou a marca de 400ppm em 2017 (NOAA, 2017). A informação de que o aumento de CO₂ atmosférico pode contribuir para o crescimento das plantas é conhecido desde 1890,

quando Saussure, demonstrou pela primeira vez, que ervilhas expostas à alta concentração de CO₂ cresceram melhor, que as plantas controle, que estavam no ar ambiente (KIMBALL et al., 2016). Por ser um substrato primário para que o processo de fotossíntese ocorra, a quantidade de CO₂ disponível para as plantas tem efeito no metabolismo, crescimento e desenvolvimento, especialmente sob condições favoráveis de água, luz, nutrientes e temperatura (TAIZ; ZEIGER, 2013; ABDELGAWAD et al., 2016).

A concentração de CO₂ atmosférico tem sofrido aumento gradativo nos últimos anos (IPCC, 2014) e é amplamente aceito que as principais causas são antropomórficas, mas especula-se também o papel da atividade solar e vulcânica no processo (LARMINAT, 2016). O Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC) estima que até o fim do século XXI as alterações climáticas globais, causadas pela constante emissão de gases de efeito estufa, levarão a aumento da concentração do CO₂ atmosférico superiores a 700ppm (IPCC, 2014).

A elevação dos teores de CO₂ causa um significativo aumento de atividade da enzima Rubisco, e conseqüentemente da taxa fotossintética, decréscimo da taxa de transpiração por unidade foliar, redução da abertura estomática e maior área foliar (JWA; WALLING, 2001; ZISKA, 2016). Como consequência, ocorrem alterações no balanço de água e carbono nas plantas e com isto há impacto sobre o crescimento, partição de recursos, síntese de defesa e, em alguns casos, em longo prazo a aclimatação (TAIZ; ZEIGER, 2013). Em revisão que compilou 124 trabalhos realizados em sistema FACE (Free Air Carbon Enrichment), Ainsworth e Long (2005) verificaram que as taxas fotossintéticas de plantas cultivadas em elevado CO₂ aumentam em 28%. Esses mesmo autores, afirmaram que há redução na taxa de condutância estomática de aproximadamente 20% e aumento na eficiência do uso da água de até 50%.

As respostas apresentadas por plantas expostas à concentração elevada de CO₂ são classificadas para estudo em dois tipos, de acordo com o período de exposição. As respostas de curto prazo são imediatas, observadas após uma exposição de segundos a minutos ao CO₂ elevado. As respostas de longo prazo surgem após dias ou semanas em exposição ao elevado CO₂ (BISHOP et al., 2014).

O CO₂ tem o potencial de regular diversos processos no aparato fotossintético, entre eles a ativação da Rubisco (FLEXAS et al., 2016). Porém, enquanto esses outros processos têm alta afinidade ao HCO₃⁻ e ao CO₂ e, se

mostram saturados na atual concentração ambiente desse gás, a Rubisco tem baixa afinidade ao CO_2 na carboxilação e essa reação não está saturada, portanto, apresenta resposta ao aumento de CO_2 atmosférico. Esta é uma das razões pela qual a fotossíntese responde ao incremento de CO_2 . O outro motivo se deve ao fato de que, uma vez que a Rubisco catalisa competitivamente as reações de carboxilase e oxigenase e, portanto, o CO_2 é um inibidor competitivo da reação de oxigenase, o incremento na concentração de CO_2 diminuirá a taxa de oxigenação. Como consequência, há redução na perda de carbono recém-assimilado na forma de CO_2 e no desvio de ATP e NADPH gerados nas reações de luz para recuperar o carbono convertido a 2-fosfoglicolato na fotorespiração, aumentando a eficiência líquida da fotossíntese (EVANS, 2013). De modo geral, dobrar a concentração de CO_2 pode reduzir a atividade de fotorespiração em 50% (LONG et al., 1991). Este segundo motivo pode ter maior importância, pois o aumento na fotossíntese líquida ocorre independente de limitações de Rubisco ou RuBP e não depende de aumento na quantidade de luz, água ou nitrogênio, tornando a fotossíntese mais eficiente com relação a esses fatores (FURBANK; SAGE, 2016).

Em curto prazo, outra resposta ao aumento do CO_2 geralmente observada é redução substancial da condutância estomática (BISHOP et al., 2014). O incremento na concentração de CO_2 aumenta a disponibilidade de carbono em relação à de água e a redução na condutância estomática é ação para restaurar o equilíbrio, uma vez suposto que o aumento na disponibilidade de CO_2 deve reduzir os esforços de aquisição do mesmo, principalmente quando estes se dão à custa de elementos potencialmente limitantes como a água (FIELD et al., 1995; BISHOP et al., 2014). A resposta da condutância ao aumento de CO_2 varia entre grupos funcionais, com espécies herbáceas cultivadas apresentando maiores reduções do que espécies arbóreas e arbustivas (AINSWORTH et al., 2007). Quando há pouca quantidade de água disponível, é esperado que as culturas, demonstrem resposta relativa maior na taxa fotossintética, biomassa e produtividade em elevadas concentrações de CO_2 (ZISKA et al., 2012; HUSSAIN et al., 2013).

2.10 Referências Bibliográficas

ABDELGAWAD, H. et al. Future Climate CO₂ Levels Mitigate Stress Impact on Plants: Increased Defense or Decreased Challenge? **Frontiers in Plant Science**, v.7, p.1-7, 2016.

ABRAHAM, A. et al. Potential of rice straw for bio-refining: An overview. **Bioresource Technology**, v.215, p.29-36, 2016.

AINSWORTH, E.A.; LONG, S.P. What have we learned from 15 years of free-air CO₂ enrichment (FACE)? A meta-analytic review of the responses of photosynthesis, canopy properties and plant production to rising CO₂. **New Phytologist**, v.165, p.351-372, 2005.

AINSWORTH, E.A. et al. The effects of elevated CO₂ concentration on soybean gene expression an analysis of growing and mature leaves. **Plant Physiology**, v.142, p.135-147, 2006.

AMANI, I. et al. Canopy Temperature Depression Association with Yield of Irrigated Spring Wheat Cultivars in a Hot Climate. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.176, p.119-129, 1996.

ANDRES, A. et al. Weed Resistance to Herbicides in Rice Field in Southern Brazil. In: **Herbicides - Current Research and Case Studies in Use**. ed1. Infotech, 2013a. p. 3-25.

ANDRES, A. et al. Selectivity and weed control efficacy of pre-and post-emergence applications of clomazone in Southern Brazil. **Crop Protection**, v.53, p.103-108, 2013b.

ANDRES, A. et al. Susceptibility to imazamox in Italian weedy rice populations and Clearfield™ rice varieties. **Weed Research**, v.54, p.492-500, 2014.

APER, J. et al. The origin of herbicide-resistant *Chenopodium album*: analysis of genetic variation and population structure. **Weed Research**, v.50, p.235-244, 2010.

ASHBURNER, M.; BONNER, J.J. The induction of gene activity in drosophila by heat shock. **Cell**, v.17, p.241-54. 1979.

ASTHIR, B. et al. Effect of salicylic and abscisic administered through detached tillers on antioxidant system in developing wheat grains under heat stress. **Acta Physiologiae Plantarum**, v.31, p.1091-1096, 2009.

ATWELL, B.J. et al. Could abiotic stress tolerance in wild relatives of rice be used to improve *Oryza sativa*? **Plant Science**, v.215, p.48-58, 2014.

AVILA, L.A. et al. Assessment of acetolactate synthase (ALS) tolerance to imazethapyr in red rice ecotypes (*Oryza* spp) and imidazolinone tolerant/resistant rice (*Oryza sativa*) varieties. **Pest Management Science**, v.61, p.171-178, 2005.

BAXTER, A. et al. ROS as key players in plant stress signalling. **Journal of Experimental Botany**, v.65, p.1229-1240, 2014.

BECHTOLD, U. et al. Impact of chloroplastic and extracellular sourced ROS on high light responsive gene expression in Arabidopsis. **Journal of Experimental Botany**, v.59, p.121-133, 2008.

BERGER, J. et al. Review: An integrated framework for crop adaptation to dry environments: Responses to transient and terminal drought. **Plant Science**, v.253, p.58-67, 2016.

BISHOP, K.A. et al. How seasonal temperature or water inputs affect the relative response of C₃ crops to elevated [CO₂]: a global analysis of open top chamber and free air CO₂ enrichment studies. **Food and Energy Security**, v.3, p.33-45, 2014.

BORBA, T.C.O. et al. Microsatellite marker-mediated analysis of the EMBRAPA Rice Core Collection genetic diversity. **Genetica**, v.137, p.293-304, 2009a.

BORBA, T.C.O. et al. Genetic variability of Brazilian rice landraces determined by SSR markers. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v.44, p.706-712, 2009b.

BRONDANI, C. et al. Determination of genetic variability of traditional varieties of Brazilian rice using microsatellite markers. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, p.676-684, 2006.

BURGOS, N.R. et al. Red Rice (*Oryza sativa*) Status after 5 Years of Imidazolinone-Resistant Rice Technology in Arkansas. **Weed Technology**, v.22, p.200-208, 2008.

BURGOS, N.R. et al. The impact of herbicide-resistant rice technology on phenotypic diversity and population structure of United States weedy rice. **Plant Physiology**, v.166, p.1208-20, 2014.

BUSCONI, M. et al. Gene flow from transgenic rice to red rice (*Oryza sativa* L.) in the field. **Plant Biology**, v.16, p.22-27, 2014.

BUSI, R. et al. Can herbicide safeners allow selective control of weedy rice infesting rice crops? **Pest Management Science**, v.73, p.71-77, 2017.

CAO, Q. et al. Genetic Diversity and Origin of Weedy Rice (*Oryza sativa f. spontanea*) Populations Found in North-eastern China Revealed by Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. **Annals of Botany**, v.98, p.1241-1252, 2006.

CARRONI, M. et al. Head-to-tail interactions of the coiled-coil domains regulate ClpB activity and cooperation with Hsp70 in protein disaggregation. **eLife**, v.1, p.1-22, 2014.

CARVALHO, S.J.P. et al. Herbicide selectivity by differential metabolism: considerations for reducing crop damages. **Scientia Agricola**, v.66, p.136-142, 2009.

CHANDEL, G. et al. Differential expression of heat shock proteins and heat stress transcription factor genes in rice exposed to different levels of heat stress. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, v.22, p.277-285, 2013.

CHAVES, M.M. et al. Understanding plant response to drought. **Functional Plant Biology**, v.30, p.239-64, 2003.

CHEN, C. et al. Genetic diversity and phenotypic variation in an introgression line population derived from an interspecific cross between *Oryza glaberrima* and *Oryza sativa*. **PLoS ONE**, v.11, p.1-19, 2016.

CHHAPEKAR, S. et al. Transgenic rice expressing a codon-modified synthetic CP4-EPSPS confers tolerance to broad-spectrum herbicide, glyphosate. **Plant Cell Reports**, v.34, p.721-731, 2015.

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Arroz - Brasil. Série histórica de: área, produtividade e produção. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 8 abr. 2017.

COSTA, R. Tecnologias de empresas públicas ganham destaque em Cachoeirinha, RS. Disponível em: <<http://www.grupocultivar.com.br/noticias/tecnologias-de-empresas-publicas-ganham-destaque-em-cachoeirinha-rs>>. Acesso em: 02 maio 2017.

CROUGHAN, T. P. **Herbicide resistant rice**. Board of Supervisors of Louisiana State University and Agricultural and Mechanical College. United States. Patent Number: 5773704. 1998.

CUI, Y. et al. Little White Lies: Pericarp Color Provides Insights into the Origins and Evolution of Southeast Asian Weedy Rice. **G3: Genes, Genomes, Genetics**, v.6, p.4105-4114, 2016.

DAI, L. et al. Enhanced photosynthesis endows seedling growth vigour contributing to the competitive dominance of weedy rice over cultivated rice. **Pest Management Science**, v.73, p.1-44, 2017.

DUGGLEBY, R.G. et al. Structure and mechanism of inhibition of plant acetohydroxyacid synthase. **Plant Physiology and Biochemistry**, v.46, p.309-324, 2008.

EFOGLU, B. Heat shock proteins and heat shock response in plants. **Gazi University Journal of Science**, v.2, p.67-75, 2009.

EVANNO, G. et al. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. **Molecular Ecology**, v.14, p.2611-2620, 2005.

EVANS, J.R. Improving Photosynthesis. **Plant Physiology**, v.162, p.1780-1793, 2013.

FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations). **Food and Agricultural Commodities Production/Commodities by Country**. Disponível em: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> Acesso em: 10 abr. 2017.

FIELD, C.B. et al. Stomatal responses to increased CO₂: implications from the plant to the global scale. **Plant, Cell and Environment**, v.18, p.1214-1225, 1995.

FISCHER, K.S. Field phenotyping strategies and breeding for adaptation of rice to drought. **Frontiers in Physiology**, v.3, p.1-21, 2012.

FLECK, N.G. et al. Competitividade relativa entre cultivares de arroz irrigado e biótipo de arroz-vermelho. **Planta Daninha**, v.26, p.101-111, 2008.

FLEXAS, J. et al. Mesophyll conductance to CO₂ and Rubisco as targets for improving intrinsic water use efficiency in C₃ plants. **Plant, Cell and Environment**, v.39, p.965-982, 2016.

FOLEY, J.A. et al. Solutions for a cultivated planet. **Nature**, v.478, p.337-342, 2011.

FULLER, D.Q. et al. Consilience of genetics and archaeobotany in the entangled history of rice. **Archaeological and Anthropological Sciences**, v.2, p.115-131, 2010.

FURBANK, R.T.; SAGE, R.F. Editorial overview: Physiology and metabolism: CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic organisms: evolution, efficiency and significance for crop improvement. **Current Opinion in Plant Biology**, v.31, p.1-4, 2016.

GARRIS, A.J. et al. Genetic Structure and Diversity in *Oryza sativa* L. **Genetics**, v.169, p.1631-1638, 2005.

GEALY, D. et al. Gene Flow Between Red Rice (*Oryza sativa*) and Herbicide-Resistant Rice (*O. sativa*): Implications for Weed Management. **Weed Technology**, v.17, p.627-645, 2003.

GEALY, D. et al. Exploring Genetic and Spatial Structure of US Weedy Red Rice (*Oryza sativa*) in Relation to Rice Relatives Worldwide. **Weed Science**, v.57, p.627-643, 2009.

GEALY, D. et al. Genetic Analysis of Atypical U.S. Red Rice Phenotypes: Indications of Prior Gene Flow in Rice Fields? **Weed Science**, v.60, p.451-461, 2012.

GEALY, D. et al. Outcrossing Potential between U.S. Blackhull Red Rice and Indica Rice Cultivars. **Weed Science**, v.63, p.647-657, 2015.

GILROY, S. et al. A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. **Trends in Plant Science**, v.19, p.623-630, 2014.

GOURDJI, S.M. et al. Global crop exposure to critical high temperatures in the reproductive period: historical trends and future projections. **Environmental Research Letters**, v.8, p.1-10, 2013.

GOULART, I.C.G.R. et al. Distribution of Weedy Red Rice (*Oryza sativa*) Resistant to Imidazolinone Herbicides and its Relationship to Rice Cultivars and Wild *Oryza* Species. **Weed Science**, v.62, p.280-293, 2014.

GOULART, I.C.G.R et al. Detecting gene flow from ALS-resistant hybrid and inbred rice to weedy rice using single plant pollen donors. **Experimental Agriculture**, v.52, p.237-250, 2016.

GROSS, B.L. et al. Seeing red: The origin of grain pigmentation in US weedy rice. **Molecular Ecology**, v.19, p.3380-3393, 2010.

GU, X.Y. et al. Association between seed dormancy and pericarp color is controlled by a pleiotropic gene that regulates abscisic acid and flavonoid synthesis in weedy red rice. **Genetics**, v.189, p.1515-1524, 2011.

HALSBECK, M.; VIERLING, E.A. First Line of Stress Defense: Small Heat Shock Proteins and Their Function in Protein Homeostasis. **Journal of Molecular Biology**, v.427, p.1537-1548, 2015.

HAMID. Z.A.A. Life cycle and morphological characteristics of weedy rice (*Oryza sativa* complex, locally called padi angin), a noxious weed of ricefields in Malaysia. **Jurnal Biosains**, v.18, p.55-79, 2007.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Principles of Population Genetics**. Sunderland, MA: Sinauer, ed.1, 2007. 565p.

HEAP, I. **The International Survey of Herbicide Resistant Weeds**. Disponível em: <www.weedscience.org>. Acesso em: 10 abr. 2017.

HEDHLY, A. et al. Global warming and sexual plant reproduction. **Trends in Plant Science**, v.14, p.30-36. 2008.

HONG, Y. et al. Overexpression of a Stress-Responsive NAC Transcription Factor Gene *ONAC022* Improves Drought and Salt Tolerance in Rice. **Frontiers in Plant Science**. v.7, p.1-19, 2016.

HU W.; HU, G.; HAN, B. Genome-wide survey and expression profiling of heat shock proteins and heat shock factors revealed overlapped and stress specific response under abiotic stresses in rice. **Plant Science**, v.176, p.583-590, 2009.

HUANG, X. et al. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. **Nature**, v.490, p.497-501, 2012.

HUBISZ, M.J. et al. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. **Molecular Ecology Resources**, v.9, p.1322-1332, 2009.

HUFFORD, M.B. et al. Influence of cryptic population structure on observed mating patterns in the wild progenitor of maize (*Zea mays* ssp *parviglumis*). **Molecular Ecology**, v.20, p.46-55, 2011.

HUGHES, A.R. et al. Ecological consequences of genetic diversity. **Ecology Letters**, v.11, p.609-623, 2008.

HUSSAIN, M.Z. et al. Future carbon dioxide concentration decreases canopy evapotranspiration and soil water depletion by field-grown maize. **Global Change Biology**, v.19, p.1572-1584, 2013.

IPCC. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the **Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC**:Geneva. 2014. 151 p.

JACOB, P. et al. The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. **Plant Biotechnology Journal**, v.15, p.405-414, 2017.

JAGADISH, S.V.K. et al. Spikelet proteomic response to combined water deficit and heat stress in rice (*Oryza sativa* cv. N22). **Rice**, v.4, p.1-11. 2011.

JAGADISH, S.V.K. et al. Genetic Advances in Adapting Rice to a Rapidly Changing Climate. **Journal of Agronomy and Crop Science**, v.198, p.360-373, 2012.

JENA, K.K. The species of the genus *Oryza* and transfer of useful genes from wild species into cultivated rice, *O. sativa*. **Breeding Science**, v.60, p.518-523, 2010.

JIN, G.H. et al. A systematic view of rice heat shock transcription factor family using phylogenomic analysis. **Journal of Plant Physiology**, v.170, p.321-329, 2013.

JWA, N.S.; WALLING, L.L. Influence of elevated CO₂ concentration on disease development in tomato. **New Phytologist**, v.149, p.509-518, 2001.

KADAM, N.N. et al. Agronomic and Physiological Responses to High Temperature, Drought, and Elevated CO₂ Interactions in Cereals. **Advances in Agronomy**, v.1, p.111-156, 2014.

KALOUMENOS, N.S. Red rice (*Oryza sativa*) cross-resistance to imidazolinone herbicides used in resistant rice cultivars grown in northern Greece. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.105, p.177-183, 2013.

KIMBALL, B. Crop responses to elevated CO₂ and interactions with H₂O, N, and temperature. **Current Opinion in Plant Biology**, v.31, p.36-43, 2016.

KONDO, M. et al. Characteristics of root growth and water uptake from soil in upland rice and maize under water stress. **Soil Science and Plant Nutrition**, v.46, p.721-732, 2000.

KRAEHMER, H. et al. Global distribution of rice weeds - A review. **Crop Protection**, v.80, p.73-86, 2016.

KRISHNA, P.; GLOOR, G. The Hsp90 family of proteins in thaliana. **Cell Stress and Chaperones**. v.6, p.238-246, 2001.

KUMAGAI, M. et al. Genetic diversity and evolutionary relationships in genus *Oryza* revealed by using highly variable regions of chloroplast DNA. **Gene**, v.462, p.44-51, 2010.

LANGE, K. **Applied Probability**. New York: Springer, ed.1, 2003. 368p.

LARMINAT, P. Earth climate identification vs. anthropic global warming attribution. **Annual Reviews in Control**, v.42, p.114-125, 2016.

LAURENTIN, H. Data analysis for molecular characterization of plant genetic resources. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v.56, p.277-292, 2009.

LI, C. et al. Environmental regulation and physiological basis of freezing tolerance in woody plants. **Acta Physiologiae Plantarum**. Plant, v.26, p.213-222, 2004.

LINARES, O.F. African rice (*Oryza glaberrima*): History and future potential. **PNAS**, v.99, p.16360-16365, 2002.

LIU, A.L. Over-expression of OsHsfA7 enhanced salt and drought tolerance in transgenic rice. **BMB Reports**, v.46, p.31-36, 2013.

LIVORE, A.B., et al. **Rice plants having increased tolerance to imidazolinone herbicides**. Instituto Nacional de Tecnologia Agropecuaria. United States. Patent Number: 20070028318. 2007.

LONDO, J.P.; SCHAAL, B.A. Origins and population genetics of weedy red rice in the USA. **Molecular Ecology**, v.16, p.4523-4535, 2007.

LONG, S.P. Modification of the response of photosynthetic productivity to rising temperature by atmospheric CO₂ concentrations: has its importance been underestimated? **Plant, Cell and Environment**, v.14, p.729-739, 1991.

LOWE, A. et al. **Ecological Genetics: Design, Analysis, and Application**. Oxford: Wiley-Blackwell, ed.1, 2004. 344p.

LU, B.; Snow, A.A. Gene Flow from Genetically Modified Rice and Its Environmental Consequences. **BioScience**, v.55, p.669-678, 2005.

LU, B.; Yang, B. Gene flow from genetically modified rice to its wild relatives: Assessing potential ecological consequences. **Biotechnology Advances**, v.27, p.1083-1091, 2009.

MAGALHÃES, A.M. et al. Avaliação do fluxo gênico entre genótipos de arroz transgênico, cultivado e arroz vermelho. In: Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 2; Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, 24, 2001. Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: IRGA, 2001. p.768-771.

MCCOURT, J.A. et al. Herbicide-binding sites revealed in the structure of plant acetohydroxyacid synthase. **PNAS**, v.103, p.569-573, 2006.

MEENA, K.K. et al. Abiotic Stress Responses and Microbe-Mediated Mitigation in Plants: The Omics Strategies. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.1-25, 2017.

MENEZES, V.G. et al. Red rice (*Oryza sativa*) resistant to the herbicides imidazolinones. **Planta Daninha**, v.27, p.1047-1052, 2009.

MENGUER, P.K. et al. A walk on the wild side: *Oryza* species as source for rice abiotic stress tolerance. **Genetics and Molecular Biology**, v.1, p.1-15, 2017.

MEROTTO, A. et al. Evolutionary and social consequences of introgression of nontransgenic herbicide resistance from rice to weedy rice in Brazil. **Evolutionary Applications**, v.9, p.837-846, 2016.

MOSTAJERAN, A.; 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 Agricultural & Environmental Sciences**, v.5., p.264-272, 2009.

MUELLER, N.D. et al. Closing yield gaps through nutrient and water management. **Nature**, v.490, p.254-257, 2012.

NACHIMUTHU, V.V. et al. Analysis of Population Structure and Genetic Diversity in Rice Germplasm Using SSR Markers: An Initiative Towards Association Mapping of Agronomic Traits in *Oryza Sativa*. **Rice**, v.8, p.1-24, 2015.

NAHAR, S. et al. Morphophysiological and molecular effects of drought stress in rice. **Annals of Plant Sciences**, v.5, p.1409-1416, 2016.

NAKAI, A. New aspects in the vertebrate heat stress factor system: HsfA3 and HsfA4. Cell Stress **Chaperones**, v.4, p.86-93, 1999.

NDJIONDJOP, M.N. et al. Morpho-agronomic and molecular characterisation of *Oryza glaberrima* germplasm from Mali. **African Journal of Biotechnology**, v.9, p.7409-7417, 2010.

NEI, M. Analysis of Gene Diversity in Subdivided Populations. **PNAS**, v.70, p.3321-3323, 1973.

NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics**, v.89, p.583-590, 1978.

NEUMANN, P.M. Coping mechanisms for crop plants grown in drought-prone environments. **Annals of Botany**, v.101, p.901-907, 2008.

NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration. Disponível em <<https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>>. Acesso em: 10 abr. 2017.

NOLDIN, J.A. Seed longevity of red rice ecotypes buried in soil. **Planta Daninha**, v.24, p.611-620, 2006.

NOVER, L. et al. Arabidopsis and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need? **Cell Stress Chaperones**, v.6, p.177-189, 2001.

OHAMA, N. et al. Transcriptional Regulatory Network of Plant Heat Stress Response. **Trends in Plants Science**, v.22, p.53-66, 2017.

OLAJUMOKE, B. et al. Competitive ability of cultivated rice against weedy rice biotypes: A review. **Chilean Journal of Agricultural Research**, v.76, p.242-251, 2016.

O'NEILL, B.C.O et al. IPCC reasons for concern regarding climate change risks. **Nature Climate Change**, v.7, p.28-37, 2017.

PALMGREN, M.G. et al. Are we ready for back-to-nature crop breeding? **Trends in Plant Science**, v.20, p.155-164, 2014.

PARSELL, D.A. et al. Protein disaggregation mediated by heat stress protein 104. **Nature**. v.372, p.475-478. 1994.

POWLES, S.B.; YU, Q. Evolution in action: plants resistant to herbicides. **Annual Review of Plant Biology**. v.61, p.317-47, 2010.

PRESTON, C.; POWLES, S.B. Evolution of herbicide resistance in weeds: initial frequency of target site-based resistance to acetolactate synthase-inhibiting herbicides in *Lolium rigidum*. **Heredity**, v.88, p.8-13, 2002.

PRITCHARD, J.K. et al. Inference of Population Structure Using Multilocus Genotype Data. **Genetics**, v.155, p.945-959, 2000.

QIU, X.B. et al. The diversity of the DnaJ/Hsp40 family, the crucial partners for Hsp70 chaperones. **Cellular and Molecular Life Sciences**. v.63, p.2560-2570, 2006.

RAJAN, V.B.V.; D'SILVA, P. Arabidopsis thaliana J-class heat shock proteins: cellular stress sensors. **Functional and Integrative Genomics**, v.9, p.433-446, 2009.

RAJGURU, S.N. Mutations in the red rice ALS gene associated with resistance to imazethapyr. **Weed Science**, v.53, p.567-577, 2005.

REAGON, M. et al. Genomic patterns of nucleotide diversity in divergent populations of US weedy rice. **BMC Evolutionary Biology**, v.10, p.1-16, 2010.

ROSO, A.C. et al. Bioassays for diagnosis of resistance to the herbicides imidazolinones in rice plants. **Planta Daninha**, v.28, p.411-419, 2010a.

ROSO, A.C. et al. Regional scale distribution of imidazolinone herbicide-resistant alleles in red rice (*Oryza sativa* L.) determined through SNP markers. **Field Crops Research**, v.119, p.175-182, 2010b.

ROULIN, A. et al. Paleogenomic Analysis of the Short Arm of Chromosome 3 Reveals the History of the African and Asian Progenitors of Cultivated Rices. **Genome Biology and Evolution**, v.2, p.132-139, 2010.

RYFFEL, G.U. Transgene flow: facts, speculations and possible countermeasures. **GM Crops & Food**, v.5, p.249-258, 2014.

SALES, M.A. et al. Amino acid substitutions in the acetolactate synthase gene red rice (*Oryza sativa*) confer resistance to imazethapyr. **Weed Science**, v.56, p.485-489, 2008.

SANG, T.; GE, S. The puzzle of rice domestication. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.49, p.760-768, 2007.

SANTOS, L.O. Carryover Effect of Imidazolinone Herbicides for Crops Following Rice. **American Journal of Plant Sciences**, v.5, p.1049-1058, 2014.

SHANER, D.L. **Herbicide handbook**. Weed Science Society of America:Champaign. 10th ed. 2014. 315p.

SHARKEY, T.D. Effects of moderate heat stress on photosynthesis importance of thylakoid reactions, rubisco deactivation, reactive oxygen species, and thermotolerance provided by isoprene. **Plant, Cell & Environment**, v.28, p.269-277, 2005.

SHI, W. Popular Rice (L.) Cultivars Show Contrasting Responses to Heat Stress at Gametogenesis and Anthesis. **Crop Science**, v.55, p.589-596, 2015.

SHIVRAIN, V.K. et al. Gene flow between Clearfield™ rice and red rice. **Crop Protection**, v.26, p.349-356, 2007.

SHIVRAIN, V.K. Genetic diversity of weedy red rice (*Oryza sativa*) in Arkansas, USA. **Weed Research**, v.50, p.289-302, 2010.

SIMONTACCHI, M. et al. Plant Survival in a Changing Environment: The Role of Nitric Oxide in Plant Responses to Abiotic Stress. **Frontiers in Plant Sciences**, v.6, p.1-19, 2015.

SONG, Z.P. et al. Gene flow from cultivated rice to the wild species *Oryza rufipogon* under experimental field conditions. **New Phytologist**, v.157, p.657-665, 2003.

SOSBAI. **Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. In: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado - SOSBAI:Pelotas, 2016. 200p.

STRECK, E.A. et al. Variabilidade fenotípica de genótipos de arroz irrigado via análise multivariada. **Revista Ciência Agronômica**, v.48, p.101-109, 2017.

SUDIANTO, E. et al. Clearfield® rice: Its development, success, and key challenges on a global perspective. **Crop Protection**, v.49, p.40-51, 2013.

SUDIANTO, E. et al. Morphology of Malaysian Weedy Rice (*Oryza sativa*): Diversity, Origin and Implications for Weed Management. **Weed Science**, v.64, p.501-512, 2016.

SÜLE, A. et al. Proteomic analysis of small heat shock protein isoforms in barley shoots. **Phytochemistry**, v.65, p.1853-1863, 2004.

SUN, W. et al. Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1577, p.1-9, 2002.

SUNDARAMOORTHY, J. et al. Molecular diversity in the primary and secondary gene pools of genus *Oryza*. **Plant Systematics and Evolution**, v.279, p.115-123, 2009.

SWEENEY, M.T. Global dissemination of a single mutation conferring white pericarp in rice. **PLoS Genetics**, v.3, p.1418-1424, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre:Artmed, 2013; 820p.

TAN, S. et al. Imidazolinone-tolerant crops: History, current status and future. **Pest Management Science**, v.61, p.246-257, 2005.

TIAN, X.W. et al. Transformation of upland rice with the bar gene and selection for resistance to the herbicide Basta. **Euphytica**, v.205, p.151-167, 2015.

TONG, W. et al. Genetic variation architecture of mitochondrial genome reveals the differentiation in Korean landrace and weedy rice. **Scientific Reports**, v.7, p.1-10, 2017.

TRANSEL, P.J.; WRIGHT, T.R. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? **Weed Science**, v.50, p.700-712, 2002.

USMAN, M.G. et al. Heat Shock Proteins: Functions and Response Against Heat Stress In Plants. **Internation Journal of Scientific & Technology Research**, v.3, p.204-218, 2014.

VERSLUES, P.E. et al. Methods and concepts in quantifying resistance to drought, salt and freezing, abiotic stresses that affect plant water status. **The Plant Journal**, v.45, p.523-539, 2006.

VIERLING, E. The roles of heat shock proteins in plants. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v.42, p.579-620, 1991.

VILLA, S.C.C et al. Arroz Tolerante a imidazolinonas: Controle do arroz-vermelho, fluxo gênico e efeito residual do herbicida em culturas sucessoras não-tolerantes. **Planta Daninha**, v.24, p.761-768, 2006.

WANG, C.H. et al. Genetic diversity and classification of *Oryza sativa* with emphasis on Chinese rice germplasm. **Heredity**, v.112, p.489-496, 2014.

WANG, J. et al. Response of rice production to elevated [CO₂] and its interaction with rising temperature or nitrogen supply: a meta-analysis. **Climatic Change**, v.130, p.529-543, 2015.

WEBSTER, E.P. Provisia rice: a future option in rice. In: **Proceedings** – In: Southern Weed Science Society, v.68, p.198, 2015.

WENEFRIDA, I. et al. Inheritance of herbicide resistance in two germplasm lines of Clearfield™ rice (*Oryza sativa* L.). **Canadian Journal of Plant Science**, v.87, p.659-669, 2007.

WRIGHT, S. Isolation by distance. **Genetics**, v.28, p.114-138, 1943.

XU, Z. et al. Short-term responses of phenology, shoot growth and leaf traits of four alpine shrubs in a timberline ecotone to simulated global warming, Eastern Tibetan Plateau, China. **Plant Species Biology**, v.24, p.27-34, 2009.

XUE, W. et al. Soil water availability and capacity of nitrogen accumulation influence variations of intrinsic water use efficiency in rice. **Journal of Plant Physiology**, v.193, p.26-36, 2016.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of Rice Crop Science**. Los Baños: IRRI, 1981. 269p.

YU, Q.; POWLES, S. Metabolism-based herbicides resistance and cross-resistance in crop weeds: a threat to herbicide sustainability and global crop protection. **Plant Physiology**, v.166, p.1106-1118, 2014.

ZANDALINAS, S.I. et al. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiologia Plantarum**, v.159, p.1.17, 2017.

ZHANG, M. et al, Proteomic study of *Carissa spinarum* in response to combined heat and drought stress. **Proteomics**, v.10, p.3117-3129, 2010.

ZHANG, Q. et al. Rice and cold stress: Methods for its evaluation and summary of cold tolerance-related quantitative trait loci. **Rice**, v.7, p.1-24, 2014.

ZHANG, J. et al. Hsf and Hsp gene families in *Populus*: genome-wide identification, organization and correlated expression during development and in stress responses. **BMC Genomics**, v.16, p.1-19, 2015.

ZHAO, C. et al. Plausible rice yield losses under future climate warming. **Nature Plants**, v.3, p.1-5, 2016.

ZISKA, L.H. et al. Food security and climate change: on the potential to adapt global crop production by active selection to rising atmospheric carbon dioxide. **Proceedings of the Royal Society B**, v.279, p.4097-4105, 2012.

ZISKA, L.H. et al. Weedy (Red) Rice. An Emerging Constraint to Global Rice Production. **Advances in Agronomy**, v.129, p.181-228, 2015.

ZISKA, L.H. The role of climate change and increasing atmospheric carbon dioxide on weed management: Herbicide efficacy. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.231, p.304-309, 2016.

3 CAPÍTULO II - Variabilidade fenotípica de arroz-daninho do Rio Grande do Sul e Santa Catarina

3.1 Introdução

O arroz-daninho é considerado uma das principais plantas daninhas em lavouras comerciais de arroz irrigado ao redor do globo, sendo reconhecido pela dificuldade de controle em relação a outras infestantes na lavoura orizícola, por apresentar similaridades genéticas, fisiológicas, bioquímicas e morfológicas à cultivares comerciais de arroz (SUDIANTO et al., 2016).

Para o melhor entendimento do germoplasma de arroz-daninho disponível, tanto em relação ao desempenho individual dos diferentes caracteres agrônômicos, como também a respeito da capacidade de combinação e a variabilidade genética existente, a estimativa de distância genética entre os biótipos é apontada como forma eficiente de prever diversas características (HOSAN et al., 2010) e, acompanhada pela utilização de estatísticas multivariadas, tem-se revelado promissora pela possibilidade de sintetizar diversas variáveis simultaneamente em apenas um dendrograma.

Anteriormente ao advento de ferramentas moleculares, a diversidade genética era estimada com base na genealogia e/ou características agrônômicas e morfológicas. Nesse sentido, Li et al. (2010) relataram em estudo da minicoleção nuclear de arroz do USDA que a diferenciação genética identificada por marcadores moleculares foi alta e significativamente correlacionada com a diferenciação por características fenotípicas.

Dentre os procedimentos estatísticos mais utilizados na estimativa da distância genética com base em caracteres fenotípicos está a distância generalizada de Mahalanobis e a distância Euclidiana (CRUZ et al., 2012), sendo que a primeira oferece vantagem por levar em consideração o efeito do ambiente e a possibilidade de correlação entre os caracteres, porém, necessita de ensaios experimentais com repetições. A partir destas metodologias de cálculos da distância genética, têm sido

reproduzidas variações de modelos matemáticos que estimam formas variadas na representação do grau de coincidência com que os distintos pares de genótipos apresentam no conjunto de variáveis mensuradas em um experimento. O pesquisador após ter as estimativas de distância entre cada par de genótipos estudado, apresenta os dados em matriz simétrica, e a partir desta, a visualização e interpretação das distâncias pode ser facilitada pela utilização de método de agrupamento e/ou dispersão gráfica.

Diversos estudos, em diferentes países têm revelado alta diversidade fenotípica em acessos de arroz-daninho em diversas regiões geográficas (NOLDIN et al., 1999; KARIM et al. 2010; SHIVRAIN et al. 2010; SONG et al. 2014; SUDIANTO et al., 2016). Muitas características morfológicas podem ser utilizadas para caracterizar determinado biótipo, tanto variáveis qualitativas como quantitativas (DORNELLES, 2009; FOGLIATTO et al. 2012).

Em vista do exposto, o estudo teve o objetivo de caracterizar acessos de arroz-daninho dos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina por descritores morfológicos qualitativos e quantitativos.

3.2 Material e Métodos

O experimento foi conduzido a campo, em área experimental pertencente ao Centro Tecnológico do Chasqueiro (Arroio Grande – RS; safra 2013/14), na área experimental do Centro Agropecuário da Palma (CAP) (Capão do Leão – RS; safra 2014/15) e em casa-de-vegetação pertencente ao departamento de Crop, Soil, and Environmental Sciences da University of Arkansas, Estados Unidos (Fayetteville, Arkansas; ano 2015/16). A experimentação foi implementada sob delineamento inteiramente casualizado, sendo que a campo, as parcelas foram compostas por oito fileiras de 1 m de comprimento com espaçamento de 0,17 m entre linhas, e em casa de vegetação foi utilizado vasos com capacidade de 8 L preenchidos com solo. A área útil da parcela a campo foi constituída pelas quatro fileiras internas, de modo a, minimizar o efeito da bordadura. A densidade de semeadura utilizada foi de 30 sementes por metro linear, na safra 2013/14; na safra 2014/15 foi utilizado o transplante de 10 mudas por metro linear, previamente semeadas em casa-de-vegetação. Na safra 2015/16, foram germinadas sementes de arroz-daninho em meio de cultura e após o estabelecimento das plântulas, foi realizado o transplante

de 5 plantas por vaso. O manejo de adubação de base foi de 300 kg ha⁻¹ de NPK (fórmula 05-20-20) e 90 kg ha⁻¹ de nitrogênio, na forma de ureia, aplicado 50% da dose no estágio V₃ (início do perfilhamento) e o restante no estágio V₉. O manejo de irrigação utilizado foi de inundação permanente até R₉ (estádio final de maturação dos acessos). Os demais tratos culturais foram baseados nas recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil (SOSBAI, 2016).

Neste estudo, 249 acessos de arroz-daninho foram coletados em lavouras comerciais de arroz irrigado, na safra 2012/13, nos estados do RS e SC (Tabela 1), identificados e catalogados, fazendo parte do banco ativo de germoplasma de arroz-daninho do Centro de Herbologia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel (FAEM/UFPel) e também, do banco de germoplasma de estudos em “Weed Science na University of Arkansas (UARK)”. Um acesso corresponde a uma coleta representativa de uma população de uma espécie, identificada pelo respectivo número do coletor (CANTO-DOROW, 1993), depositado e conservado em herbário (exsiccatas) e em câmara seca (sementes), abrangendo um indivíduo com características genotípicas e fenotípicas da população que representa. Os locais de coleta foram mapeados através do uso de GPS para permitir localizá-los sempre que necessário para novas coletas e avaliações.

Para os descritores morfológicos (Tabela 2) de herança quantitativa foram avaliadas 10 plantas aleatórias dentro de cada unidade experimental a cada safra. Para as características de herança qualitativa foram avaliadas 5 plantas a cada safra. Na condução do experimento, as plantas com características atípicas foram removidas das unidades experimentais.

Os caracteres de herança genética quantitativa foram submetidos à análise estatística de variância univariada. Após, os dados passaram por análises multivariadas, em que, primeiramente foram obtidas as medidas de dissimilaridade pela distância generalizada de Mahalanobis (MAHALANOBIS, 1936) estimada por

Equação 1:

$$[X_a - X_b]' \cdot S^{-1} \cdot [X_a - X_b] \quad (1)$$

onde: a distância de Mahalanobis entre os indivíduos “a” e “b”; X_a é o vetor de caracteres do indivíduo “a”; X_b é o vetor de caracteres do indivíduo “b”; “S” é a matriz de variância amostral da população.

Para a estimativa do ajuste entre a matriz de dissimilaridade e o dendrograma gerado foi calculado o coeficiente de correlação cofenética (CCC) (SOKAL; ROHLF, 1962), obtida por Equação 2:

$$CCC = \frac{Cov(F,C)}{\sqrt{V(F).V(C)}} \quad (2)$$

sendo, F = matriz fenética; C = matriz cofenética.

Tabela 1 - Lista dos 249 acessos de arroz-daninho coletados nos estados do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Código de identificação	Estado	Mesorregião
15-96; 15-98; 15-97; 15-99; 15-141; 15-269.	SC	Alto Vale do Itajaí
15-35; 15-36; 15-37; 15-38; 15-39; 15-40; 15-41; 15-42; 15-43; 15-44; 15-45; 15-46; 15-47; 15-48; 15-49; 15-50; 15-51; 15-52; 15-53; 15-54; 15-55; 15-56; 15-57; 15-58; 15-59; 15-60; 15-61; 15-62; 15-63; 15-64; 15-65; 15-66; 15-67; 15-68; 15-69; 15-70; 15-71; 15-72; 15-73; 15-74; 15-75; 15-76; 15-77; 15-78; 15-79; 15-80; 15-81; 15-82; 15-83; 15-84; 15-85; 15-86; 15-87; 15-88; 15-89; 15-90; 15-91; 15-92; 15-93; 15-94; 15-95; 15-106; 15-107; 15-108; 15-109; 15-110; 15-111; 15-271; 15-112; 15-113; 15-114; 15-115; 15-116; 15-117; 15-118; 15-119; 15-120; 15-121; 15-122; 15-123; 15-124; 15-125; 15-126; 15-127; 15-128; 15-129; 15-130; 15-131; 15-267; 15-268	SC	Médio Vale do Itajaí
15-26; 15-27; 15-28; 15-29; 15-18; 15-19; 15-20; 15-21; 15-22; 15-23; 15-24; 15-25; 15-30; 15-31; 15-32; 15-33; 15-34; 15-266	SC	Baixo Vale do Itajaí
15-132; 15-133; 15-134; 15-135; 15-136; 15-137; 15-138; 15-139; 15-140; 15-142; 15-143; 15-144; 15-145; 15-146	SC	Sul
15-100; 15-101; 15-102; 15-103; 15-104; 15-105; 15-147; 15-148; 15-149; 15-150; 15-270	SC	Litoral Norte
15-171; 15-172; 15-173; 15-174; 15-175; 15-176; 15-177; 15-178; 15-180; 15-181; 15-182; 15-183; 15-184; 15-190; 15-191; 15-192; 15-193; 15-194; 15-195; 15-196; 15-197; 15-198; 15-199; 15-200; 15-201; 15-202; 15-203; 15-204; 15-205; 15-272; 15-273; 15-275; 15-276; 15-282; 15-283	RS	Depressão Central
15-152; 15-153; 15-154; 15-156; 15-157; 15-159; 15-160; 15-161; 15-162; 15-163; 15-165; 15-166; 15-167; 15-168; 15-169; 15-179; 15-230; 15-232; 15-233; 15-231; 15-234; 15-235; 15-236; 15-237; 15-238; 15-239; 15-240; 15-241; 15-242; 15-244; 15-245; 15-247; 15-248; 15-249; 15-250	RS	Zona Sul
15-151; 15-155; 15-158; 15-164; 15-170; 15-185; 15-186; 15-187; 15-188; 15-189; 15-206; 15-207; 15-208; 15-209; 15-210; 15-211; 15-212; 15-213; 15-214; 15-215; 15-216; 15-217; 15-218; 15-219; 15-220; 15-221; 15-222; 15-223; 15-224; 15-225; 15-226; 15-227; 15-228; 15-229; 15-243; 15-246; 15-251; 15-274; 15-277; 15-278	RS	Campanha

Para os dados qualitativos avaliados adotou-se a medida de dissimilaridade única para todos os tipos de caráter, mas que apresentaram mesmo intervalo de definição. Para isto Gower (1971) propôs um coeficiente geral de similaridade que é aplicável simultaneamente aos vários tipos de caracteres. Assim, foram obtidos valores de similaridade, para o par de indivíduos i e i' , para cada par de caracteres, denotado por S_{iik} de forma que a similaridade entre i e i' seja dada por Equação 3:

$$S_{ijk} = \frac{\sum_{k=1}^p W_{ijk} \times S_{ijk}}{\sum_{k=1}^p W_{ijk}} \quad (3)$$

sendo, K = número de caracteres ($k = 1, 2, \dots, p$); i e j = dois indivíduos que representem o acesso; W_{ijk} = peso dado à comparação ijk , atribuindo valor 1 para comparações válidas e valor 0 para comparações inválidas (quando o valor do caráter está ausente em um ou ambos indivíduos); S_{ijk} = contribuição do caráter k na similaridade entre os indivíduos i e j, com valores entre 0 e 1. Para um caráter qualitativo (nominal), se o valor do caráter k é o mesmo para ambos os indivíduos, i e j, então $S_{ijk} = 1$, caso contrário, é igual a 0.

A partir da matriz de similaridade, obteve-se a matriz de dissimilaridade, na qual alocou-se os acessos em grupos de modo hierárquico, pela ligação média entre grupo (UPGMA), verificando-se o coeficiente de correlação cofenética. Para detectar as inter-relações entre as matrizes de dissimilaridade e seus respectivos dendrogramas obtidos, foram estimadas as correlações entre os pares de matrizes de ordem qualitativa e quantitativa dos conjuntos de dados utilizando o teste de correlação de matrizes de Mantel, com 10000 simulações (MANTEL, 1967) e significância testada pelo teste t.

Para a determinação da subespécie (*indica* ou *japonica*) foi utilizado o método do Fenol (GROSS et al., 2009), que consiste na verificação da mudança de cor (marrom escuro ou preto) da casca (cariopse) e do grão de amostras de arroz pertencentes, exclusivamente, à subespécie *indica* como resultado da atividade da enzima *Polifenol Oxidase*. Os procedimentos estatísticos foram processados através do aplicativo computacional em genética e estatística, GENES (CRUZ, 2013).

Tabela 2 - Lista de 24 descritores morfológicos avaliados nos acessos de arroz-daninho. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Descritor	Característica	Parâmetros
1. Cor da folha (CF)	Qualitativo	A coloração do limbo e da bainha foi observada no início do aparecimento das panículas: 1 - Verde claro; 2 - Verde; 3 - Verde escuro; 4 - Púrpura na ponta; 5 - Púrpura na margem; 6 - Púrpura
2. Comprimento da folha bandeira (CFB)	Quantitativo	Distância, em cm, entre o colar e a extremidade da folha bandeira, no início da floração
3. Largura da folha bandeira (LFB)	Quantitativo	Maior largura, em cm, da folha bandeira, no início da floração
4. Pubescência da folha bandeira (PFB)	Qualitativo	Observado entre o emborrachamento e a emissão da panícula: 1 - Ausente (glabra); 2 - pubescente
5. Cor da aurícula (CAu)	Qualitativo	Observada na penúltima folha, entre o emborrachamento e a antese: 1 - verde claro; 2 - púrpura

6. Cor da lígula (CL)	Qualitativo	Observada na penúltima folha, entre o emborrachamento e a antese. 1 – Incolor a verde; 2 – Púrpura
7. Ângulo da folha bandeira (AFB)	Qualitativo	Observado o ângulo em relação ao colmo, na antese: 1- Ereto – menor que 30°; 2- Intermediário – entre 31 e 60°; 3- Horizontal – entre 61 e 90°; 4- Descendente – maior que 90°
8. Forma da lígula (FL)	Qualitativo	Observada na penúltima folha, entre o emborrachamento e a antese: 1- Aguda; 2- Fendida; 3- Truncada/Recortada.
9. Estatura (EST)	Quantitativo	Comprimento da planta, em cm, entre à base (ao nível do solo) e a extremidade da folha bandeira.
10. Exserção panícula (EXS)	Quantitativo	Distância entre o colar da folha bandeira e o nó ciliar.
11. Degrane (DEG)	Qualitativo	Porcentagem de grãos debulhados após pressionar levemente a panícula com a mão: 1 – Difícil – menos que 25% dos grãos da panícula removidos; 2 – intermediário – entre 25 e 50% dos grãos removidos; 3 – fácil – acima de 50% dos grãos removidos
12. Subespécie (SUB)	Qualitativo	Determinação se o acesso era indica ou japônica, através do teste com fenol: 1 – indica; 2 – japônica
13. Tipo Panícula (TP)	Qualitativo	Observado na maturação, classificação das ramificações primárias: 1 – Compacta; 2 – intermediária; 3 – aberta
14. Comprimento panícula (CP)	Quantitativo	Distância, em cm, entre nó ciliar e a última espiguetta da panícula, avaliado no enchimento de grãos.
15. Presença e distribuição arista (PDA)	Qualitativo	Observado após o enchimento de grãos: 0- Ausência; 1- Somente na ponta; 2 – ¼ superior; 3- ½ superior; 4 – 2/3 superior; 5- Toda extensão
16. Comprimento arista (CA)	Quantitativo	Determinado na maturação, em cm.
17. Cor do ápulo (CAP)	Qualitativo	Observado durante a antese: 1- Branca; 2- Verde; 3- Amarela; 4- Marrom; 5- Vermelha; 6- Púrpura; 7- Preta
18. Pubescência das glumelas (PG)	Qualitativo	Observada na maturação: 1- Ausente (glabra); 2- Pilosa
19. Cor das glumelas (CGI)	Qualitativo	Observado após a maturação: 1- Palha; 2- Dourada; 3- Estrias Marrom; 4- Púrpura; 5- Preta
20. Comprimento do grão (CG)	Quantitativo	Após colheita em mm.
21. Largura do grão (LG)	Quantitativo	Após colheita em mm.
22. Espessura do grão (EG)	Quantitativo	Após colheita em mm.
23. Relação Comprimento/Largura (RG)	Quantitativo	Após colheita
24. Cor do grão descascado (PER)	Qualitativo	Após a colheita as sementes foram descascadas e não polidas: 1- Branca; 2- Parda; 3- Vermelha; 4- Púrpura

Fonte: IRRI (2002); Nascimento et al. (2011).

3.3 Resultados e Discussão

A análise de variância univariada dos caracteres quantitativos (Tabela 3) demonstrou diferença significativa a 1% de probabilidade pelo teste F, para os 10 caracteres quantitativos analisados neste grupo de acessos, apresentando coeficientes de variação entre 2,01% para o caráter espessura do colmo e 14,6%

para o caráter comprimento das aristas. De imediato, isto indica a presença de variabilidade genética entre os distintos acessos avaliados e possibilita a inclusão dos referidos caracteres nos estudos de distância genética.

A contribuição relativa dos caracteres quantitativos para dissimilaridade genética dos acessos de arroz-daninho (Figura 1) pelas distâncias generalizadas de Mahalanobis segundo Singh (1981), demonstrou que os caracteres espessura, comprimento e a relação entre a largura e o comprimento da cariopse, foram os que mais discriminaram o grupo de acessos analisados, com 22,7; 17,6 e 17,3%, respectivamente. Estes três caracteres demonstraram uma contribuição superior a 55% para a discriminação por caracteres quantitativos destes acessos. Os demais caracteres obtiveram contribuição significativa, no entanto, com menor magnitude. Isto é decorrente, principalmente, pela menor diferenciação dos grupos dos acessos avaliados, pois representam apenas a subespécie de *Oryza sativa indica*, não contendo acessos da subespécie *japonica*.

Tabela 3 - Resumo da análise de variância dos caracteres quantitativos de 249 acessos de arroz-daninho. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Variável (GL)	Quadrados Médios									
	EXS	EST	CG	EG	LG	RG	CA	CFB	LFB	CP
Acesso (248)	17,53**	1013,7**	1,01**	0,03**	0,11**	0,33**	1014,8**	189,7**	0,19**	37,1**
Resíduo (498)	0,10	25,09	0,13	0,01	0,02	0,01	11,2	4,2	0,01	1,07
Média	3,39	123,38	9,10	2,00	2,90	3,15	22,9	30,6	1,34	20,4
C.V.(%)	9,22	4,05	4,02	2,01	5,01	3,55	14,6	6,69	6,74	5,07

** - significativo a 1% pelo teste F. EXS – exserção da panícula; EST – estatura da planta; CG – comprimento da cariopse; EG – Espessura da cariopse; LG – largura da cariopse; RG – Relação entre o comprimento e a largura da cariopse; CA – comprimento da arista; CFB – comprimento da folha bandeira; LFB – largura da folha bandeira; CP – comprimento da panícula.

Os caracteres qualitativos avaliados na caracterização demonstraram existência de variabilidade para este grupo de acessos, podendo discriminá-los fenotipicamente, em que os acessos estudados revelaram diferenças para a maioria dos caracteres de arroz-daninho, exceto para forma da lígula (FL) e subespécie (SUB) que não foram observados a presença de classes fenotípicas/genotípicas distintas. A forma da lígula avaliada em todos os acessos foi do tipo fendida.

Diferenças morfológicas podem, algumas vezes, serem utilizadas para distinguir a subespécie (SUB) *indica* de *japonica*, como é o caso do formato do grão, sendo que, em geral, as sementes pertencentes à subespécie *japonica* possuem grãos curtos, largos e seção transversal arredondada enquanto que indica se

caracteriza por grãos longos, estreitos e levemente planos. Porém, o método mais utilizado atualmente para distinguir essas subespécies é o Teste de Fenol (Figura 2). De acordo com Morishima & Oka (1981), a probabilidade de classificação errada entre grupos indica e japonica é de 39% quando se utiliza apenas descritores quantitativos relacionados com comprimento/largura da cariopse.

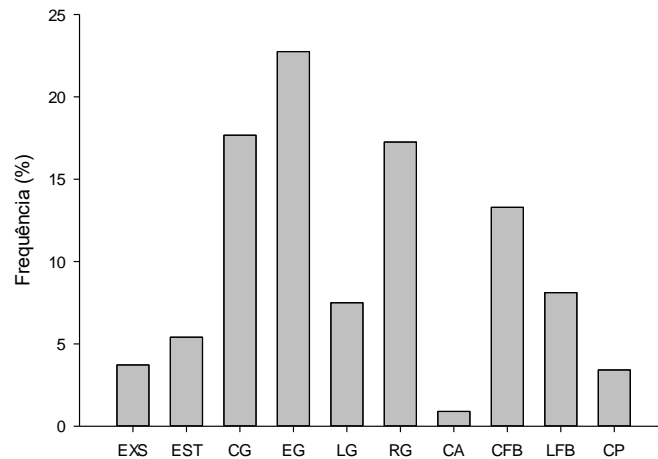


Figura 1 - Contribuição relativa dos caracteres quantitativos para dissimilaridade genética de 249 acessos de arroz-daninho. EXS – exserção da panícula; EST – estatura da planta; CG – comprimento da cariopse; EG – Espessura da cariopse; LG – largura da cariopse; RG – Relação entre o comprimento e a largura da cariopse; CA – comprimento da arista; CFB – comprimento da folha bandeira; LFB – largura da folha bandeira; CP – comprimento da panícula. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.



Figura 2 - Teste do Fenol para determinação da subespécie de acesso de arroz-daninho. (A) as sementes ficam embebidas em solução de 1,5% de concentração com fenol por período de 24-48hrs. (B) as sementes são secas com papel toalha e colocadas em câmara de ar forçado (capela) para serem secas e posteriormente avaliadas. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2017.

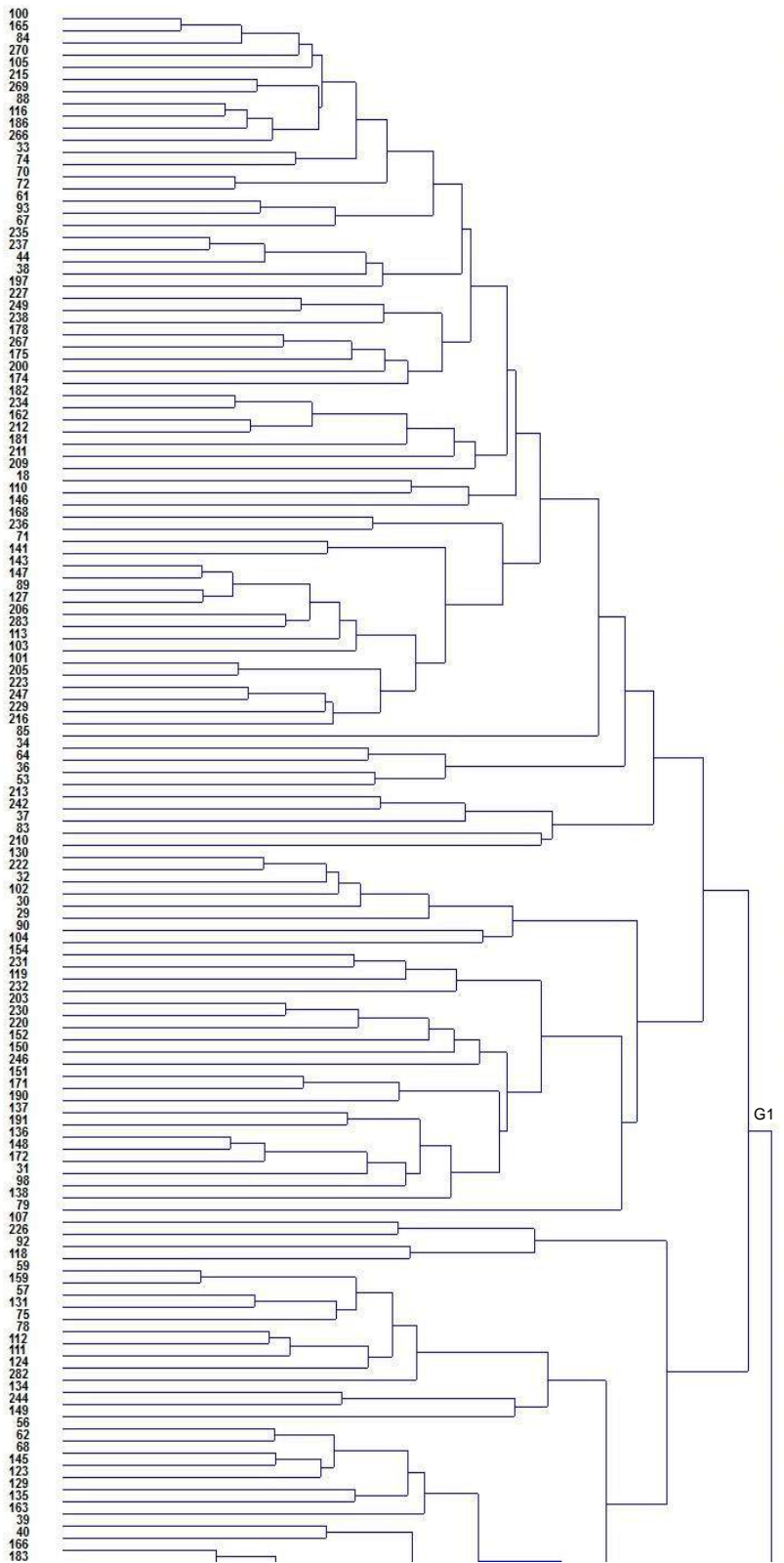
Conforme pode-se observar no dendrograma da Figura 3, discriminou-se nível de similaridade média de 0,2181, quatorze grupos distintos abrangendo avaliações qualitativas e quantitativas (Tabela 4), sendo que, apenas o primeiro grupo associou 198 acessos. Isto evidencia o estreitamento da similaridade entre os acessos remanescentes de lavouras de arroz irrigado, o que pode indicar que o manejo de plantas daninhas nas áreas, está favorecendo a seleção de determinadas características fenotípicas dos acessos. Entretanto, verificou-se que os grupos, as vezes, não são bem estruturados em relação às características morfológicas, ocorrendo biótipos intermediários entre aqueles que detêm as características principais de similaridade para o agrupamento em questão.

Tabela 4 - Médias dos descritores quantitativos dos 14 grupos de arroz-daninho dos estados do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Grupo	EXS (cm)	EST (cm)	CG (mm)	EG (mm)	LG (mm)	RG	CA (cm)	CFB (cm)	LFB (cm)	CP (cm)
1	3,4	121,8	9,0	2,0	2,9	3,2	22,3	30,4	1,3	20,4
2	0,7	77,4	9,8	2,0	2,4	4,0	10,9	23,0	1,5	22,0
3	0,7	162,0	9,4	2,1	2,9	3,2	28,2	27,0	1,4	23,0
4	3,8	128,5	8,4	1,9	2,9	2,9	23,9	25,7	1,1	18,7
5	6,0	127,7	9,1	2,0	2,8	3,3	0,0	31,0	1,3	22,0
6	2,5	126,6	9,0	2,0	2,9	3,1	29,7	33,3	1,5	20,5
7	4,3	114,1	8,8	2,1	3,0	2,9	12,5	31,6	1,4	18,7
8	2,4	116,1	9,4	2,1	3,0	3,2	15,0	30,0	1,4	19,5
9	4,3	122,6	9,0	2,1	2,9	3,1	33,4	29,6	1,2	21,0
10	10,2	133,4	8,7	1,9	2,7	3,2	64,1	25,0	1,3	19,0
11	1,6	160,2	9,5	2,0	3,0	3,1	25,1	40,0	1,6	23,5
12	2,4	140,6	10,2	2,0	2,8	3,6	26,4	38,0	1,5	21,0
13	0,8	135,9	10,0	1,9	2,7	3,7	0,0	24,0	0,9	28,0
14	3,7	116,1	8,3	1,9	2,8	3,0	0,0	30,5	1,9	22,5

EXS – exsérção da panícula; EST – estatura da planta; CG – comprimento da cariopse; EG – Espessura da cariopse; LG – largura da cariopse; RG – Relação entre o comprimento e a largura da cariopse; CA – comprimento da arista; CFB – comprimento da folha bandeira; LFB – largura da folha bandeira; CP – comprimento da panícula.

O grupo 1, que engloba a maioria dos biótipos de arroz-daninho do RS e SC (198 biótipos) apresentam as seguintes semelhanças fenotípicas: folha bandeira pubescente, aurícula verde clara e lígula incolor a verde. Nesse grupo, houve algumas diferenças fenotípicas, de determinados atributos, que não foram homogêneas. Por exemplo, pode ser inclusas nesse grupo, plantas de arroz-daninho com diferentes cores de glumelas (Figura 4).



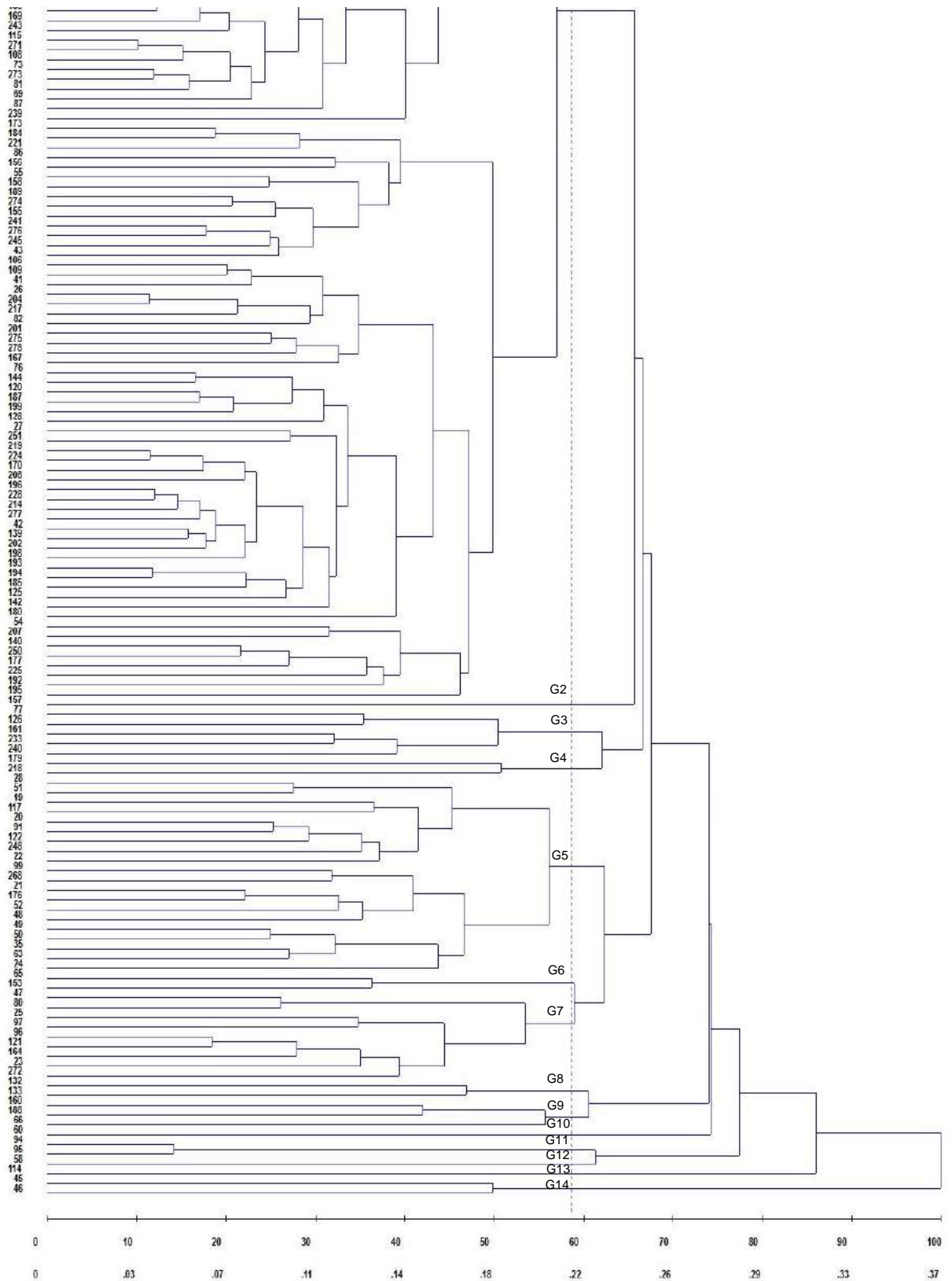


Figura 3 - Dendrograma obtido a partir da matriz de dissimilaridade através dos caracteres quantitativos e qualitativos de 249 acessos de arroz-daninho, pelo método de Ligação Média entre Grupo (UPGMA). Medida de similaridade média entre grupo = 0,2181. G1 – G14 – Clusters 1 ao 14, respectivamente. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

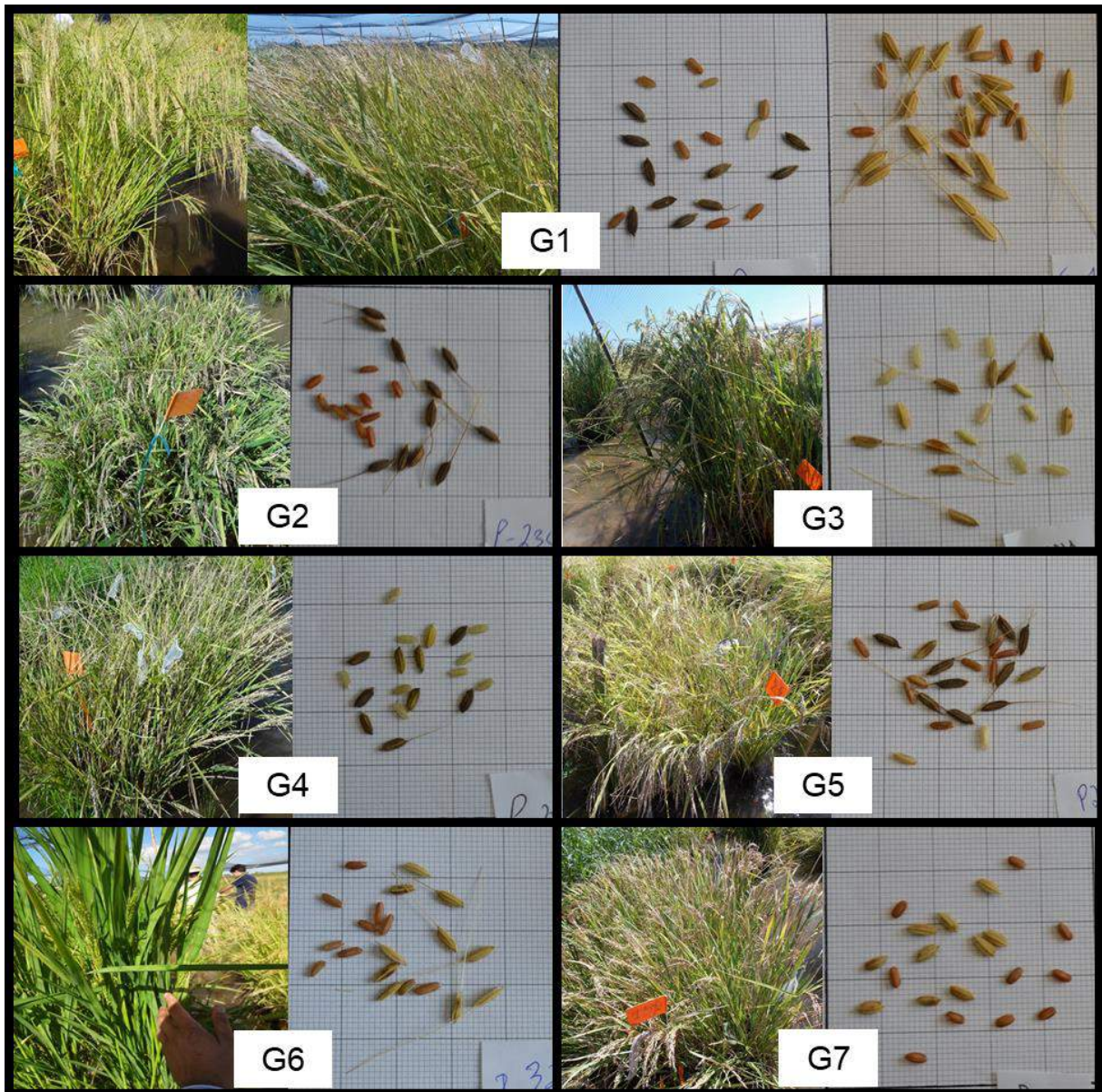


Figura 4 - Diversidade das morfológicas das plantas e da coloração de glumelas, da cor de grãos descascados, presença e ausência de arista entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. G1 – G7 = clusters de 1 ao 7, respectivamente. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

O grupo 2, que engloba o biótipo 15-157, da mesorregião Zona Sul, do estado do RS, apresenta as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde claro, pubescência na folha bandeira, aurícula e lígula incolores, ângulo da folha bandeira ereto, panícula do tipo intermediário, apículo da cor verde, presença de arista nos 2/3 superiores da panícula, pubescência nas glumelas, glumelas pretas, semente da cor vermelha, fácil degrane e baixa estatura, cerca de 77 cm.

O grupo 3, que engloba os biótipos 15-77 e 15-126, da mesorregião do médio vale do Itajaí, do estado de SC apresentam as seguintes características fenotípicas:

cor da folha verde, aurícula e lígula incolores, ângulo da folha bandeira ereto, apículo da cor verde, panícula do tipo intermediário, pubescência nas glumelas, glumelas pretas, semente da cor branca e fácil degrane.

O grupo 4, que engloba os biótipos 15-161, 15-233, 15-240 da mesorregião Zona Sul, do estado do RS apresentam as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde, pubescência na folha bandeira, aurícula incolor, apículo da cor verde, ângulo da folha bandeira intermediário, panícula do tipo intermediário, pubescência nas glumelas, glumelas pretas, semente da cor branca, degrane intermediário e folha bandeira estreita.

O grupo 5, que engloba o biótipo 15-179 da mesorregião da Zona Sul e o biótipo 15-218 da mesorregião da Campanha, ambos do RS apresentam as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde, pubescência na folha bandeira, aurícula incolor, apículo da cor verde, ângulo da folha bandeira intermediário, panícula do tipo intermediário, não possuem arista, glumelas pretas, semente da cor vermelha e fácil degrane.

O grupo 6, que engloba 20 acessos (18 de SC e 2 do RS) apresentam as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde, folha bandeira glabra, aurícula incolor, panícula do tipo intermediário e semente da cor vermelha.

O grupo 7, que engloba 10 acessos (8 de SC e 2 do RS) apresentam as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde, folha bandeira glabra, aurícula e lígula incolores, ângulo da folha bandeira ereto.

O grupo 8, que engloba o biótipo 15-132 da mesorregião Sul, de SC e o biótipo 15-272 da mesorregião da Depressão Central, do RS apresentam as seguintes características fenotípicas: folha bandeira glabra, aurícula e lígula incolores, ângulo da folha bandeira intermediário, glumelas palha e semente da cor vermelha (Figura 5).

O grupo 9, que engloba 4 acessos (2 de SC e 2 do RS) apresentam as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde claro, pubescência na folha bandeira, aurícula e lígula incolores, panícula do tipo intermediário, glumelas com ausência de pubescência e semente da cor vermelha.

O grupo 10, que engloba o biótipo 15-60, da mesorregião do Médio Vale do Itajaí, em SC apresenta as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde claro, folha bandeira glabra, aurícula e lígula incolores, ângulo da folha bandeira horizontal, panícula do tipo intermediário, apículo da cor verde, presença de arista ao

longo de toda a panícula, pubescência nas glumelas, glumelas palha, semente da cor vermelha, degrane difícil, apresenta aristas maiores que 6cm.

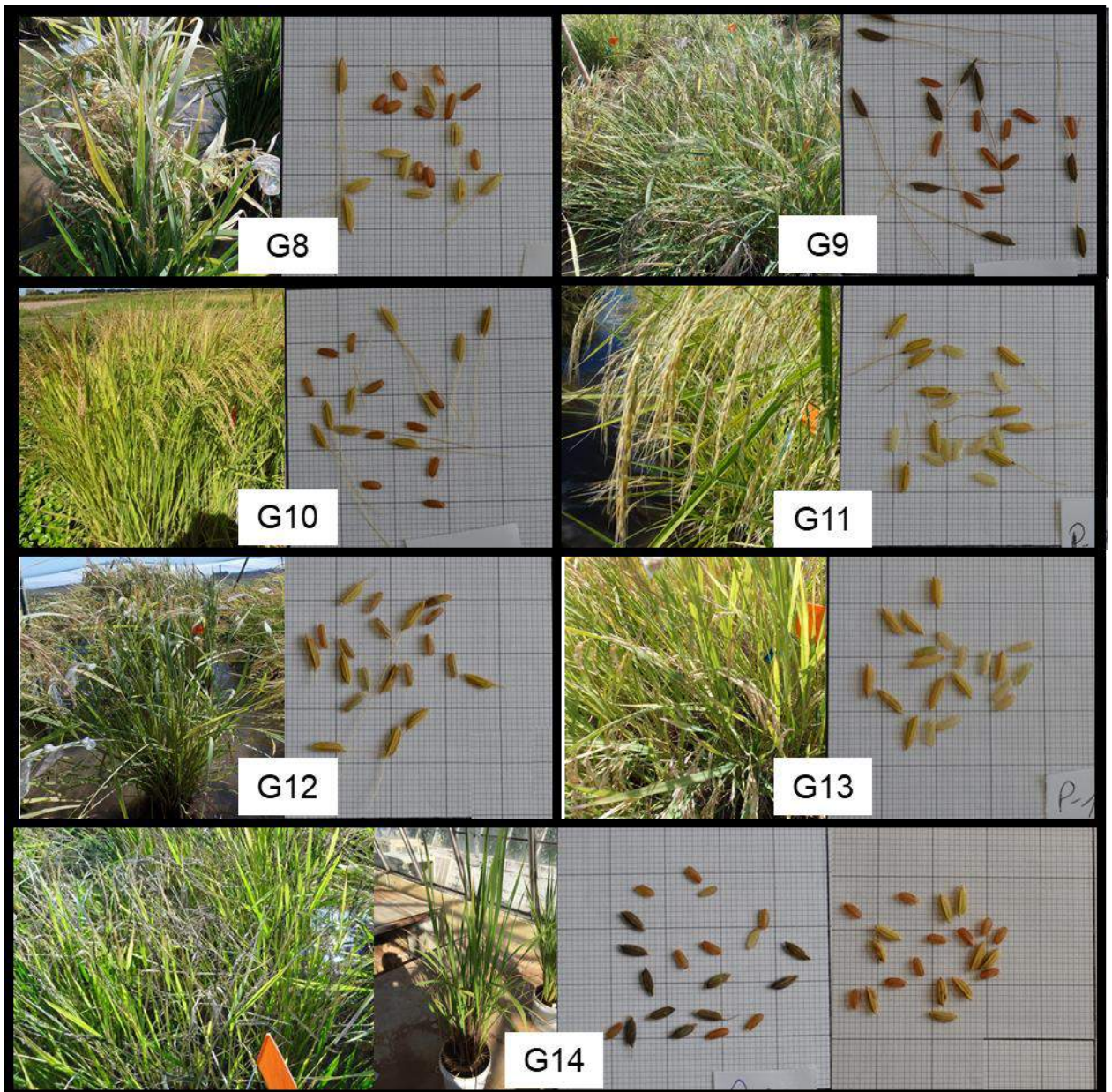


Figura 5 - Diversidade das morfológica das plantas e da coloração de glumelas, da cor de grãos descascados, presença e ausência de arista entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. G8 – G14 = clusters de 8 ao 14, respectivamente. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

O grupo 11, que engloba os biótipos 15-94 e 15-95 da mesorregião Médio Vale do Itajaí, do estado de SC apresentam as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde claro, pubescência na folha bandeira, aurícula incolor, lígula púrpura, ângulo da folha bandeira ereto, panícula do tipo intermediário, apículo da cor vermelha, presença de arista ao longo de toda a panícula, pubescência nas

glumelas, glumelas palha, semente da cor branca, degrane intermediário e estatura superior a 160 cm.

O grupo 12, que engloba o biótipo 15-58, da mesorregião do Médio Vale do Itajaí, em SC apresenta as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde, pubescência na folha bandeira, aurícula e lígula púrpuras, ângulo da folha bandeira ereto, panícula do tipo intermediário, ápulo da cor verde, presença de arista ao longo de toda a panícula, pubescência nas glumelas, glumelas palha, semente da cor branca e fácil degrane

O grupo 13, que engloba o biótipo 15-114, da mesorregião do Médio Vale do Itajaí, em SC apresenta as seguintes características fenotípicas: apresenta as seguintes características fenotípicas: cor da folha verde, folha bandeira glabra, aurícula e lígula incolores, ângulo da folha bandeira intermediário, panícula do tipo intermediário, ápulo da cor verde, ausência de arista, pubescência nas glumelas, glumelas palha, semente da cor branca e degrane difícil.

O grupo 14, que engloba os biótipos 15-45 e 15-46, da mesorregião do Médio Vale do Itajaí, em SC apresentam as seguintes características fenotípicas: pubescência na folha bandeira, aurícula e lígula púrpuras, ângulo da folha bandeira ereto, panícula do tipo compacta, ápulo da cor verde, ausência de arista, ausência de pubescência nas glumelas, semente da cor vermelha e degrane intermediário.

A distribuição das características morfológicas entre os biótipos de arroz-daninho oriundos dos estados do RS e SC podem ser visualizados da Figura 7 até a Figura 13. A estatura de planta é uma das principais características morfológicas observadas pelos produtores de arroz para combater manualmente o arroz-daninho por “roguing” (catação manual) ou através da barra química. Neste sentido, estas práticas aliadas à hibridização natural entre o arroz-daninho e o arroz cultivado (MEROTTO et al., 2016) tem sido fundamentais na seleção de biótipos com altura similar ou mais baixos que o arroz cultivado (GEALY et al., 2012), especialmente biótipos com características fenotípicas próximas às das cultivares modernas como: média a baixa estatura, folhas eretas, verdes-escuras, espiguetas múticas longo-finas, glumas de coloração palhete, entre outras (BOCCHI et al., 2002). Dentre os acessos estudados, a estatura variou entre 70,3 e 192 cm (Figura 6).



Figura 6 - Diferença de estatura de arroz-daninho provenientes do RS e SC. A) biótipo 15-123, com estatura de 192 cm oriundo da mesorregião Médio Vale do Itajaí, SC. B) biótipo 15-246, com estatura de 70,3 cm oriundo da mesorregião Campanha, RS. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2017.

O biótipo mais baixo, 15-246, com estatura de 70,3 cm, é oriundo da mesorregião da Campanha, RS, cerca de 16 cm menor que as cultivares Clearfield IRGA 422CL, Puitá INTA CL e SCS115 CL e cerca de 31 cm menor que a cultivar IRGA 417. Este resultado, corrobora com os encontrados por Dornelles (2009) que encontrou estatura similar em biótipos oriundos de Cerro Branco (Depressão Central) e Arroio Grande (Zona Sul) no estado do RS. No entanto, diverge do obtido por Schwanke et al. (2008), que encontraram para o Rio Grande do Sul apenas biótipos com estatura superior, em torno de 15 a 25 cm, às verificadas nos cultivares comerciais BR-IRGA 409, IRGA 417 e El Paso L 144.

A distribuição da estatura de arroz-daninho dos acessos coletados nos Estados do RS e SC (Figura 7), encontra-se 30,9% das amostras com estatura semelhantes a cultivares modernas e 69,1% com porte superior as cultivares comerciais. Com relação ao comprimento da folha bandeira (CFB) (Figura 7), houve grande variabilidade fenotípica, onde a faixa entre 30 e 35 cm, representou 34,1% das amostras analisadas. Já, a largura da folha bandeira (Figura 8), apresentou alta variabilidade, onde a largura entre 1,3 e 1,5 cm representou 20,8% dos acessos.

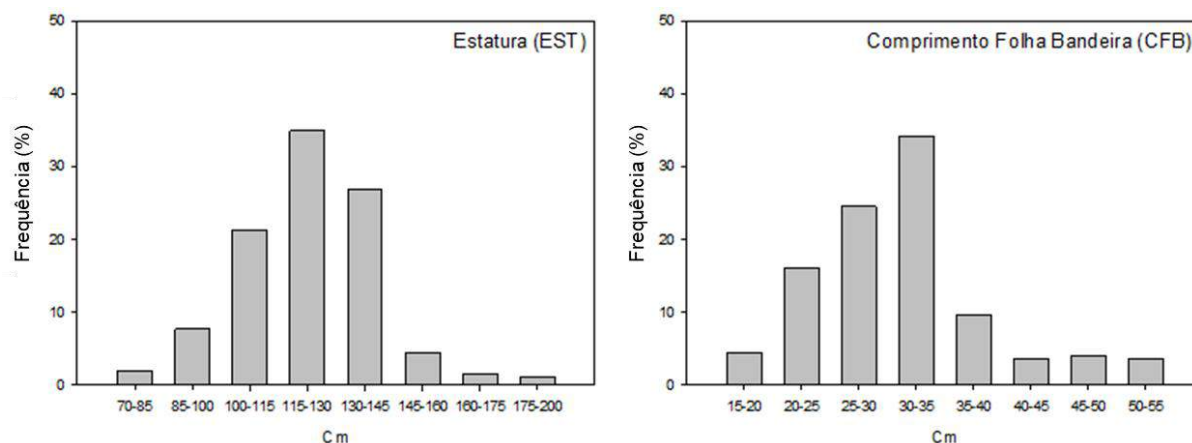


Figura 7 - Distribuição da estatura e do comprimento de folha bandeira entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Os dados relacionados a distribuição do comprimento e exserção da panícula e comprimento das aristas (Figura 8) demonstram alta variabilidade para o comprimento da arista, onde 31,3% são ausentes, no entanto o biótipo 15-87, da mesorregião do Médio Vale do Itajaí (SC) apresenta arista de 74 mm. O comprimento da panícula de 18 a 23 cm, representou 54,6% dos acessos de arroz-daninho, as medidas variaram de 13 cm, para o biótipo 15-146, do Sul de SC até 37 cm, para o biótipo 15-34 do Baixo Vale do Itajaí, SC. Com relação a exserção da panícula, 84,7% das observações variaram de 0 até 6 cm, no entanto o biótipo 15-66 apresentou 11,4 cm de distância entre a coroa da folha e o nó ciliar da panícula.

A relação comprimento/largura das cariopses permite calcular índice que mostra a forma da cariopse. Watanabe (1997) estima que a relação C/L menor que 2,5 é típica do grupo japonica com cariopses curtas e largas, espiguetas sem aristas ou com longas aristas, enquanto que a relação C/L maior que 2,5 pode ser verificada em cariopses longas e finas. Verifica-se que nenhum biótipo apresenta relação C/L (Figura 9) inferior a 2,0, quando a cariopse é classificada como semi-arredondada e típica de grupo japonica como observado na cultivar IAS 12-9 Formosa.

Para o Rio Grande do Sul, pelas análises realizadas por Dornelles (2009), a escala a ser utilizada deve considerar que para grupo japonica típico, a relação C/L deve ser inferior a 2,0 e não a 2,5 como proposta inicialmente por Watanabe (1997), seguindo-se então a escala proposta por Fonseca et al. (2001) que se apresenta mais adequada para estudos em populações de arroz-daninho. Dos 249 biótipos estudados, 95,6% (238) apresentam a relação C/L da cariopse alongada típica do

grupo índica, com valores entre 2,76 e 3,75, padrão também verificado nas principais cultivares comerciais dos estados do RS e SC, IRGA 422 CL, Puitá INTA CL, Guri CL, SCS115 CL, IRGA 417, IRGA 424, IRGA 424 RI, Avaxi CL e Inov CL, o que confirma o alto grau de hibridação entre as cultivares comerciais e os biótipos de arroz-daninho.

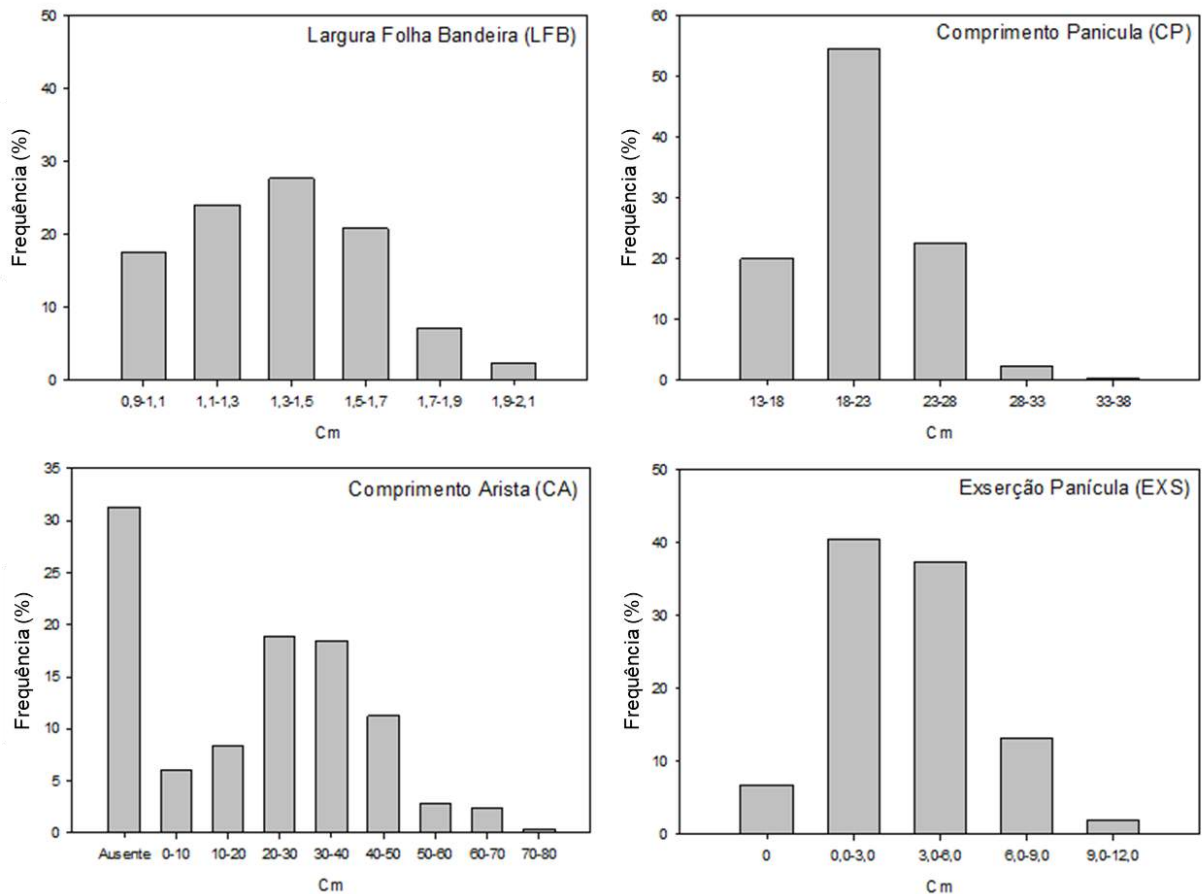


Figura 8 - Distribuição da largura da folha bandeira, comprimento e exserção da panícula e do comprimento das aristas entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

As variáveis comprimento, largura e espessura de cariopse apresentam distribuição (Figura 9) com maior frequência nos valores entre 9 e 9,5 mm para o comprimento; entre 2,8 e 3 mm para largura e, entre 2 e 2,15 mm para espessura, com percentagens de 33,7; 37,3 e 44,6% respectivamente. O biótipo 15-83, do Médio Vale do Itajaí, SC apresenta comprimento da cariopse de 10,8 mm sendo a maior medida entre os acessos estudados, já o biótipo 15-180, da Depressão Central do RS, apresenta comprimento de 7,7 mm, sendo o mais curto. Quanto a

largura da cariopse, o biótipo 15-242, da Zona Sul do RS apresenta a menor largura (2,4 mm) e o biótipo 15-221, da região da Campanha do RS o maior (3,6 mm).

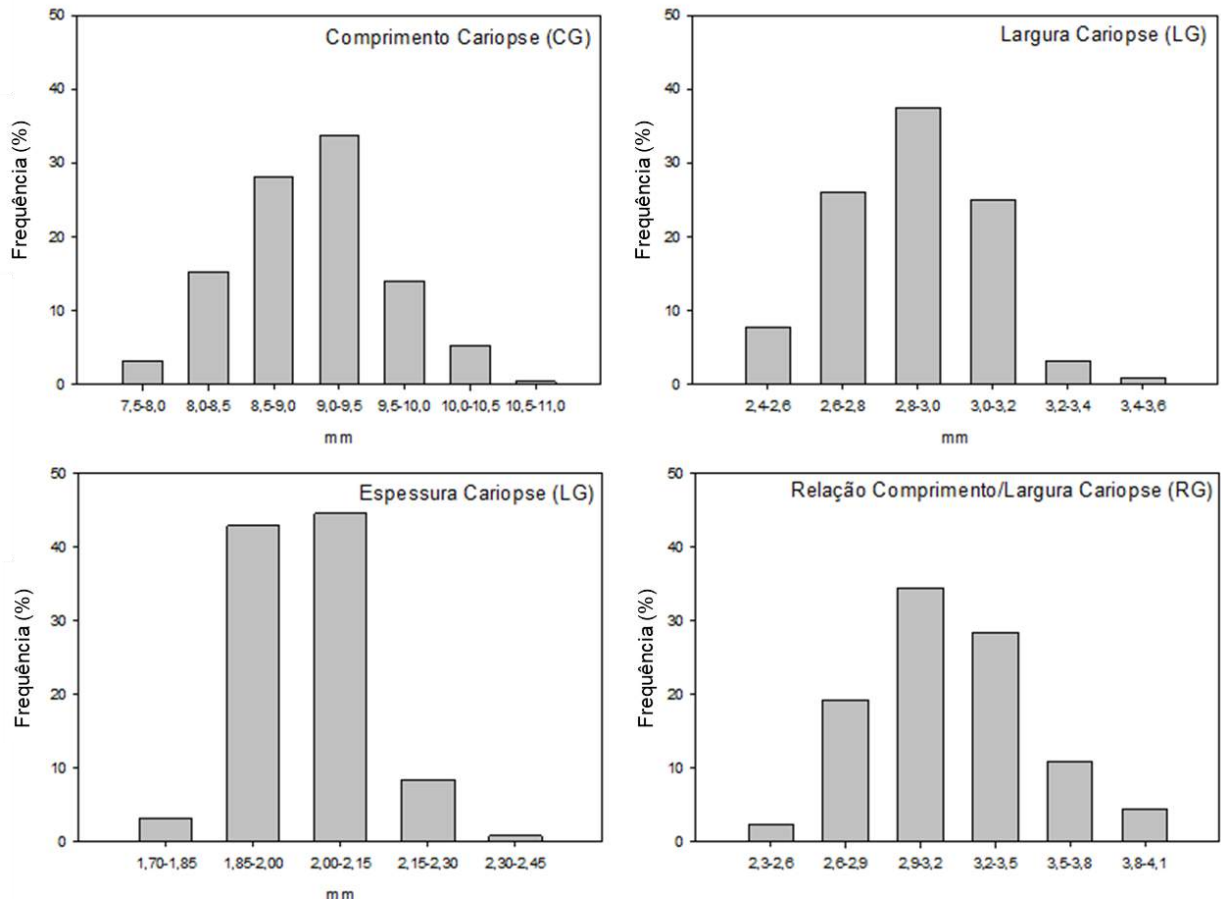


Figura 9 - Distribuição do Comprimento, Largura, Espessura e relação entre Comprimento e Largura da cariopse entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Dentre os caracteres qualitativos, a coloração das folhas, aurícula, lígula e apículo (Figura 10) apresentam baixa variabilidade fenotípica nos biótipos estudados. A cor da aurícula apresentou menor variação fenotípica, com 98,8% dos biótipos na coloração verde, seguido da variável, cor da lígula, com 96,4% dos biótipos também na cor verde. Os biótipos 15-45, 15-46 e 15-58 do Médio Vale do Itajaí apresentam a coloração da aurícula e da lígula na cor púrpura. Já os biótipos, 15-24, 15-85, 15-94, 15-95 (Médio Vale do Itajaí, SC), 15-218 (Campanha, RS) e 15-240 (Zona Sul, RS) apresentam a lígula na cor púrpura e a aurícula na cor verde. No entanto, todos os demais acessos estudados, apresentam a aurícula e lígula na cor verde.

Na cor da folha (Figura 10), 71,1% dos biótipos apresentaram a cor verde e 28,9% a cor verde-claro que tradicionalmente é a coloração encontrada no arroz-daninho (DORNELLES, 2009), esse resultado evidencia que o cruzamento entre arroz-daninho e o cultivado, aumenta a diversidade do arroz-daninho. Já, a cor do apículo mostrou que 83,9% dos acessos possuem a cor verde.

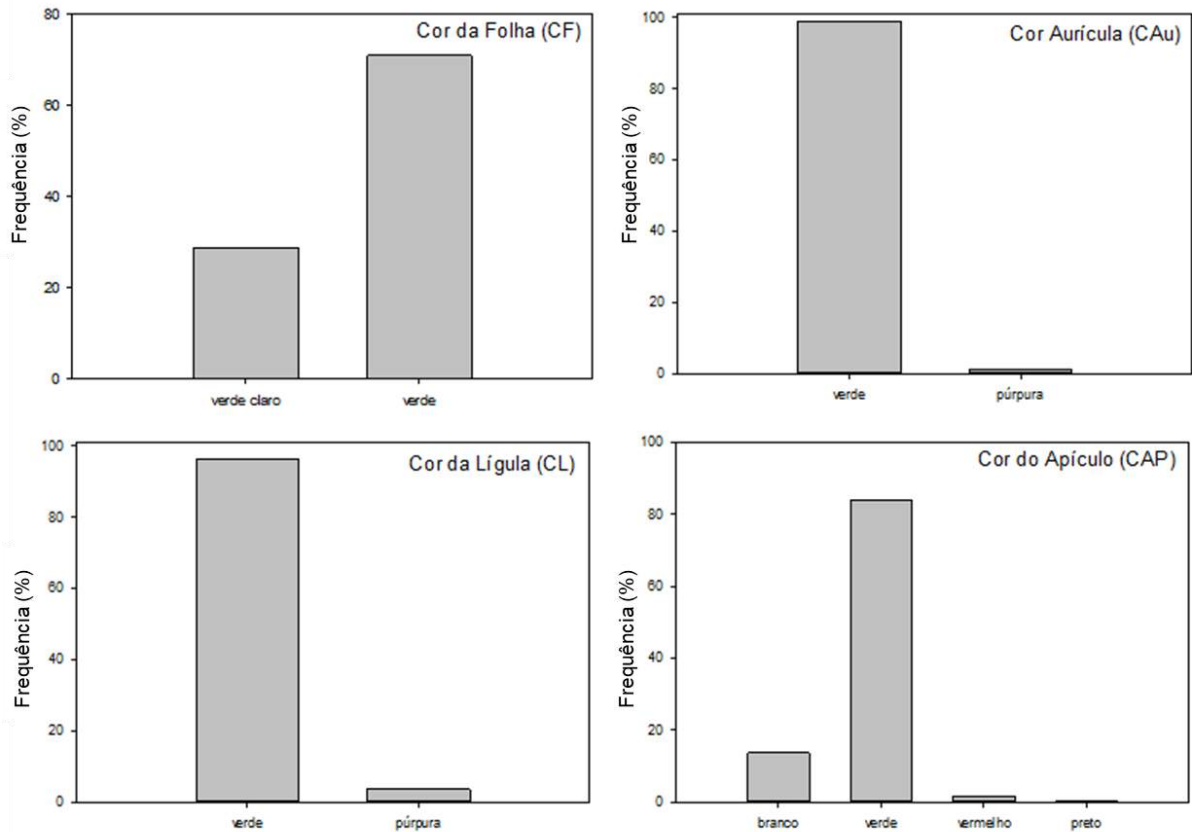


Figura 10 - Distribuição das cores da folha, aurícula, lígula e apículo entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

A maioria dos biótipos estudados apresentam pubescência na folha bandeira e nas glumelas (Figura 11), 81,1 e 90,4% respectivamente. Quanto ao ângulo da folha bandeira (Figura 12) podemos observar que a maioria dos biótipos apresentam ângulo ereto ou intermediário, 59,4 e 37,4%, respectivamente. Pode-se inferir que quanto menor o ângulo das folhas, melhor é o aproveitamento da luz irradiada pelo sol, que é precursor da fotossíntese (TAIZ; ZEIGER, 2013).

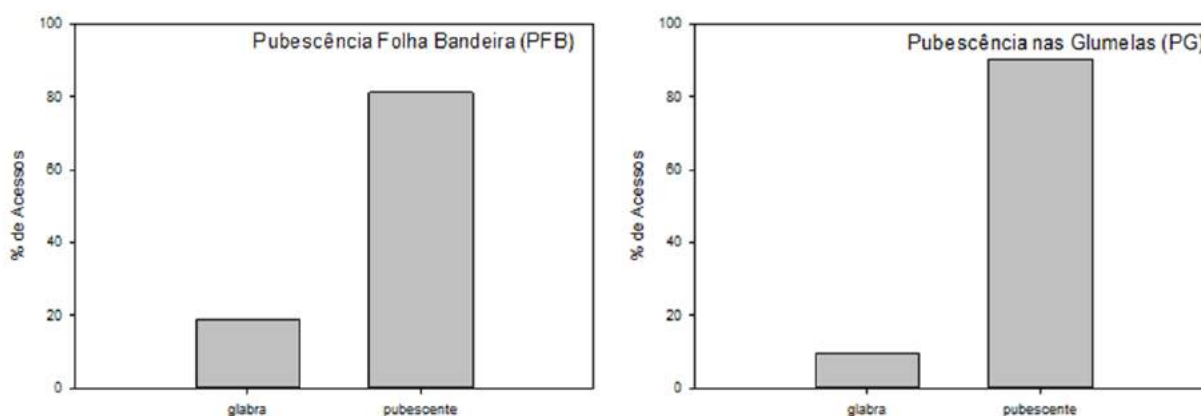


Figura 11 - Distribuição da pubescência da folha e das glumelas entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Com relação ao tipo de panícula (Figura 12), 95,6% são do tipo intermediária, que é o mesmo das cultivares comerciais de arroz, 2,0% são do tipo compacta e 2,4% aberta. Os biótipos com o tipo panícula compacta são: 15-25 (Baixo Vale do Itajaí, SC), 15-45, 15-46 (Médio Vale do Itajaí), 15-97 (Alto Vale do Itajaí, SC) e 15-218 (Campanha, RS). Já do tipo aberta 15-82, 15-109 (Médio Vale do Itajaí), 15-221, 15-225 (Campanha, RS), 15-195, 15-272 (Depressão Central, RS).

A distribuição de arista (Figura 12) se concentra ao longo de toda a panícula, sendo que 58,6% biótipos apresentam essa característica, vale ressaltar que 31,3% dos biótipos não apresentam arista. A característica de degrane intermediário (Figura 12), engloba 43,8% dos acessos estudados e degrane fácil 43,4%. Entre as características que tem importância para a sobrevivência do arroz-daninho e a perpetuação da espécie, destacam-se a dormência das sementes (SCHWANKE et al., 2008; GU et al., 2011) e o elevado índice de degrane (THURBER et al., 2013; SONG et al., 2014) que contribui para o incremento do banco de sementes do solo (AVILA et al., 2000; CONCENÇO et al., 2017).

Do ponto de vista da sobrevivência do biótipo, o degrane difícil (12,8% dos acessos) é característica que dificulta a perpetuação da espécie na área, pois permite a retirada, durante as operações de colheita, de boa parte das sementes desses biótipos, podendo serem separadas posteriormente no beneficiamento dos grãos (SCHWANKE et al., 2008; FRANCO et al., 2013). Por outro lado, pode ocorrer a distribuição destas sementes para outras regiões produtoras caso o agricultor

salve semente ou venda para terceiros, sem o beneficiamento adequado, antes da nova semeadura.

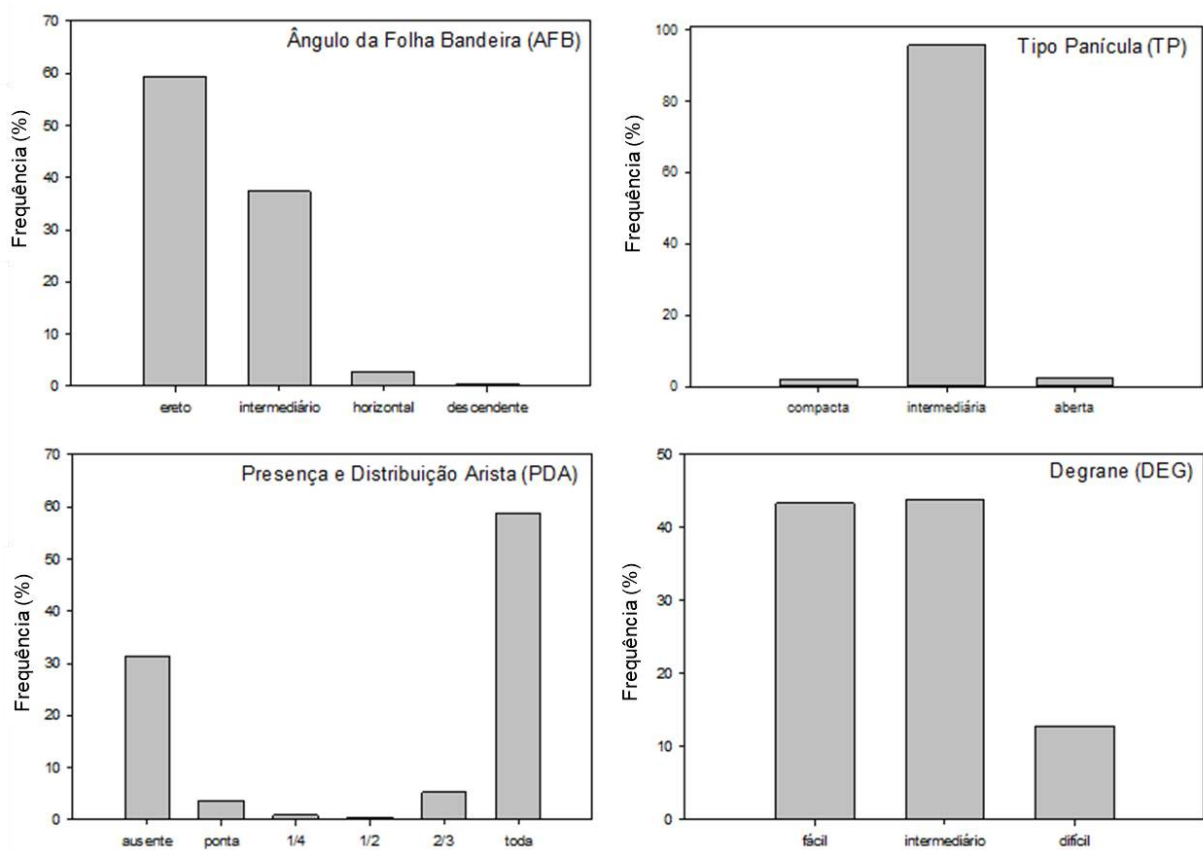


Figura 12 - Distribuição do tipo de panícula, ângulo da folha bandeira, distribuição da arista e degrane entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

A distribuição da coloração das glumelas e a coloração das sementes (Figura 13) entre os biótipos apresenta elevada variabilidade fenotípica. Em relação as glumelas, 63,5% dos biótipos são da cor palha, 20,1% da cor preta, 9,6% com estrias marrons (rajados) e 6,8% dourada. Quanto a cor dos grãos descascados, 70,3% são da coloração vermelha, 24,1% da coloração branca e 5,6% da coloração parda.

A pigmentação do pericarpo, juntamente com o degrane das sementes, é uma das características principais do arroz-daninho (GROSS et al., 2010), diversos biótipos possuem o pericarpo vermelho (Figura 14) devido às proantocianidinas (flavonoides) que é característica fenotípica controlada pelo gene regulatório Rc, o qual codifica o fator de transcrição bHLH, que foi alvo genético de seleção, durante a domesticação do arroz (SWEENEY et al., 2007). Por outro lado, a maioria das

cultivares de arroz cultivado não apresentam pigmentação no pericarpo e 97% desses, perdem a função do alelo Rc (SWEENEY et al., 2007), que também participa na síntese de ácido abscísico envolvido na dormência das sementes (GU et al., 2011).

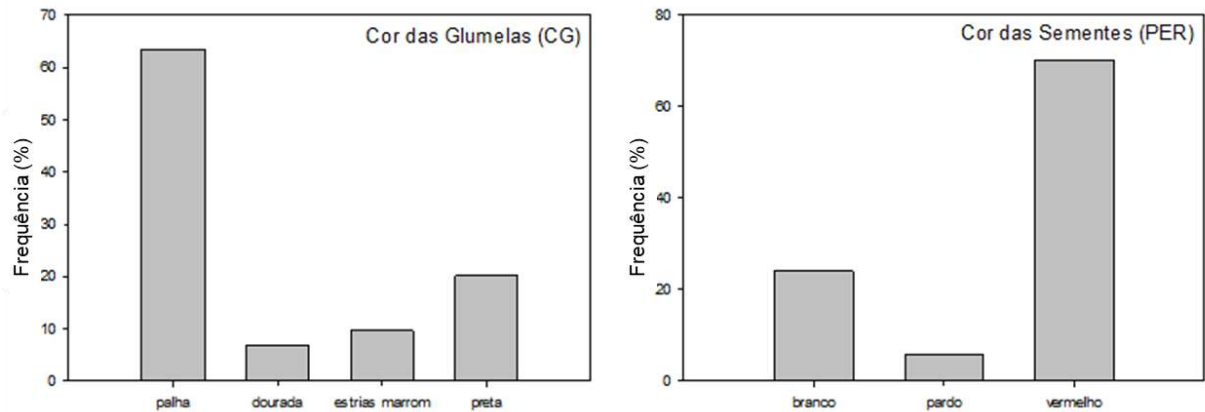


Figura 13 - Distribuição da cor das glumelas e das sementes entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

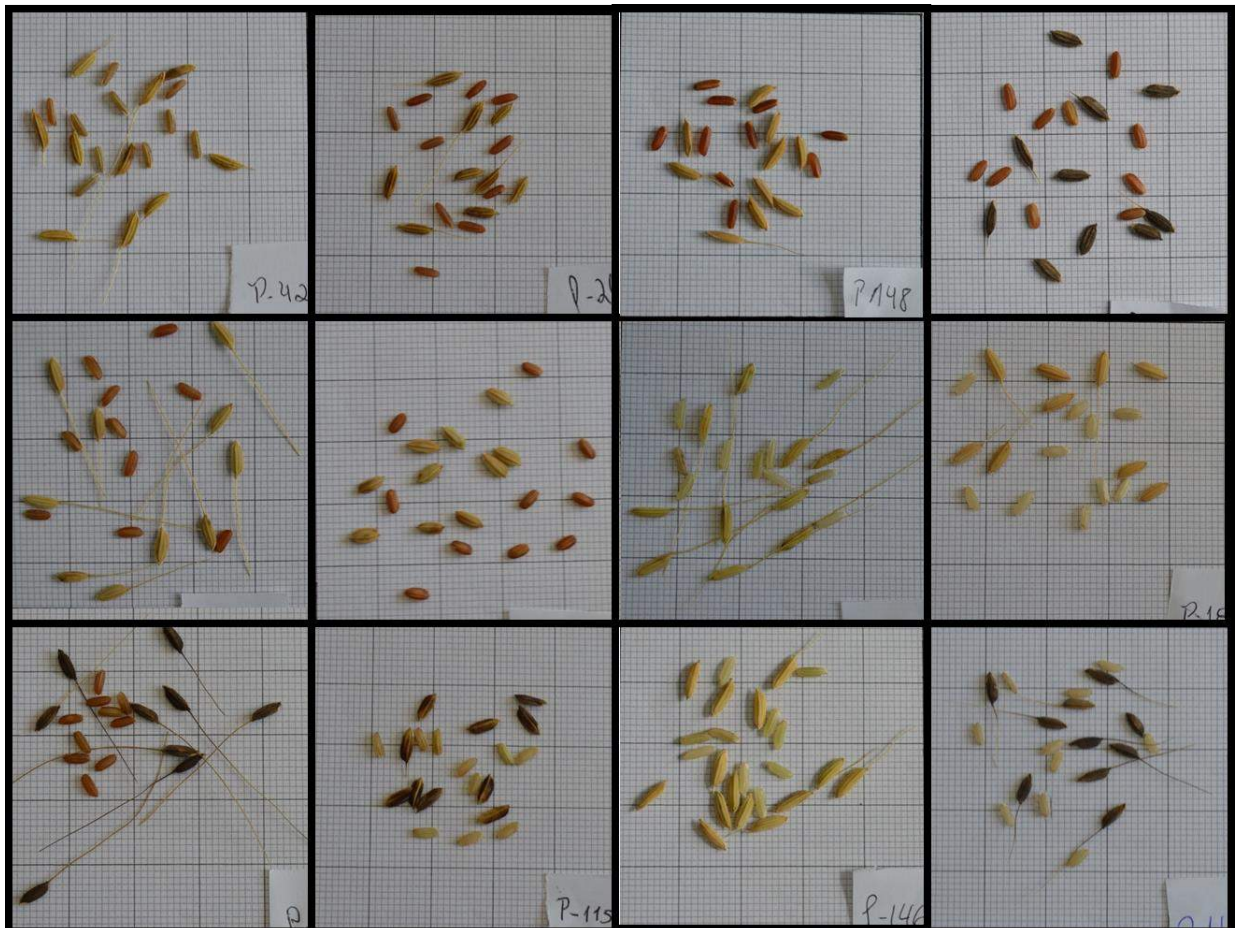


Figura 14 - Diversidade da coloração de glumelas, da cor de grãos descascados, presença e ausência de arista entre biótipos de arroz-daninho provenientes do RS e SC. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

A diversidade genética é a expressão utilizada para descrever as variações genéticas herdáveis encontradas entre e dentro de espécies, populações de uma espécie, ou indivíduos de uma população (HUGHES et al., 2008). Estudos genéticos em arroz têm elucidado aspectos importantes do gênero *Oryza*, que contém duas espécies cultivadas e aproximadamente 21 espécies silvestres distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da Américas Central e do Sul, na África, Oceania e Ásia (SUNDARAMOORTHY et al., 2009; KUMAGAI et al., 2010; ROULIN et al., 2010; SHIVRAIN et al., 2010; HUANG et al., 2012).

A predominância de autogamia no gênero *Oryza* determina que o fluxo gênico seja comumente restrito. Como resultado, é esperada grande diversidade genética entre populações geograficamente ou ecologicamente distantes. Nesse sentido, estudos têm mostrado alta diversidade genética entre populações de *Oryza* em diversas regiões onde o cultivo de arroz é importante. O principal fator que afeta o cruzamento entre o arroz cultivado e o arroz-daninho é a sincronização no florescimento, ou seja, o doador de pólen e o receptor necessitam estar na antese no mesmo período. Em geral, a taxa de cruzamento entre arroz cultivado e arroz-daninho é inferior a 1% (NOLDIN et al., 2002; GEALY et al., 2003; SHIVRAIN et al., 2007).

Os genótipos de arroz-daninho possuem grande variabilidade genética, apresentando, geralmente, arquitetura tradicional, com baixo potencial produtivo. Porém, já foram identificados germoplasma com arquitetura moderna, com alto potencial genético de produção, tendo resultado em cultivares comerciais, como a SCS119 Rubi (pericarpo vermelho) e SCS120 Onix (pericarpo preto) desenvolvidas na Estação Experimental de Itajaí (Epagri) em Santa Catarina (WICKERT et al., 2014).

3.4 Conclusões

Há grande variabilidade genética e fenotípica entre os tipos morfológicos de arroz-daninho proveniente dos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Este polimorfismo é evidenciado pela possibilidade de agrupar os biótipos de arroz-daninho em pelo menos 14 grupos distintos quanto às características fenotípicas qualitativas e quantitativas.

Os 249 biótipos de arroz-daninho coletados em diferentes regiões orizícolas dos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina são da subespécie *indica*.

3.5 Referências Bibliográficas

AVILA, L.A. et al. Banco de sementes de arroz vermelho em sistemas de semeadura de arroz irrigado. **Ciência Rural**, v.30, p.773-777, 2001.

BOCCHI, S. et al. Caratterizzazione morfo-fisiologica Del riso crodo nelle risaie milanesi. **Rivista di Agronomia**, v.36, p.157-162, 2002.

CANTO-DOROW, T.S. **Revisão taxonômica das espécies Sul-Riograndenses de *Paspalum* L. (Grupo Notata) Poaceae-Paniceae com ênfase na análise da variação intra-específica de *Paspalum notatum* Flugge.** 1993. 172p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1993.

CONCENÇO, G. et al. Phytosociological Characterization of Weeds As a Function of Residual Herbicides Applied To Rice Grown Under Sprinkler Irrigation. **Experimental Agriculture**, p.1-12, 2017.

CRUZ, C.D. GENES: a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**, v.35, p.271-276, 2013.

CRUZ, C.D. et al. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético.** 4. ed. Viçosa, MG: UFV, 2012. 514p.

DORNELLES, S.H.B. **Caracterização de acessos polimórficos de arroz vermelho do Rio Grande do Sul por descritores morfológicos e microssatélites.** 2009. 102p. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

FRANCO, D.F. et al. Colheita, Secagem, Beneficiamento e Tratamento de Sementes de Arroz Irrigado. **Documentos...** 371. Pelotas, RS. EMBRAPA, 31p., 2003.

FOGLIATTO, S. et al. Morphological characterization of Italian weedy rice (*Oryza sativa*) populations. **Weed Research**, v.52, p.60-69, 2012.

FONSECA, J.R. Características botânicas e agronômicas de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.). **Documentos...** 130. Santo Antônio de Goiás, GO. EMBRAPA. 41p., 2001.

GEALY, D. et al. Gene Flow Between Red Rice (*Oryza sativa*) and Herbicide-Resistant Rice (*O. sativa*): Implications for Weed Management. **Weed Technology**, v.17, p.627-645, 2003.

GEALY, D. et al. Genetic Analysis of Atypical U.S. Red Rice Phenotypes: Indications of Prior Gene Flow in Rice Fields? **Weed Science**, v.60, p.451-461, 2012.

GOWER, J.C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics**, v.27, p.857-871, 1971

GROSS, B.L. et al. Seeing red: The origin of grain pigmentation in US weedy rice. **Molecular Ecology**, v.19, p.3380-3393, 2010.

GROSS, B.L. et al. Novel *Phr1* mutations and the evolution of phenol reaction variation in US weedy rice (*Oryza sativa*). **New Phytologist**, v.184, p.842-850, 2009.

GU, X.Y. et al. Association between seed dormancy and pericarp color is controlled by a pleiotropic gene that regulates abscisic acid and flavonoid synthesis in weedy red rice. **Genetics**, v.189, p.1515-1524, 2011.

HOSAN S.M. et al. Genetic divergence in landraces of Bangladesh rice (*Oryza sativa* L.). **The Agriculturists: A Scientific Journal of Krishi Foundation**, v.8, p.28-34, 2010.

HUANG, X. et al. A map of rice genome variation reveals the origin of cultivated rice. **Nature**, v.490, p.497-501, 2012.

HUGHES, A.R. et al. Ecological consequences of genetic diversity. **Ecology Letters**, v.11, p.609-623, 2008.

IRRI – INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Standard Evaluation System for Rice**. 1 ed. Manila:IRRI, 2002; 56p.

KUMAGAI, M. et al. Genetic diversity and evolutionary relationships in genus *Oryza* revealed by using highly variable regions of chloroplast DNA. **Gene**, v.462, p.44-51, 2010.

LI, X. Genotypic and phenotypic characterization of genetic differentiation and diversity in the USDA rice mini-core collection. **Genetica**, v.138, p.1221-1230, 2010.

MAHALANOBIS, P.C. On the generalized distance in statistics. **Proceedings National Institute of Science**, v.12, p.49-55, 1936.

MANTEL, N. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, v.27, p.209-220, 1967.

MEROTTO, A. et al. Evolutionary and social consequences of introgression of nontransgenic herbicide resistance from rice to weedy rice in Brazil. **Evolutionary Applications**, v.9, p.837-846, 2016.

NASCIMENTO, W.F. et al. Agro-morphological characterization of upland rice accessions. **Scientia Agricola**, v.68, p.652-660, 2011.

NOLDIN, J.A. et al. Red Rice (*Oryza sativa*) Biology. I. Characterization of Red Rice Ecotypes. **Weed Technology**, v.13, p.12-18, 1999.

NOLDIN, J.A. et al. Potencial de cruzamento natural entre o arroz transgênico resistente ao herbicida glufosinato de amônio e o arroz daninho. **Planta Daninha**, v.20, p.243-252, 2002.

ROULIN, A. et al. Paleogenomic Analysis of the Short Arm of Chromosome 3 Reveals the History of the African and Asian Progenitors of Cultivated Rices. **Genome Biology and Evolution**, v.2, p.132-139, 2010.

SCHWANKE, A.M.L. et al. Caracterização de ecótipos de arroz daninho (*Oryza sativa*) provenientes de áreas de arroz irrigado. **Planta Daninha**, v.26, p.249-260, 2008.

SHIVRAIN, V.K. et al. Gene flow between Clearfield™ rice and red rice. **Crop Protection**, v.26, p.349-356, 2007.

SHIVRAIN, V.K. Genetic diversity of weedy red rice (*Oryza sativa*) in Arkansas, USA. **Weed Research**, v.50, p.289-302, 2010.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, v.41, p.237-245, 1981.

SOKAL, R.R.; ROHLF, F.J. The comparison of dendrograms by objective methods. **Taxon**, v.11, p.30-40, 1962.

SONG, B.K. et al. Malaysian weedy rice shows its true stripes: Wild *Oryza* and elite rice cultivars shape agricultural weed evolution in Southeast Asia. **Molecular Ecology**, v.23, p.5003-5017, 2014.

SOSBAI. **Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. In: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado - SOSBAI: Pelotas, 2016. 200p.

SUDIANTO, E. et al. Morphology of Malaysian Weedy Rice (*Oryza sativa*): Diversity, Origin and Implications for Weed Management. **Weed Science**, v.64, p.501-512, 2016.

SUNDARAMOORTHY, J. et al. Molecular diversity in the primary and secondary gene pools of genus *Oryza*. **Plant Systematics and Evolution**, v.279, p.115-123, 2009.

SWEENEY, M.T. Global dissemination of a single mutation conferring white pericarp in rice. **PLoS Genetics**, v.3, p.1418-1424, 2007.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013; 820p.

THURBER, C.S. et al. Similar traits, different genes? Examining convergent evolution in related weedy rice populations. **Molecular Ecology**, v.22, p.685-698, 2013.

WATANABE, Y. Classification and morphological characters of plants *Oryza*. IN: MATSUO, T. & HOSHIKAWA, K. **Science of the rice plant**. 1 p.23-32, 1993.

WICKERT, E. et al. Exploring Variability: New Brazilian Varieties SCS119 Rubi and SCS120 Onix for the Specialty Rices Market. **Open Journal of Genetics**, v.4, p.157-165, 2014.

4 CAPÍTULO III - Respostas fisiológicas e Variação da Expressão de genes *HSPs* e *HSFs* em arroz-daninho sob estresse de déficit hídrico e alta temperatura.

4.1 Introdução

O uso eficiente de recursos naturais, a redução do desperdício e o aumento de produção das culturas são fundamentais para suprir a demanda crescente por alimentos (FOLEY et al., 2011; PALMGREN et al., 2014). No entanto, existe o desafio de produzir mais conciliando com a redução na degradação do solo, menor uso de água e manutenção da biodiversidade em ambientes que estão expostos a estresses abióticos crescentes (SANG; GE, 2007; MUELLER et al., 2012; PALMGREN et al., 2014). Em diversas regiões produtoras de arroz, a expansão de área está atrelada à ambientes mais quentes e secos (KADAM et al., 2014).

O arroz-daninho, também denominado arroz-vermelho ou arroz-preto é oriundo da Ásia, e considerada uma das principais plantas infestantes da lavoura orizícola do sul do Brasil (NOLDIN et al., 2006; ANDRES et al., 2013; GOULART et al., 2014; SANTOS et al., 2014; MEROTTO et al., 2016) e de lavouras em outras regiões produtoras ao redor do globo (BURGOS et al., 2014; GEALY et al., 2015; ZISKA et al., 2015; KRAEHMER et al., 2016; BUSI et al., 2017), em razão das perdas econômicas causadas pela diminuição do potencial produtivo do arroz cultivado em função da competição. Por outro lado, por apresentar alta variabilidade genética, entre os mais distintos genótipos, demonstra potencial para ser utilizado em programas de melhoramento do arroz cultivado para incorporação de determinadas características (SCHMIDT, 2017).

A frequente exposição às flutuações e adversidades ambientais, submetem as plantas a processos dinâmicos de respostas rápidas, isso se deve à intrínseca capacidade metabólica (SIMONTACCHI et al., 2015), e de complexo sistema de sinalização, que reprograma a expressão de genes, priorizando os genes responsivos à estresses (HONG et al., 2016). Todo o processo de resposta à

estresses leva a série de alterações moleculares, morfológicas, fisiológicas e bioquímicas (GILROY et al., 2014; ZANDALINAS et al., 2017).

A manutenção de proteínas na sua conformação funcional e a prevenção da agregação são particularmente importantes para a sobrevivência das células sob estresses. As proteínas de choque térmico (*HSPs*) são chaperonas moleculares que regulam o dobramento, localização, acúmulo e degradação de proteínas em diferentes espécies de eucariotos e procariotos, desempenhando papel amplo em muitos processos celulares (HASLBECK; VIERLING, 2015) ajudando na homeostase celular e na sobrevivência da planta em condições adversas.

O aquecimento global tem sido relacionado com a indução de estresses abióticos em maior frequência e severidade (IPCC, 2014). Os distúrbios, como alta temperatura e déficit hídrico são dois dos principais fatores que afetam o crescimento das plantas (MEENA et al., 2017). De fato, danos celulares, inibição da fotossíntese, ajustamento osmótico, indução de sistemas de reparação e chaperonas, alterações da expressão de genes e do metabolismo são respostas das plantas a esses estresses (LAVANIA et al., 2016).

As proteínas *HSPs* são classificadas em seis famílias, *HSP100*, *HSP90*, *HSP70*, chaperoninas ou *HSP60*, *HSP40* ou *DNAJ* e *HSPs* de baixo peso molecular (12-40 KDa) nomeadas small *HSPs* (*sHSPs*) (USMAN et al., 2014). A transcrição da maioria dos genes codificadores de *HSPs* é regulada por fatores de transcrição de choque de calor (*Heat shock factors - HSFs*), localizados no citoplasma (HU et al., 2009; ZHANG et al., 2015). *HSFs* são componentes finais da rota de transdução de sinais que media a ativação de genes de resposta ao calor e a grande número de estressores químicos (NAKAI, 1999). Estudos demonstram que a superexpressão de *HSFs* em plantas resultou em aumento da tolerância a calor, sal, estresse osmótico, déficit hídrico e frio (CHANDEL et al., 2013; JIN et al., 2013; LIU et al., 2013; ZHANG et al., 2015). A coexpressão de *HSFs* em resposta a diferentes estresses abióticos indica que estes fatores de transcrição podem regular múltiplos mecanismos. Desta forma, os *HSFs* são considerados uma família gênica importante, e seu potencial de resposta a diferentes estresses podem ser utilizados na obtenção de plantas tolerantes a estresses ambientais (CHANDEL et al., 2013).

A análise de expressão gênica é importante ferramenta para o entender muitos aspectos da biologia das plantas (MARTIN et al., 2008). A qPCR é técnica com alta sensibilidade, muito utilizada atualmente, para analisar a expressão gênica

e melhorar o entendimento dos caminhos de sinalização, desenvolvimento e metabolismo (PAOLACCI et al., 2009). As proteínas do choque térmico (*HSP*) são classificadas em famílias de acordo com seus pesos moleculares mensurados em quilodaltons (USMAN et al., 2014). Quanto aos padrões de expressão e indução, as *HSPs* podem ser definidas como constitutivas ou indutíveis. As proteínas expressas constitutivamente, ou seja, sob condições ambientais favoráveis, atuam como chaperonas ou proteases, exercendo inúmeras funções intracelulares. Chaperonas estão envolvidas na síntese, dobramento e transporte de proteínas, enquanto proteases atuam na degradação de proteínas danificadas (OHAMA et al., 2017). Em conjunto, minimizam a probabilidade de interações proteicas inapropriadas, capazes de resultar em alterações deletérias em determinados organismos (HASLBECK; VIERLING, 2015). Em contraste, *HSPs* indutíveis são largamente sintetizadas sob condições estressantes, como resposta que visa minimizar ou reparar danos celulares, garantindo a sobrevivência da célula ou organismo, e/ou induzir tolerância a estresses subsequentes, tais como alta temperatura (LI et al., 2014) e déficit hídrico (ANEJA et al., 2015).

Durante os estágios iniciais de estresse abiótico, *HSFs* são as primeiras moléculas responsivas para a sinalização do estresse celular para o aparato transcricional e a ativação da expressão de genes *HSPs* (LIU et al., 2010). Tal fator está presente no citoplasma da célula normal e não estressada, como um monômero inativo, devido à sua ligação às *HSPs* expressas constitutivamente (GUO et al., 2016). Em resposta ao estresse metabólico, as *HSFs* dissociam-se das chaperonas e são convertidas de monômero inativo para aparato ativo através da combinação dos seus domínios de oligomerização (LI et al., 2014). A família de genes *HSF* foram identificados, primeiramente, em tomates (SCHARF et al., 1990). De fato, eles já foram caracterizados em muitas espécies, como: *arabidopsis*, arroz, milho e tomate com o número de 21, 25, 25 e 27 *HSF* genes identificados em cada espécie, respectivamente (NOVER et al., 2001; GUO et al., 2008; LIN et al., 2011; SCHARF et al., 2012).

Dada a importância das *HSPs* para a termotolerância, muitas vezes se supõe que os organismos de habitats mais suscetíveis à estresses devem acumular níveis maiores de *HSPs* (BARUA et al., 2003; LAVANIA et al., 2016). Por outro lado, outros estudos demonstram que a expressão de *HSPs* pode ser negativamente

correlacionada com o nível de estresse do habitat (ZATSEPINA et al., 2001; NAKANO; IWANA, 2002).

Em vista do exposto, o estudo teve o objetivo de avaliar a expressão gênica de *HSPs* e *HSFs* em cultivares de arroz e biótipos de arroz-daninho sob déficit hídrico e estresse por alta temperatura.

4.2 Material e Métodos

4.2.1 Material Vegetal

O experimento foi conduzido em câmaras de crescimento no “Alzheimer Lab - Department of Crop, Soil, and Environmental Sciences (CSES) of University of Arkansas, Estados Unidos (Fayetteville, Arkansas)”, no ano 2016/17. Utilizaram-se duas cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) e cinco biótipos de arroz-daninho provenientes de diferentes regiões do Brasil (Tabela 5). Os biótipos de arroz-daninho eram oriundos de cinco estados brasileiros, Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC), Rio Grande do Norte (RN), Paraíba (PB) e Roraima (RR) (Figura 15). As cultivares comerciais utilizadas foram: IRGA 424 e SCS119 Rubi. Os biótipos de arroz-daninho foram coletados na safra 2012/2013 em lavouras comerciais de arroz e multiplicados por 3 gerações (1º ano - Arroio Grande/RS, 2º ano – Capão do Leão/RS, 3º ano – Fayetteville/AR-Estados Unidos) para uniformização das populações através da retirada de plantas atípicas e aumento do volume de sementes.

Tabela 5- Descrição da localização das cultivares arroz e biótipos de arroz-daninho utilizados no estudo da expressão de *HSPs* e *HSFs*. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Cultivar / Biótipo	Cidade / Estado	Região	Coordenadas GPS	
			Latitude	Longitude
IRGA 424	Pelotas - RS	Zona Sul	31° 46' 19" S	52° 20' 33" W
SCS119 Rubi	Itajaí – SC	Médio Vale do Itajaí	26° 54' 28" S	48° 39' 43" W
15-85	Gaspar – SC	Médio Vale do Itajaí	26° 54' 41" S	48° 50' 60" W
15-189	Dom Pedrito – RS	Campanha	31° 02' 07" S	54° 52' 02" W
15-255	São José do Rio do Peixe – PB	Vale do Rio do Peixe	6° 44' 11" S	38° 26' 39" W
15-261	Apodi – RN	Vale do Rio Apodi	5° 44' 55" S	37° 46' 27" W
15-262	Bonfim – RR	Várzea do Rio Branco	3° 19' 56" N	59° 54' 18" W

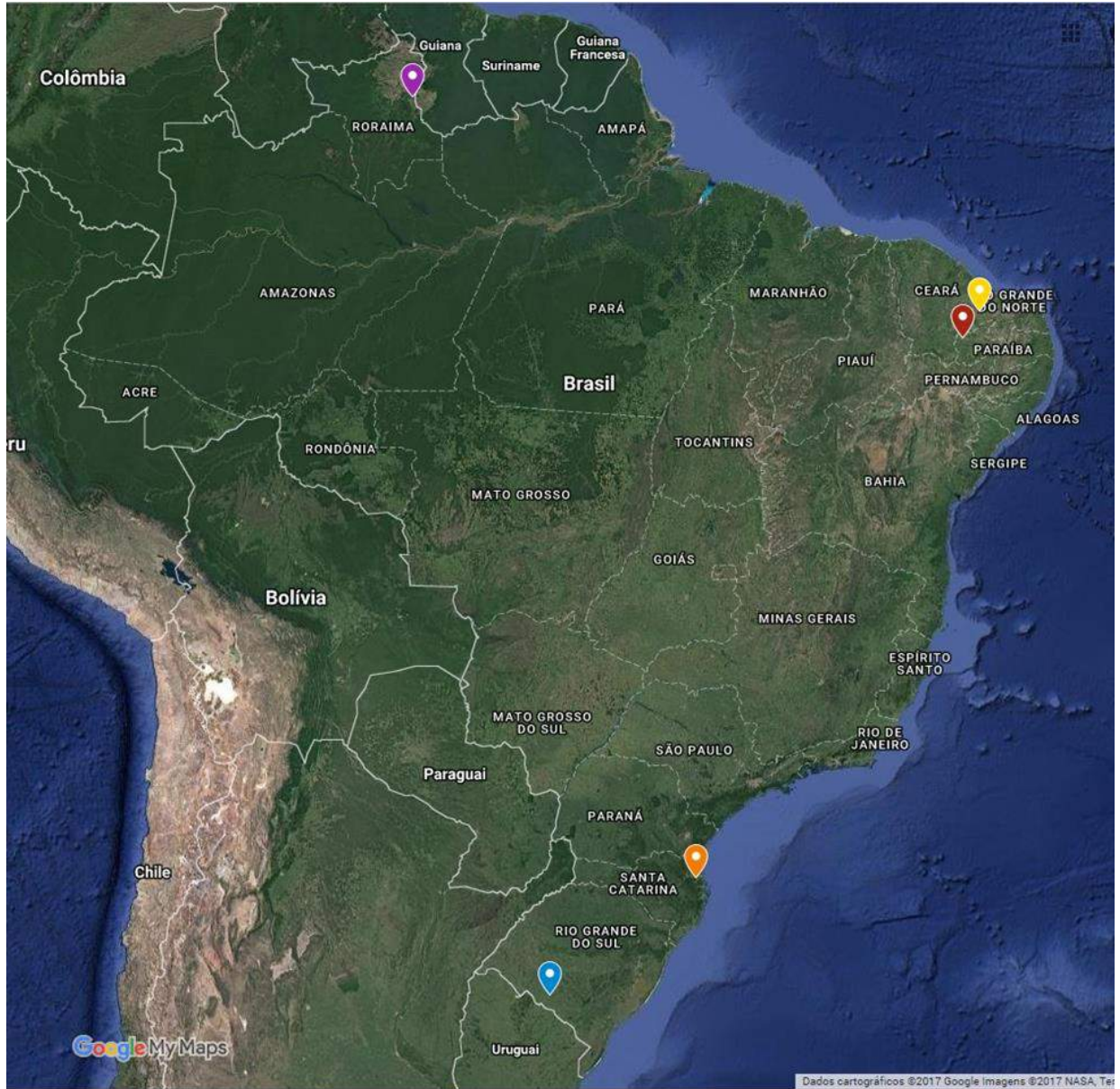


Figura 15 - Distribuição dos locais onde os biótipos de arroz-daninho utilizados no estudo de expressão de *HSPs* e *HSFs* foram coletados. Em azul, Dom Pedrito-RS; laranja, Gaspar-SC; vermelho, São José do Rio do Peixe-PB; amarelo, Apodi-RN; e roxo, Bonfim-RR. Fonte: Google Maps, 2017.

O solo utilizado foi classificado como Captina silt-loam, com as seguintes características: areia = 30,5%; silte = 55,5%; argila = 14%, $\text{pH}_{\text{água}} = 7,3$; matéria orgânica = 2,41%, $\text{NO}_3 = 32,4 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{NH}_4 = 16,8 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{P} = 86 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{K} = 41 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Ca} = 827 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Mg} = 827 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{S} = 10 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Na} = 22 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Fe} = 671 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Mn} = 168 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Zn} = 3,6 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Cu} = 0,6 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{B} = 0,2 \text{ mg kg}^{-1}$. As unidades experimentais consistiram em potes de 1 L preenchidos com solo, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado, com 3 repetições. Foram

semeados cinco sementes de arroz em cada pote, e após o estabelecimento das plântulas foi realizado o desbaste e deixada uma plântula por pote.

4.2.2 Metodologia do experimento com estresse hídrico e térmico

O estudo foi dividido em dois experimentos, o primeiro para avaliar o estresse por déficit hídrico (experimento 1) e o segundo para avaliar o efeito de estresse por alta temperatura (experimento 2), ambos durante o período vegetativo, com plantas de arroz e de arroz-daninho.

Para o experimento 1, inicialmente foi realizado um experimento preliminar para determinação da Umidade do Solo. O método utilizado foi o gravimétrico direto, com o uso de amostras de solo para determinação do peso úmido (após solo ser saturado com água) e de peso seco (após o período de 48 horas em estufa com temperatura entre 105-110°C) (BERNARDO et al., 2006).

O fotoperíodo utilizado foi de 14/10hrs (dia/noite) e a temperatura foi de 25/30°C, sendo que a temperatura noturna de 25°C foi programada para aumentar gradualmente até 30°C no período compreendido, entre o início da manhã até ao meio-dia. Após duas horas, na temperatura de 30°C, a programação diminuiu a temperatura, gradativamente, até chegar aos 25°C à noite.

Trinta dias após a germinação (estádio V₃-V₄) (SOSBAI, 2016), as plantas foram submetidas ao estresse por déficit hídrico por supressão da irrigação até a umidade do solo cair ao nível de 50% da capacidade de campo (CC). O estresse foi mantido por dez dias. Durante o período de estresse hídrico, os potes foram pesados diariamente, no mesmo horário, e a água perdida foi reestabelecida para manter a CC requerida (Figura 16) (RAMEGOWDA et al., 2014). As plantas controle, não foram submetidas a estresse hídrico, foram mantidas em lâmina de água (100% CC).

As plantas submetidas ao estresse por alta temperatura (experimento 2), foram conduzidas até o momento da aplicação do estresse, nas mesmas condições que as plantas controle. No mesmo dia em que o grupo de plantas sob estresse hídrico completaram dez dias de estresse, o grupo de plantas para serem submetidas ao estresse por alta temperatura, foram colocadas sob temperatura de 42°C por duas horas (LAVANIA et al., 2016). O delineamento experimental foi completamente casualizado com três repetições.

Para a determinação das respostas fisiológicas foram mensurados os parâmetros fotossintéticos logo após as plantas serem submetidas aos estresses, com o auxílio do medidor portátil de fotossíntese LI-COR 6400XT na concentração de 370 $\mu\text{mol.mol}^{-1}$ de CO_2 , intensidade de luz de 1.000 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, e umidade relativa entre 55 e 60% (DE FREITAS et al., 2016). Os parâmetros observados foram: taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs) e taxa de transpiração (E). Dentre os métodos que já estão sendo testados e, ou, utilizados para auxiliar a análise do tecido de plantas, especialmente para Nitrogênio, destaca-se o medidor portátil de clorofila (clorofilômetro). Os comprimentos de onda escolhidos para medição do teor de clorofila situam-se na faixa do vermelho, em que a absorbância é alta e não é afetada pelos carotenoides, e do infravermelho, em que a absorbância é extremamente baixa. A luz transmitida, que depende do tom verde da folha, é convertida em sinais elétricos e a razão das intensidades da luz transmitida nas duas regiões de comprimentos de ondas corresponde a um valor numérico, chamado de leitura SPAD (Soil Plant Analysis Development) (POCOJESKI et al., 2015). O clorofilômetro portátil SPAD-502 (Minolta, Japão) foi utilizado na avaliação do teor de clorofila, no terço central da folha bandeira, em três replicatas em cada planta.

Após as avaliações fisiológicas as plantas foram transferidas para a casa-de-vegetação, onde a temperatura variou entre 28 e 30°C, para determinação da produtividade. O manejo de irrigação utilizado foi por inundação permanente até a maturação das plantas. Os demais tratamentos culturais foram baseados nas recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil (SOSBAI, 2016). A estatura das plantas de arroz e arroz-daninho foi avaliada 10 dias após a aplicação dos estresses por alta temperatura e por déficit hídrico. Já, o número de filhotes foi avaliado quando as plantas atingiram o estágio reprodutivo. As duas cultivares de arroz e os cinco biótipos de arroz-daninho foram considerados o fator biótipo. Os estresses abióticos foram considerados o fator estresse, em cada experimento distinto.

Os dados foram submetidos a análise de variância. Em caso de significância entre os tratamentos foi realizado o teste de Tukey ou teste t, a 5% de probabilidade para separar as médias. A análise estatística foi conduzida utilizando o programa R Studio, versão 1.0.143.

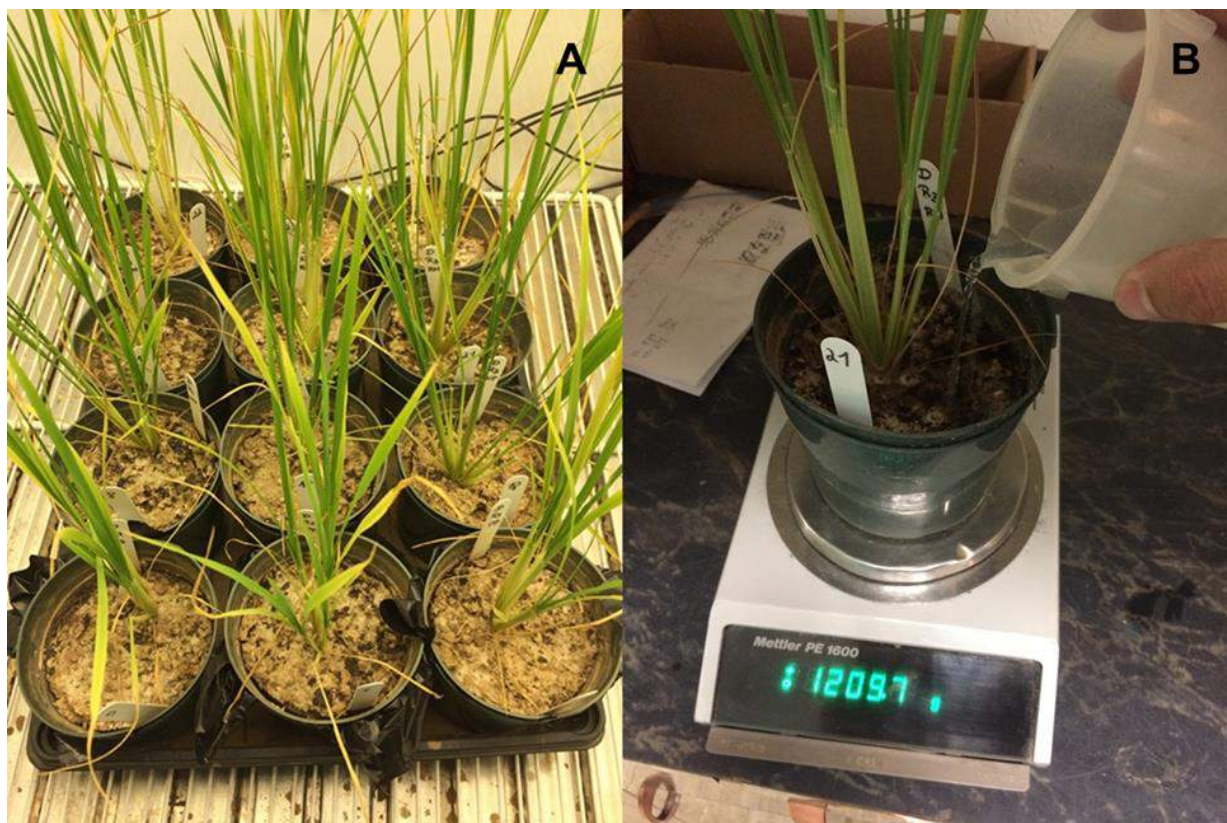


Figura 16 - Experimento de déficit hídrico. A) Plantas de arroz e arroz-daninho sob estresse hídrico; B) Reposição diária da água para 50% da capacidade de campo. UARK, Fayetteville, AR, 2016.

4.2.3 Análise de expressão gênica

Os primers selecionados foram baseados em publicações sobre as *HSPs* e *HSFs* em arroz e arroz-daninho sob estresses abióticos (Tabela 6). Para a avaliação dos primers, o DNA genômico foi extraído e realizada reação normal de PCR (Reação em Cadeia da Polimerase). Para a realização da expressão gênica o montante de RNA foi extraído usando o TRIzol Reagent® (Invitrogen™). Primeiramente, o tecido vegetal foi macerado em nitrogênio líquido no moinho vibratório (Retsch™, modelo MM 400) usando eppendorf autoclavados. Além das replicatas biológicas, todos os passos a seguir foram feitos em triplicata (replicata técnica). Então, 500 μL de Trizol foi adicionado em cada amostra e incubada por 5 minutos em temperatura ambiente. Foi colocado 200 μL de clorofórmio e agitado os tubos por 30 segundos, seguido de incubação por 3 minutos em temperatura ambiente. Após esse período, as amostras foram transferidas para centrifuga a 12.000 rpm por 15 minutos a 4°C. O sobrenadante (fase clara, \pm 500 μL) foi transferido para novo eppendorf e 500 μL de álcool isopropanol gelado foi

adicionado e agitado por inversão por 10 vezes, seguido de incubação a temperatura ambiente por 10 minutos. Na próxima etapa, as amostras foram centrifugadas a 12.000rpm, por 10 minutos a 4°C, o sobrenadante foi descartado e o pellet foi ressuscitado com 1000 µL de etanol 75% seguido de leve centrifugação no vortex, após os eppendorfs foram deixados com a tampa aberta, em local limpo, sem vento para que o álcool evaporasse. Após a evaporação do álcool o pellet é ressuscitado com 35 µL água DEPC autoclavada. O montante de RNA extraído foi quantificado utilizando Nanodrop™ e as amostras foram tratadas com DNase (Desoxyribonuclease I Amplificon Grade® - Invitrogen™) e armazenadas no ultra-freezer (-70°C).

Tabela 6 - Genes expressos em arroz e arroz-daninho sob estresses abióticos. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

Gene	Família	Referência	Sequência dos Primers*
<i>OsHSP80.2</i>	<i>HSP90</i>	ZOU et al. (2009)	F: CGACGACGAGCAGTATGT R: CCAGATGTTCTCCAGT
<i>OsHSP74.8</i>	<i>HSP90</i>	QIN et al. (2015)	F: CGAGCAGTTCGAGTACCAGG R: TCAGCCATAGCTTCCCATAC
<i>OsHSP24.15</i>	<i>sHSP</i>	SHUIFENG et al. (2012)	F: GATCAAGGCGGAGATGAAGAAC R: ACTCGACGTTGACCTGGAAGA
<i>OsHsfA7</i>	<i>HSF</i>	LIU et al. (2013)	F: TTCGCCAGCTCAACACCTA R: TCCATCAGCCGTTGTCTT
<i>OsHsfA2a</i>	<i>HSF</i>	LIU et al. (2010)	F: TTCGTAGGGTGACGTAATCG R: TCGAAGCCACCGTCCTAG
<i>UBC-E2</i>		BENEMANN et al. (2017)	F: CCGTTTGTAGAGCCATAATTGCA R: AGGTTGCCTGAGTCACAGTTAAGTG
<i>UBQ5</i>		BENEMANN et al. (2017)	F: ACCACTTCGACCGCCACTACT R: ACGCCTAAGCCTGCTGGTT

* F: Senso (Forward); R: Antisenso (Reverse)

A síntese de DNA complementar (cDNA) foi realizada utilizando Reverse Transcription System® (Promega™) com 2 µg de RNA tratado com DNase. Cada reação consistiu nas seguintes etapas: 4 µL de 25 mM MgCl₂; 2 µL de dNTP 10 mM; 2 µL de Reverse Transcription 10X Buffer; 1,0 µL de Oligo (dT) primer; 0,5 µL de Reverse Transcriptase; 0,5 µL RNAsin e água até completar 20 µL. As reações de PCR em tempo-real (qPCR) foram realizadas utilizando o BioRad CFX96™ Real Time PCR Detection Systems, seguindo as seguintes configurações: 95°C por 2 minutos; 95°C por 15 minutos; 58°C por 1 minuto; 95°C por 15 minutos 39 vezes. O experimento de qPCR foi conduzido utilizando iQ™ SYBR® Green Supermix (BioRad™), com primers específicos e Ubiquitina como parâmetro endógeno (Tabela

6). As curvas de dissociação (melting curves) foram analisadas com o aumento de temperatura (0,5°C a cada 10 segundos) de 55°C para 95°C, com controle negativo. A expressão relativa de genes foi calculada utilizando o método delta-delta Ct, através da equação $2^{-\Delta\Delta Ct}$ (BEVILACQUA et al., 2015; DE FREITAS et al., 2016; BENEMANN et al., 2017). O procedimento de cálculo é através do valor Ct (Cycle threshold) do gene endógeno com o valor Ct do gene alvo.

4.3 Resultados e Discussão

4.3.1 Parâmetros morfológicos e fisiológicos

4.3.1.1 Alta Temperatura

A análise de variância demonstrou interação entre os fatores biótipo e estresse quando as plantas de arroz e arroz-daninho foram submetidas ao estresse por alta temperatura (Tabela 7) para as variáveis: número de afilhos e estatura. Já, para as variáveis: taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs), Transpiração (E) e Produtividade a análise demonstrou diferença entre as médias para os fatores biótipo e estresse. Para a variável SPAD (que consistiu na avaliação das plantas com clorofilômetro), houve diferença de médias apenas para o fator biótipo.

Tabela 7 - Resumo da análise de variância do arroz e arroz-daninho sob estresse de alta temperatura. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Variável (GL)	Quadrados Médios						
	Afilhos	Estatura	SPAD	A	Gs	E	Produtividade
Estresse (1)	6,09	185,2**	2,9	54,2**	0,14**	30,7**	4,87**
Biótipo (6)	67,8**	726,4**	11,9**	41,0**	0,01**	1,6**	4,37**
E x B (6)	7,6**	27,0**	1,2	2,4	0,00	0,2	0,39
Resíduo (28)	2,9	17,8	2,8	3,2	0,00	0,2	0,09
Média	13,3	51,4	41,2	23,1	0,15	2,5	7,60
C.V.(%)	12,7	8,2	4,1	7,7	23,0	18,9	5,4

** - significativo a 1% pelo teste F. A – taxa fotossintética; Gs – condutância estomática; E – taxa de transpiração.

A estatura das plantas (Tabela 8) foi afetada pelo estresse de alta temperatura nas cultivares de arroz cultivado (IRGA 424 e SCS119 Rubi) e nos biótipos de arroz-daninho oriundos de RR e SC. Com relação a estatura das plantas, quando comparadas entre os diferentes biótipos, foi observado que em condições normais de crescimento, as plantas de RR apresentaram maior estatura média, com

76,7 cm, e o biótipo da PB a menor, com 43,7 cm aos 42 dias após a emergência. Já quando as plantas são submetidas ao estresse de alta temperatura, a cultivar IRGA 424 foi a mais afetada negativamente, com estatura média de 37,3 cm.

Quando foi avaliado o efeito do estresse por alta temperatura na variável número de afilhos (Tabela 8), observou-se que apenas o biótipo de arroz-daninho do RS foi afetado negativamente, com uma redução de 30% no número de afilhos. A variável número de panículas por m², que é um dos principais componentes do rendimento do arroz é dependente do número de afilhos.

Tabela 8 - Médias da estatura e número de afilhos em arroz e arroz-daninho submetidos a estresse por alta temperatura e por déficit hídrico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

	Estatura (cm)					Afilhos (n°)						
	Controle		Alta Temperatura		Déficit Hídrico	Controle		Alta Temperatura		Déficit Hídrico		
IRGA	44,7	Abc	37,3	Be ¹	33,3	Bc	18,0	Aa	15,7	Aa	19,2	a ²
PB	43,7	Ac	47,0	Adc	39,7	Abc	13,0	Abc	14,3	Aab	14,3	bc
RN	58,0	Abc	57,0	Ab	42,7	Bb	9,0	Ac	9,0	Ac	10,7	dc
RR	76,7	Aa	67,7	Ba	54,7	Ba	8,0	Ad	10,0	Abc	8,7	d
RS	58,3	Ab	51,3	Abc	55,7	Aa	15,3	Aab	10,7	Bbc	15,2	b
RUBI	45,0	Abc	41,3	Bde	37,8	Bbc	18,0	Aa	17,0	Aa	16,8	ab
SC	48,0	Abc	43,3	Bcde	40,9	Bbc	14,3	Aab	13,7	Aabc	14,0	bc

¹ Médias seguidas de letras maiúsculas (estresse) diferentes diferem pelo teste t (p<0,05) e letras minúsculas (biótipo) diferentes diferem pelo teste de Tukey (p<0,05). ² não houve interação entre estresse de déficit hídrico com os biótipos de arroz, houve apenas diferença entre as médias dos biótipos pelo teste de Tukey (p<0,05).

Os parâmetros fotossintéticos, taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs) e taxa de transpiração (E), e a avaliação com o clorofilômetro (SPAD) para o estresse de alta temperatura (Tabela 9) demonstraram que a taxa fotossintética foi afetada positivamente. Por outro lado, condutância estomática e transpiração foram afetados negativamente. O biótipo de RR apresentou maior taxa fotossintética condutância estomática e transpiração (juntamente com o biótipo da PB). Para a variável SPAD o biótipo de RN e a cultivar SCS119 Rubi apresentaram os maiores valores.

A avaliação da produtividade média das cultivares de arroz e de biótipos de arroz-daninho sob estresse de alta temperatura (Figura 17) demonstra que houve efeito significativo da alta temperatura no estágio vegetativo sobre a produtividade, quando comparado as plantas controle com as plantas submetidas à estresse. Já,

para avaliação das cultivares e os diferentes biótipos de arroz-daninho não houve efeito significativo do estresse sobre a produtividade de cada planta.

Tabela 9 - Médias da taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs), Transpiração (E) e medidas com clorofilômetro (SPAD) em arroz e arroz-daninho submetidos a estresse de alta temperatura. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		Gs ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)		SPAD	
IRGA	19,6	d ¹	0,12	bc	2,00	bc	40,8	ab
PB	23,7	bc	0,17	ab	3,05	a	41,1	ab
RN	25,5	ab	0,16	abc	2,83	ab	43,0	a
RR	27,3	a	0,19	a	3,10	a	39,3	b
RS	21,3	cd	0,14	abc	2,29	abc	41,4	ab
RUBI	22,2	cd	0,10	c	1,76	c	43,0	a
SC	22,2	cd	0,14	abc	2,34	abc	40,0	ab
Controle	22,0	* ²	0,20	*	3,33	*	41,5	ns ³
Alta Temperatura	24,2		0,09		1,63		41,0	

¹ Médias seguidas de letras minúsculas (biótipos) diferentes diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

² Médias seguidas de * diferem pelo teste t ($p < 0,05$).

³ ns – não significativo pelo teste t ($p < 0,05$).

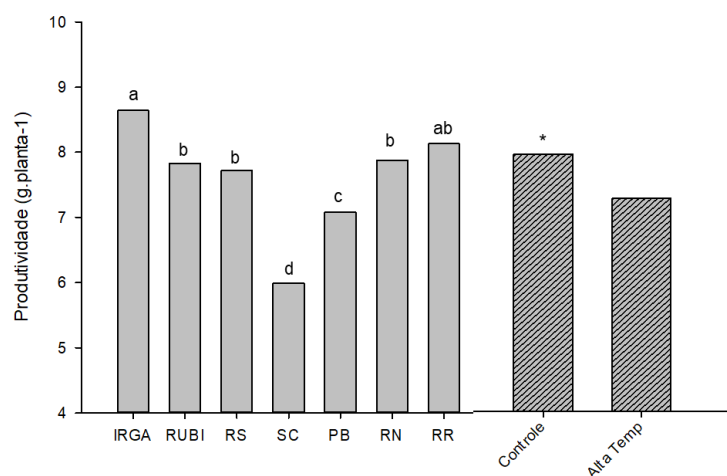


Figura 17- Produtividade média em arroz e arroz-daninho sob estresse de alta temperatura. Barras cinzas – efeito principal de biótipos (Tukey, $p < 0,05$); Barras listradas – efeito principal do estresse (Teste t, $p < 0,05$). UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

4.3.1.2 Déficit hídrico

A análise de variância das plantas que foram submetidas ao estresse por déficit hídrico e as plantas controle (Tabela 10) demonstrou interação entre o fator biótipo e o estresse abiótico para as variáveis: estatura, taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs) e Transpiração (E). Para a variável SPAD houve diferença entre as médias para os fatores biótipo e estresse. Já, para as variáveis afilhos e produtividade, houve diferença de médias para o fator biótipo.

Tabela 10 - Resumo da análise de variância do arroz e arroz-daninho sob estresse de déficit hídrico. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Variável (GL)	Quadrados Médios						
	Afilhos	Estatura	SPAD	A	Gs	E	Produtividade
Estresse (1)	8,6	1037,0**	131,4**	878,9**	0,08**	28,3**	0,027
Biótipo (6)	75,7**	573,7**	12,5**	90,3**	0,00**	0,8**	4,85**
E x B (6)	6,4	70,1**	5,2	23,5**	0,00**	1,0**	0,01
Resíduo (28)	4,1	18,6	3,0	2,75	0,00	0,3	0,67
Média	14,1	48,5	39,7	17,4	0,16	2,5	7,93
C.V.(%)	14,4	8,9	4,4	9,5	24,3	21,4	6,2

** - significativo a 1% pelo teste F. A – taxa fotossintética; Gs – condutância estomática; E – taxa de transpiração.

Com relação a estatura das plantas (Tabela 11), quando comparadas entre os diferentes biótipos, foi observado que em condições normais de crescimento, as plantas de RR apresentaram maior estatura média, com 76,7 cm, e o biótipo da PB a menor, com 43,7 cm aos 42 dias após a emergência. Já quando as plantas são submetidas ao estresse de déficit hídrico, a cultivar IRGA 424 foi a mais afetada negativamente, com estatura média de 33,3 cm. Para o estresse de déficit hídrico sob a afilhos (Tabela 11), não houve interação com as plantas controle, apenas diferenças entre as médias dentro das diferentes plantas, com a cultivar IRGA 424 apresentando 19,2 afilhos e o biótipo de arroz-daninho de RR com 8,7 afilhos, sendo o maior e menor valores, respectivamente.

No estresse de déficit hídrico, os parâmetros fotossintéticos, taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs) e taxa de transpiração (E) (Tabela 12) apresentaram interação significativa entre os fatores estudados. Para a variável taxa fotossintética, todos os biótipos, com exceção do oriundo do RN, apresentaram valores afetados negativamente. A cultivar SCS119 Rubi apresentou redução de 65,2%, seguido da cultivar IRGA 424 com redução de 59,2%. Para a variável condutância estomática, todas as plantas apresentaram redução sob estresse de

déficit hídrico, assim como para a variável transpiração, com exceção do biótipo do RS, que manteve a transpiração alta. O biótipo de RR foi o que apresentou menor valor de condutância estomática e de transpiração comparados as plantas controle, com reduções de 77,2 e 71,4%, respectivamente.

Tabela 11 - Médias da estatura e número de afilhos em arroz e arroz-daninho submetidos a estresse por alta temperatura e por déficit hídrico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

	Estatura (cm)						Afilhos (n°)					
	Controle		Alta Temperatura		Déficit Hídrico		Controle		Alta Temperatura		Déficit Hídrico	
IRGA	44,7	Abc	37,3	Be ¹	33,3	Bc	18,0	Aa	15,7	Aa	19,2	a ²
PB	43,7	Ac	47,0	Adc	39,7	Abc	13,0	Abc	14,3	Aab	14,3	bc
RN	58,0	Abc	57,0	Ab	42,7	Bb	9,0	Acd	9,0	Ac	10,7	dc
RR	76,7	Aa	67,7	Ba	54,7	Ba	8,0	Ad	10,0	Abc	8,7	d
RS	58,3	Ab	51,3	Abc	55,7	Aa	15,3	Aab	10,7	Bbc	15,2	b
RUBI	45,0	Abc	41,3	Bde	37,8	Bbc	18,0	Aa	17,0	Aa	16,8	ab
SC	48,0	Abc	43,3	Bcde	40,9	Bbc	14,3	Aab	13,7	Aabc	14,0	bc

¹ Médias seguidas de letras maiúsculas (estresse) diferentes diferem pelo teste t ($p < 0,05$) e letras minúsculas (biótipo) diferentes diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). ² não houve interação entre estresse de déficit hídrico com os biótipos de arroz, houve apenas diferença entre as médias dos biótipos pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Tabela 12 - Médias da taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs) e Transpiração (E) em arroz e arroz-daninho submetidos a estresse de déficit hídrico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

	A ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				Gs ($\text{mol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)				E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)			
	Controle		Déficit Hídrico		Controle		Déficit Hídrico		Controle		Déficit Hídrico	
IRGA	18,9	Ac ¹	7,7	Bde	0,19	Aa	0,11	Bab	3,06	Aa	1,43	Bb
PB	22,7	Aabc	8,5	Bde	0,24	Aa	0,12	Bab	3,94	Aa	1,72	Bab
RN	24,2	Aab	20,8	Aa	0,22	Aa	0,11	Bab	3,65	Aa	1,73	Bab
RR	26,6	Aa	18,4	Bab	0,22	Aa	0,05	Bb	3,57	Aa	1,02	Bb
RS	20,7	Abc	15,4	Bbc	0,22	Aa	0,19	Ba	3,15	Aa	2,99	Aa
RUBI	19,8	Abc	6,9	Be	0,16	Aa	0,11	Bab	2,58	Aa	1,54	Bb
SC	20,9	Abc	12,0	Bcd	0,21	Aa	0,10	Bab	3,40	Aa	1,40	Bb

¹ Médias seguidas de letras maiúsculas (estresse) diferentes diferem pelo teste t ($p < 0,05$) e letras minúsculas (biótipo) diferentes diferem pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

As plantas desenvolveram, ao longo do período evolutivo, diferentes estratégias naturais para tolerar ou evitar condições de déficit hídrico (TAIZ; ZEIGER, 2013). Estas alterações incluem, entre outras, fechamento estomático, repressão do crescimento celular e da fotossíntese, e o aumento da respiração (SHINOZAKI; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, 2007). Uma das respostas iniciais contra o déficit hídrico é a diminuição da condutância estomática, que reduz a evaporação

através das folhas, diminuindo a perda de água e limita a difusão de CO₂ para os cloroplastos (SIRICHANDRA et al., 2009). O fechamento estomático, o qual durante o déficit hídrico acontece em resposta ao aumento das concentrações de ácido abscísico (ABA) (LIMA et al., 2002). Mecanismos morfológicos de adaptação incluem o desenvolvimento de tricomas e pelos radiculares, redução da área foliar e abscisão foliar induzida em grande parte pela síntese de etileno, o que, segundo Isoda & Wang (2002), permite diminuir a transpiração, além da alteração da orientação das folhas, o que diminui o ângulo de incidência dos raios solares (TAIZ; ZEIGER, 2013). Outra adaptação de defesa ao déficit hídrico é a produção de cutícula espessa, que também atua na redução da transpiração cuticular (KOSMA et al., 2009).

A fotossíntese pode sofrer limitação por processos de ordem difusiva ou bioquímica. A primeira refere-se às resistências estomáticas e mesofílicas que o CO₂ encontra à sua difusão, desde a atmosfera até os sítios de carboxilação nos cloroplastos; e a segunda à fixação de CO₂, pela Rubisco (FLEXAS et al., 2008; 2016). Além disso, uma vez que a fotossíntese envolve determinada série de componentes, como pigmentos fotossintéticos, fotossistemas, cadeia de transporte de elétrons e reações de redução do CO₂, qualquer tipo de dano gerado por um fator estressante pode restringir a capacidade fotossintética da planta (ASHRAF; HARRIS, 2013).

Para as medidas do clorofilômetro sob estresse de déficit hídrico (Figura 18) as plantas que estavam sob estresse hídrico apresentaram menores valores em comparação as plantas controle. Os biótipos do RS, SC e RR apresentaram os menores índices. Condições de estresses abióticos podem induzir a acumulação de espécies reativas de oxigênio (ROS), incluindo H₂O₂ que tem função na sinalização em transdução de moléculas, mas pode também, causar dano celular e inibição na fotossíntese (ZANDALINAS et al., 2017). Para prevenir o dano causado por ROS, o maquinário antioxidante da planta é ativado (BAXTER et al., 2014). As enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), peroxidase (POX), catalase (CAT), ascorbato-peroxidase (APX), glutathione redutase (GR) e glutathione-S-transferase (GST) são as principais moléculas que agem para prevenir o dano causado pelas ROS (ZHANG et al., 2010; MENGUER et al., 2017).

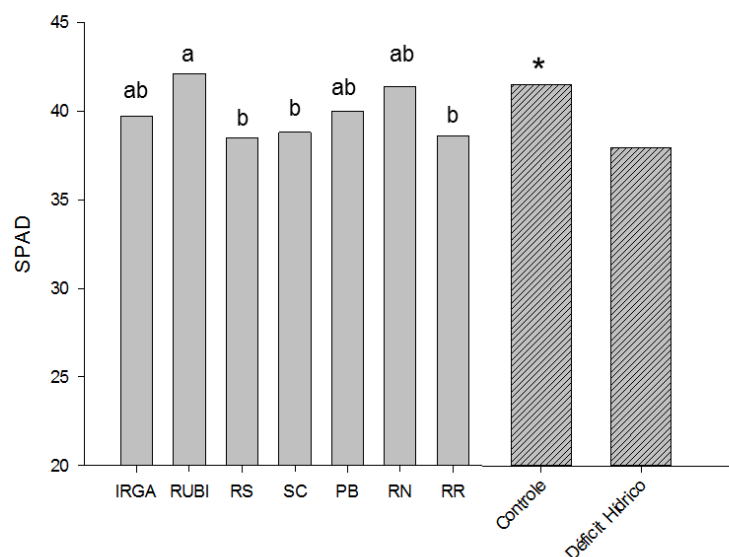


Figura 18 - Médias do clorofilômetro (SPAD) para arroz e arroz-daninho sob estresse hídrico. Barras cinzas – efeito principal de biótipos (Tukey, $p < 0,05$); Barras listradas – efeito principal do estresse (Teste t, $p < 0,05$). UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

A avaliação da produtividade média das cultivares de arroz e de biótipos de arroz-daninho sob estresse de déficit hídrico (Figura 19) demonstra que não houve efeito significativo do déficit hídrico no estágio vegetativo sobre a produtividade, quando comparado as plantas controle com as plantas submetidas à estresse.

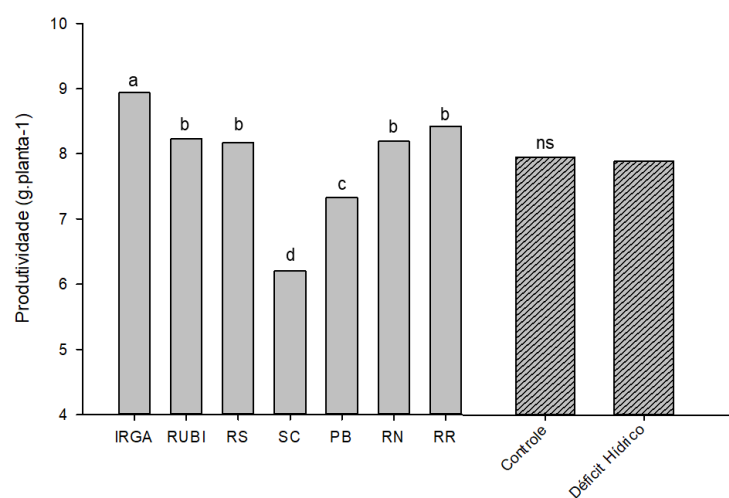


Figura 19 - Produtividade média em arroz e arroz-daninho sob estresse de déficit hídrico. Barras cinzas – efeito principal de biótipos (Tukey, $p < 0,05$); Barras listradas – efeito principal do estresse (Teste t, $p < 0,05$), ns = não significativo. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

4.3.2 Análise de expressão gênica

A análise de expressão gênica demonstrou superexpressão de *HSFA7* para as cultivares de arroz e para os biótipos de arroz-daninho quando as plantas foram submetidas a estresse de déficit hídrico. Também, ocorreu o aumento de expressão para a cultivar SCS119 Rubi e o biótipo de RR sob alta temperatura (Figura 20). Já, para o *HSFA2a* houve a superexpressão para todas as cultivares e biótipos de arroz-daninho quando as plantas foram submetidas ao estresse por alta temperatura, e o aumento da expressão sob estresse de déficit hídrico, principalmente, para os biótipos da PB e RR.

Liu et al. (2010) estudando 12 classes de genes *HSF* em arroz sob diferentes estresses abióticos (déficit hídrico, alta temperatura, estresse salino e frio) em diferentes períodos de avaliação (0; 15; 45min; 1,5; 3; 5; 8; 12 e 24h) concluíram que *HSFA2a* foi um dos genes mais responsivos (juntamente com *HSFA2c* e *HSFA2d*) em tempos iniciais do estresse, concluindo que esse gene está envolvido na resposta primária das plantas submetidas à diferentes tipos de estresse abiótico. No entanto, em tomate sob estresse por alta temperatura, houve maior expressão de *HSFA2* quando as plantas ficaram expostas ao estresse por maior período (PORT et al., 2004). Em contraste, o tomate possui apenas um gene *HSFA2*, enquanto, o arroz possui grupo com 5 diferentes genes *HSFA2*, indicando ter o sistema de regulação por choque térmico mais complexo (LIU et al., 2010). No mesmo estudo, Liu et al. (2010) concluíram que o gene *HSFA7* foi responsivo a todos os estresses abióticos relatados anteriormente mas as plantas levaram maior tempo, em minutos, para aumentar a expressão gênica. Em trabalho recente, Liu et al. (2013) concluíram que *HSFA7* aumenta a resistência ao déficit hídrico em arroz induzindo a expressão de *sHSP*.

Em outro estudo, Zhang et al. (2015) determinaram o número de genes para cada família de *HSP* em arroz, onde *sHSP*, *HSP60*, *HSP70*, *HSP90* e *HSP100* apresentam 29, 20, 26, 9 e 5 genes, respectivamente. A família *HSP90* é abundante, altamente conservada, e essencial para a viabilidade da célula. Proteínas *HSP90* contêm dois domínios altamente conservados, o domínio de ligação de ATP na região N-terminal, e região de ligação altamente rica em ácido glutâmico (KRISHNA; GLOOR, 2001). Estas proteínas são encontradas em diferentes compartimentos da célula, e são responsáveis pelo redobramento de proteínas desnaturadas e pelo

dobramento de proteínas recém sintetizadas. Além disso, atuam na regulação de várias moléculas de sinalização celular (WANG et al., 2015). Ao contrário das outras classes de *HSPs*, as *sHSPs* são incapazes de atuar no dobramento de proteínas não nativas de maneira individual, sendo necessário a formação de complexos com outras *HSPs* (HASLBECK; VIERLING, 2015). Todos os membros da família *sHSP* apresentam um domínio de 90 aminoácidos na região C-terminal, chamado de domínio α -*crystalin* ou domínio de choque por calor (SUN et al., 2002). A *sHSPs* específicas de cloroplastos demonstram papel protetor do fotossistema II durante o estresse por alta temperatura (HECKATHORN et al., 2002).

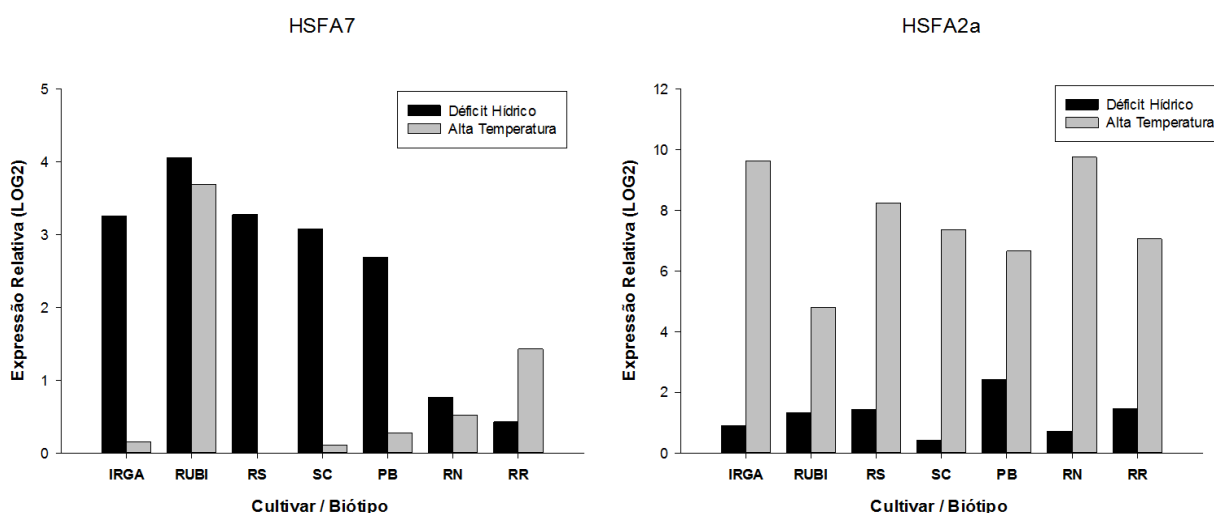


Figura 20 - Expressão relativa de *HSF* em arroz e arroz-daninho sob estresse abiótico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2017.

Quando avaliamos a expressão de *HSP* (Figura 21), sob o estresse de alta temperatura, a cultivar IRGA 424 apresenta o maior nível de expressão independente de qual *HSP* avaliada (*HSP24.15*, *HSP74.8* ou *HSP80.2*). Para as *HSP24.15*, podemos observar a maior expressão nas cultivares IRGA 424 e SCS119 Rubi, e também nos biótipos de SC e do RS, respectivamente. Para o déficit hídrico a maior expressão foram as *HSP74.8*, seguido de *HSP24.15* e por fim, *HSP80.2*.

A expressão da *sHSP24.15* em arroz sob estresse de alta temperatura foi de 48x superior quando plantas de arroz foram submetidas a estresse de 42°C por 3 horas (SHUIFENG et al., 2012). No mesmo sentido, os transcritos de *HSP80.2* e *HSP74.8* aumentaram rapidamente e mantiveram-se constantes durante estresse por alta temperatura em plantas de arroz, desde 5 min até 3 horas da aplicação do estresse (ZOU et al, 2009). O gene *HSP80.2* foi detectado em maior abundância em

raízes de arroz quando submetido a estresse por alta temperatura, sugerindo que esse gene tem função no crescimento radicular (ZOU et al., 2009).

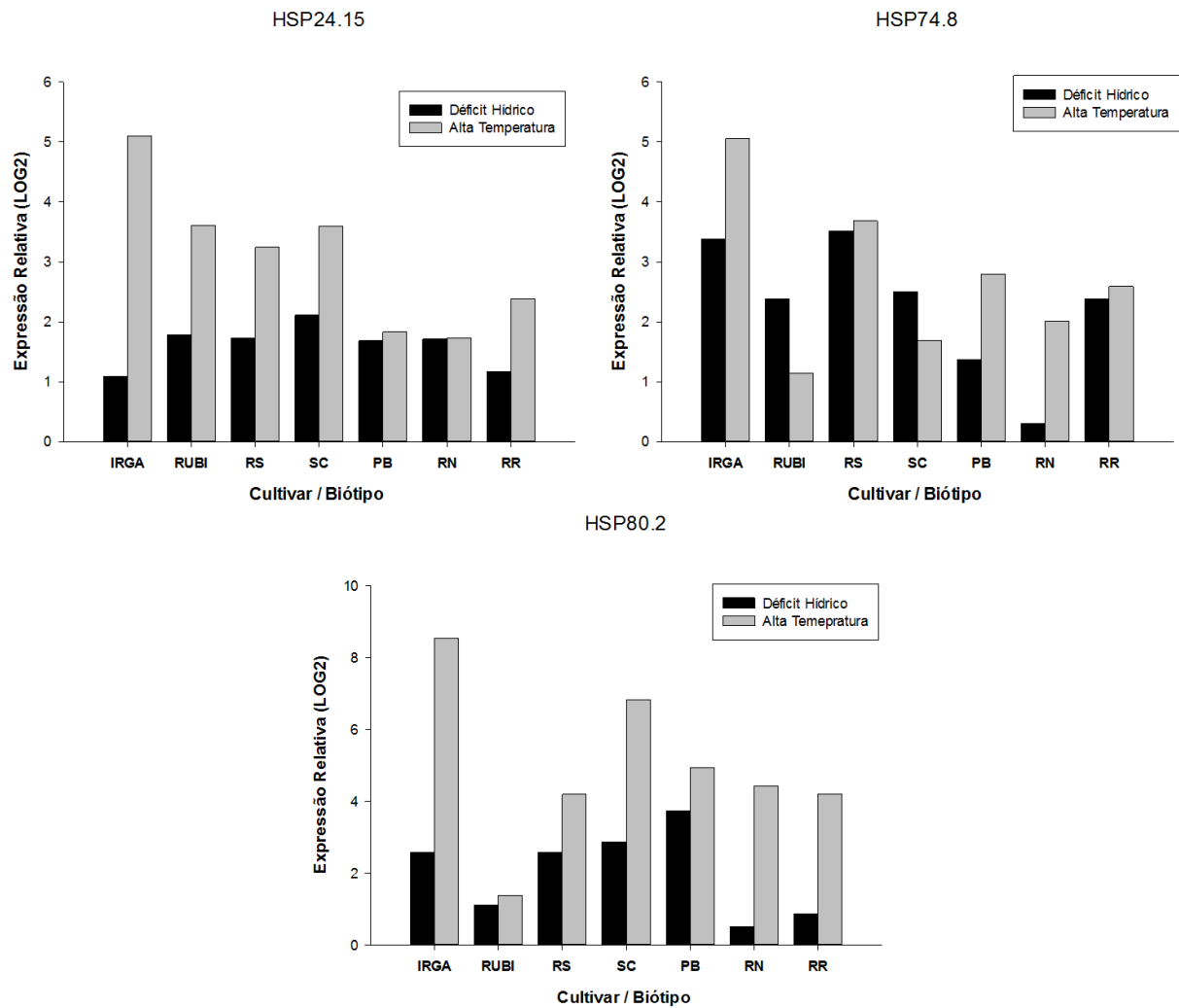


Figura 21 - Expressão Relativa de *HSP* em arroz e arroz-daninho sob estresse abiótico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2017.

Tanto os *HSA7* como as *HSP74.8* tem maior expressão, sob estresse de déficit hídrico, em plantas oriundas de altas latitudes. Podemos inferir que nessas regiões todo o ciclo da cultura é por inundação, onde o déficit hídrico dificilmente acontece, por isso, as plantas podem apresentar menor número de mecanismos de defesa contra esse estresse, aumentando a prioridade na expressão desses genes para responder rapidamente a falta de água. O gene *HSP74.8* foi altamente expresso em folhas e caules de arroz, em estudo realizado por Zou et al. (2009) indicando que esse gene tem papel na manutenção das funções foliares como respiração e fotossíntese.

A precipitação nas regiões onde foram coletadas as plantas de arroz-daninho (Figura 22) demonstram ciclo pluviométrico distintos, onde, no RS e SC as chuvas são distribuídas regularmente ao longo do ano. Já para PB, RN e RR as chuvas são concentradas em determinados períodos.

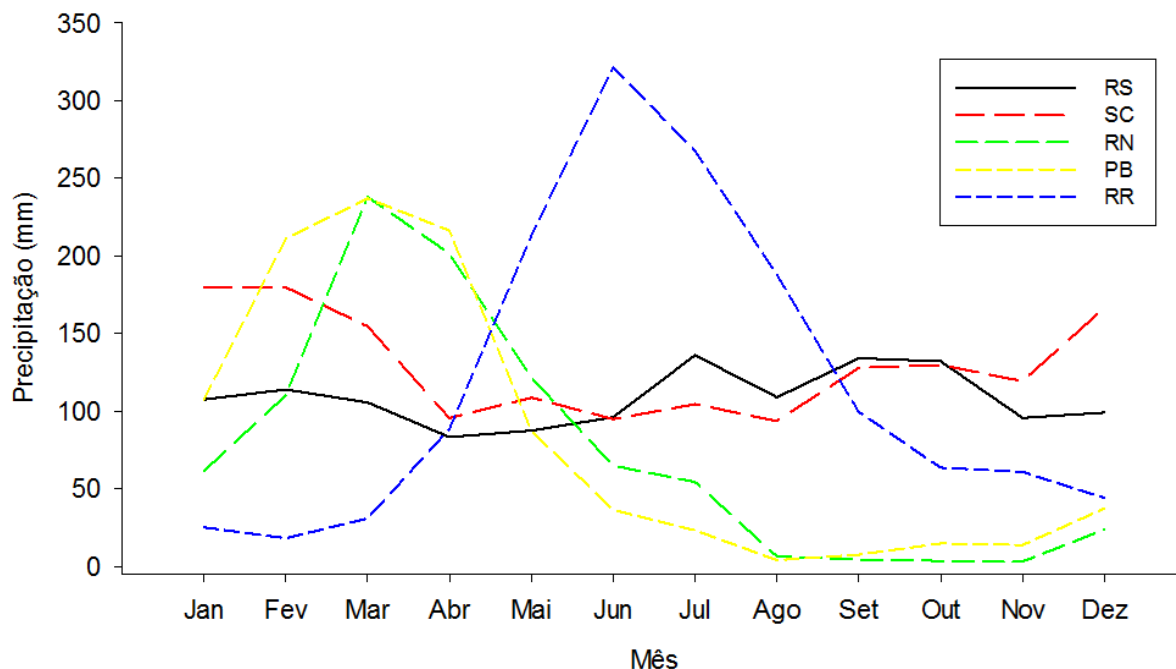


Figura 22 - Normais climatológicas de precipitação (mm), nas regiões onde foram coletadas as plantas de arroz-daninho. Fonte: INMET, 2017.

Na PB e RN as chuvas são distribuídas entre janeiro e julho, safra de sequeiro, e no segundo semestre, entre agosto e dezembro, é a safra de arroz-irrigado (PEREIRA; MORAIS, 2014). Em RR, o período chuvoso é entre abril e setembro quando se semeia arroz de sequeiro, e entre outubro e abril é o período de menor registro pluviométrico, quando se realiza a safra de arroz-irrigado (SUHRE et al., 2008).

As temperaturas máximas (°C) nas regiões onde foram coletados as plantas de arroz-daninho (Figura 23) mostram que as temperaturas em latitudes menores (PB, RN e RR) são maiores quando comparadas à latitudes maiores. Por outro lado, há menor variação ao longo do ano. Já para RS e SC, há o declínio da temperatura entre abril e setembro, o que impede a safra de arroz nesse período.

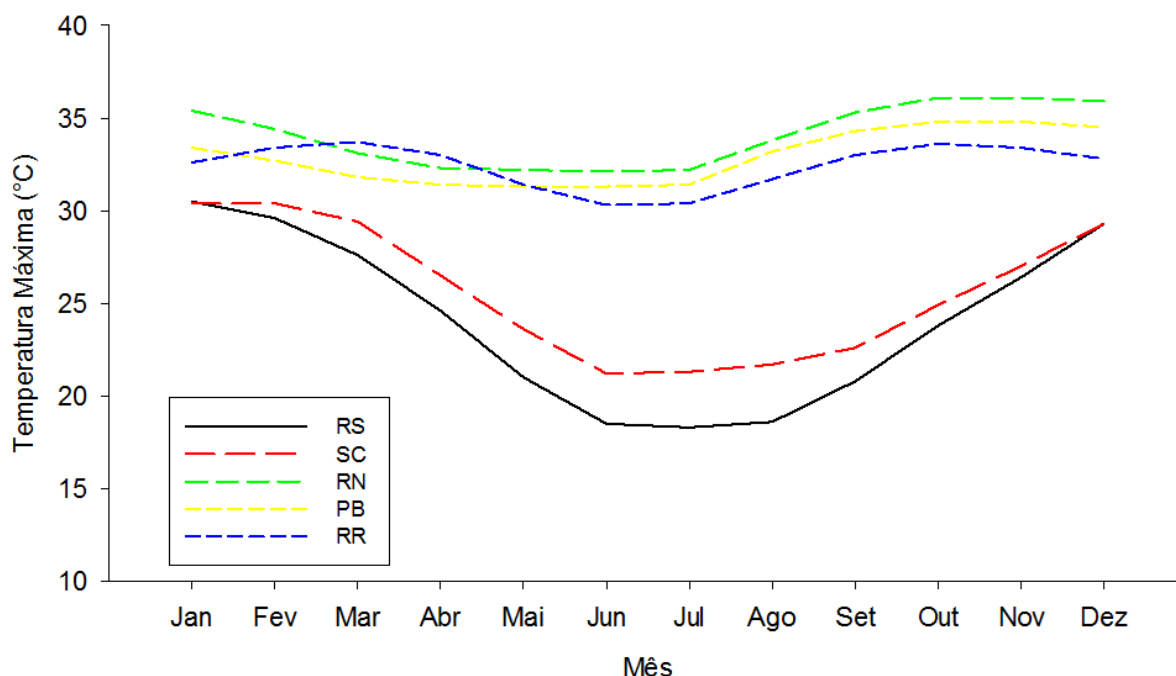


Figura 23 - Normais climatológicas de temperatura máxima (°C), nas regiões onde foram coletadas as plantas de arroz-daninho. Fonte: INMET, 2017.

Em estudo realizado por Barua et al. (2008) constataram decréscimo no montante de *HSPs* quando houve o aumento da variação de temperatura durante o dia, e houve tendência negativa semelhante da relação entre o teor de *HSP* e a frequência de exposição a altas temperaturas no ambiente. Em outras palavras, populações de arroz e arroz-daninho que tenham temperaturas médias do ambiente semelhantes, mas tem temperaturas sazonais e/ou diurnas diferentes, respondem de forma distinta a acumulação de *HSPs* e a termotolerância induzida. O aumento de *HSPs* em organismos adaptados a temperaturas mais quentes negligencia o papel do aumento da termotolerância basal, por exemplo, o aumento da termoestabilidade de proteínas em resposta ao tratamento por calor. Em organismos adaptados a temperaturas maiores, há maior termotolerância basal que evita danos e reduz a necessidade de aumento de *HSPs* (BARUA et al., 2008). A frequência de exposição ao estresse abiótico é capaz de influenciar significativamente o orçamento de energia de determinado organismo e, assim, moldar a estratégia evolutiva para lidar com o estresses mais variados. É provável que organismos de habitats estressantes que requerem indução frequente de *HSFs* e *HSPs* possam suprimir a resposta ao estresse abiótico, em parte para limitar seus custos metabólicos e, direcionam energia para mecanismos basais de termotolerância.

4.4 Conclusões

O alto nível de expressão de *HSFA2a* para estresse por alta temperatura e de *HSFA7* para o estresse de déficit hídrico, e de *HSPs* (*HSP24.15*, *HSP74.8* e *HSP80.2*) para ambos os estresses, demonstram que estes têm papel fundamental no mecanismo de defesa contra estresses abióticos.

O período de 10 dias de déficit hídrico no período vegetativo alteram o metabolismo, expressão gênica de proteínas de choque térmico (*HSPs*) e caracteres morfológicos de plantas de arroz e arroz-daninho, mas não afetam a sua produtividade.

O estresse de 42°C por 2 horas no período vegetativo alteram o metabolismo, expressão de genes *HSPs* e caracteres morfológicos de plantas de arroz e arroz-daninho e diminuem sua produtividade.

4.5 Referências Bibliográficas

ANDRES, A. et al. Weed Resistance to Herbicides in Rice Field in Southern Brazil. In: **Herbicides - Current Research and Case Studies in Use**. ed1. Infotech, 2013. p. 3-25.

ANEJA, B. et al. Hsp transcript induction is correlated with physiological changes under drought stress in Indian mustard. **Physiology and Molecular Biology of Plants**, v.21, p.305-316, 2015.

ASHRAF, M.; HARRIS, P.J.C. Photosynthesis under stressful environments: An overview. **Photosynthetica**, v.51, p.163-190, 2013.

BARUA, D. et al. Variation in chloroplast small heat-shock protein function is a major determinant of variation in thermotolerance of photosynthetic electron transport among ecotypes of *Chenopodium album*. **Functional Plant Biology**, v.30, p.1071-1079, 2003.

BARUA, D. et al. Variation in heat-shock proteins and photosynthetic thermotolerance among natural populations of *Chenopodium album* L. from contrasting thermal environments: Implications for plant responses to global warming. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.50, p.1440-1451, 2008.

BAXTER, A. et al. ROS as key players in plant stress signalling. **Journal of Experimental Botany**, v.65, p.1229-1240, 2014.

BENEMANN, D.P. et al. Identification and validation of reference genes for the normalization in teal-time RT-qPCR on rice and red rice in competition, under different nitrogen doses. **Planta Daninha**, v.35, p.1-9, 2017.

BERNARDO, S. et al. **Manual de irrigação**. 8 ed. Viçosa, UFV, 2006. 625p.

BEVILACQUA, C.B. et al. Analysis of Stress-Responsive Gene Expression in Cultivated and Weedy Rice Differing in Cold Stress Tolerance. **Plos One**, v.10, p.1-22, 2015.

BURGOS, N.R. et al. The impact of herbicide-resistant rice technology on phenotypic diversity and population structure of United States weedy rice. **Plant Physiology**, v.166, p.1208-20, 2014.

BUSI, R. et al. Can herbicide safeners allow selective control of weedy rice infesting rice crops? **Pest Management Science**, v.73, p.71-77, 2017.

CHANDEL, G. et al. Differential expression of heat shock proteins and heat stress transcription factor genes in rice exposed to different levels of heat stress. **Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology**, v.22, p.277-285, 2013.

DE FREITAS, G.P.M et al. Comparative analysis of gene expression in response to cold stress in diverse rice genotypes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.471, p.253-259, 2016.

FLEXAS, J. et al. Mesophyll conductance to CO₂: current knowledge and future prospects. **Plant, Cell & Environment**, v.31, p.602-621, 2008.

FLEXAS, J. et al. Mesophyll conductance to CO₂ and Rubisco as targets for improving intrinsic water use efficiency in C₃ plants. **Plant, Cell and Environment**, v.39, p.965-982, 2016.

FOLEY, J.A. et al. Solutions for a cultivated planet. **Nature**, v.478, p.337-342, 2011.

GEALY, D. et al. Outcrossing Potential between U.S. Blackhull Red Rice and Indica Rice Cultivars. **Weed Science**, v.63, p.647-657, 2015.

GILROY, S. et al. A tidal wave of signals: calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. **Trends in Plant Science**, v.19, p.623-630, 2014.

GOULART, I.C.G.R. et al. Distribution of Weedy Red Rice (*Oryza sativa*) Resistant to Imidazolinone Herbicides and its Relationship to Rice Cultivars and Wild *Oryza* Species. **Weed Science**, v.62, p.280-293, 2014.

GUO, J. et al. Genome-wide analysis of heat shock transcription factor families in rice and Arabidopsis. **Journal of Genetics and Genomics**, v.35, p.105-118, 2008.

GUO, M. et al. The Plant Heat Stress Transcription Factors (HSFs): Structure, Regulation, and Function in Response to Abiotic Stresses. **Frontiers in Plant Science**, v.7, p.1-13, 2016.

HALSBECK, M.; VIERLING, E.A. First Line of Stress Defense: Small Heat Shock Proteins and Their Function in Protein Homeostasis. **Journal of Molecular Biology**, v.427, p.1537-1548, 2015.

HECKATHORN, S.A. et al. In vivo evidence from an *Agrostis stolonifera* selection genotype that chloroplast small heat-shock proteins can protect photosystem II during heat stress. **Functional Plant Biology**, v.29, p.935-946, 2002.

HONG, Y. et al. Overexpression of a Stress-Responsive NAC Transcription Factor Gene *ONAC022* Improves Drought and Salt Tolerance in Rice. **Frontiers in Plant Science**. v.7, p.1-19, 2016.

HU W.; HU, G.; HAN, B. Genome-wide survey and expression profiling of heat shock proteins and heat shock factors revealed overlapped and stress specific response under abiotic stresses in rice. **Plant Science**, v.176, p.583-590, 2009.

IPCC. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the **Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC**:Geneva. 2014. 151 p.

INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Normais Climatológicas do Brasil 1961-1990. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=clima/normaisclimatologicas>>. Acesso em: 25 abr. 2017.

ISODA, A.; WANG, P. Leaf Temperature and Transpiration of Field Grown Cotton and Soybean under Arid and Humid Conditions. **Plant Production Science**, v.5, p.224-228, 2002.

JIN, G.H. et al. A systematic view of rice heat shock transcription factor family using phylogenomic analysis. **Journal of Plant Physiology**, v.170, p.321-329, 2013.

KADAM, N.N. et al. Agronomic and Physiological Responses to High Temperature, Drought, and Elevated CO₂ Interactions in Cereals. **Advances in Agronomy**, v.1, p.111-156, 2014.

KOSMA, D.K. et al. The impact of water deficiency on leaf cuticle lipids of Arabidopsis. **Plant Physiology**, v.151, p.1918-29, 2009.

KRAEHMER, H. et al. Global distribution of rice weeds - A review. **Crop Protection**, v.80, p.73-86, 2016.

KRISHNA, P.; GLOOR, G. The Hsp90 family of proteins in thaliana. **Cell Stress and Chaperones**. v.6, p.238-246, 2001.

LAVANIA, D. et al. Genetic improvement of rice crop under high temperature stress: bridging plant physiology with molecular biology. **Indian Journal of Plant Physiology**, v.21, p.391-408, 2016.

LI, P.S. et al. Genome-wide analysis of the Hsf family in soybean and functional identification of GmHsf-34 involvement in drought and heat stresses. **BMC Genomics**, v.15, p.1-16, 2014.

LIMA, A. L. S. et al. Photochemical responses and oxidative stress in two clones of *Coffea canephora* under water deficit conditions. **Environmental and Experimental Botany**, v.47, p.239-247, 2002.

LIN, Y.X. et al. Genome-wide identification, classification and analysis of heat shock transcription factor family in maize. **BMC Genomics**, v.12, p.1-14, 2011.

LIU, A.L. et al. Expression profiles of class a rice heat shock transcription factor genes under abiotic stresses. **Journal of Plant Biology**, v.53, p.142-149, 2010.

LIU, A.L. et al. Over-expression of OsHsfA7 enhanced salt and drought tolerance in transgenic rice. **BMB Reports**, v.46, p.31-36, 2013.

MARTIN, R. et al. Evaluation of Reference Genes for Quantitative RT-PCR in *Lolium perenne*. **Crop Science**. V.48, p.1881-1887, 2008.

MEENA, K.K. et al. Abiotic Stress Responses and Microbe-Mediated Mitigation in Plants: The Omics Strategies. **Frontiers in Plant Science**, v.8, p.1-25, 2017.

MENGUER, P.K. et al. A walk on the wild side: *Oryza* species as source for rice abiotic stress tolerance. **Genetics and Molecular Biology**, v.1, p.1-15, 2017.

- MEROTTO, A. et al. Evolutionary and social consequences of introgression of nontransgenic herbicide resistance from rice to weedy rice in Brazil. **Evolutionary Applications**, v.9, p.837-846, 2016.
- MUELLER, N.D. et al. Closing yield gaps through nutrient and water management. **Nature**, v.490, p.254-257, 2012.
- NAKAI, A. New aspects in the vertebrate heat stress factor system: HsfA3 and HsfA4. *Cell Stress* **Chaperones**, v.4, p.86-93, 1999.
- NAKANO, K.; IWAMA, G.K. The 70-kDa heat shock protein response in two intertidal sculpins, *Oligocottus maculosus* and *O. snyderi*: relationship of hsp70 and thermal tolerance. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.133, p.79-94, 2002.
- NOLDIN, J.A. Seed longevity of red rice ecotypes buried in soil. **Planta Daninha**, v.24, p.611-620, 2006.
- NOVER, L. et al. Arabidopsis and the heat stress transcription factor world: how many heat stress transcription factors do we need? **Cell Stress Chaperones**, v.6, p.177-189, 2001.
- OHAMA, N. et al. Transcriptional Regulatory Network of Plant Heat Stress Response. **Trends in Plants Science**, v.22, p.53-66, 2017.
- PAOLACCI, A.R. et al. Identification and validation of reference genes for quantitative RT-PCR normalization in wheat. **BMC Molecular Biology**, v.10, p.1-27, 2009.
- PALMGREN, M.G. et al. Are we ready for back-to-nature crop breeding? **Trends in Plant Science**, v.20, p.155-164, 2014.
- PEREIRA, J.A.; MORAIS, O.P. As variedades de arroz vermelho brasileiras. **Documentos...** 229. Teresina, PI. EMBRAPA, 39p., 2014.
- POCOJESKI, E. et al. Uso do clorofilômetro no monitoramento nutricional de arroz irrigado com vistas ao manejo da adubação nitrogenada. **Revista Ceres**, v.62, p.310-318, 2015.
- PORT, M. et al. Role of Hsp17.4-CII as coregulator and cytoplasmic retention factor of tomato heat stress transcription factor HsfA2. **Plant Physiology**, v.135, p.1457-1470, 2004.
- QIN, D. et al. Overexpression of heat stress-responsive *TaMBF1c*, a wheat (*Triticum aestivum* L.) Multiprotein Bridging Factor, confers heat tolerance in both yeast and rice. **Plant Molecular Biology**, v.87, p.31-45, 2015.
- RAMEGOWDA, V. et al. Rice growth under drought kinase is required for drought tolerance and grain yield under normal and drought stress conditions. **Plant Physiology**, v.166, p.1634-1645, 2014.

SANG, T.; GE, S. The puzzle of rice domestication. **Journal of Integrative Plant Biology**, v.49, p.760-768, 2007.

SANTOS, L.O. Carryover Effect of Imidazolinone Herbicides for Crops Following Rice. **American Journal of Plant Sciences**, v.5, p.1049-1058, 2014.

SCHARF, K.D. et al. Three tomato genes code for heat stress transcription factors with a region of remarkable homology to the DNA-binding domain of the yeast Hsf. **The EMBO Journal**, v.9, p.4495-4501, 1990.

SCHARF, K.D. The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: Structure, function and evolution. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1819, p.104-119, 2012.

SCHMIDT, F. Crescimento e produção de arroz irrigado de pericarpo colorido em função da aplicação de nitrogênio e potássio. **Revista Scientia Agraria**, v.18, p.34-42, 2017.

SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Gene networks involved in drought stress response and tolerance. **Journal of Experimental Botany**, v.58, p.221-227, 2007.

SHUIFENG, Y.E. Expression profile analysis of 9 heat shock protein genes throughout the life cycle and under abiotic stress in rice. **Chinese Science Bulletin**, v.57, p.336-343, 2012.

SIMONTACCHI, M. et al. Plant Survival in a Changing Environment: The Role of Nitric Oxide in Plant Responses to Abiotic Stress. **Frontiers in Plant Sciences**, v.6, p.1-19, 2015.

SIRICHANDRA, C. et al. The guard cell as a single-cell model towards understanding drought tolerance and abscisic acid action. **Journal of Experimental Botany**, v.60, p.1439-1463, 2009.

SOSBAI. **Arroz Irrigado: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. In: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado - SOSBAI: Pelotas, 2016. 200p.

SUHRE, E. et al. Avaliação de linhagens de arroz em diferentes sistemas de cultivo em várzea de Roraima. **Revista Agro@ambiente**, v.2, p.1-9, 2008.

SUN, W. et al. Small heat shock proteins and stress tolerance in plants. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1577, p.1-9, 2002.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre: Artmed, 2013; 820p.

USMAN, M.G. et al. Heat Shock Proteins: Functions and Response Against Heat Stress In Plants. **Internation Journal of Scientific & Technology Research**, v.3, p.204-218, 2014.

WANG, J. et al. Response of rice production to elevated [CO₂] and its interaction with rising temperature or nitrogen supply: a meta-analysis. **Climatic Change**, v.130, p.529-543, 2015.

ZANDALINAS, S.I. et al. Plant adaptations to the combination of drought and high temperatures. **Physiologia Plantarum**, v.159, p.1.17, 2017.

ZATSEPINA, O.G. et al. A *Drosophila melanogaster* strain from sub-equatorial Africa has exceptional thermotolerance but decreased Hsp70 expression. **Journal of Experimental Biology**, v.204, p.1869-1881, 2001.

ZHANG, J. et al. Hsf and Hsp gene families in Populus: genome-wide identification, organization and correlated expression during development and in stress responses. **BMC Genomics**, v.16, p.1-19, 2015.

ZISKA, L.H. et al. Weedy (Red) Rice. An Emerging Constraint to Global Rice Production. **Advances in Agronomy**, v.129, p.181-228, 2015.

ZOU, J. et al. Expression analysis of nine rice heat shock protein genes under abiotic stresses and ABA treatment. **Journal of Plant Physiology**, v.166, p.851-861, 2009.

5 CAPÍTULO IV - Resposta de arroz-daninho suscetível e resistente aos inibidores da ALS ao aumento na concentração de CO₂ atmosférico.

5.1 Introdução

A concentração de dióxido de carbono (CO₂) na atmosfera chegou a marca de 400 ppm em 2017 (NOAA, 2017), acréscimo superior a 25% desde 1960. A informação de que o aumento de CO₂ atmosférico pode contribuir para o crescimento das plantas é conhecido desde 1890, quando Saussure, demonstrou pela primeira vez, que ervilhas expostas à alta concentração de CO₂ cresceram melhor que as plantas controle, que estavam no ar ambiente (KIMBALL et al., 2016). Por ser um substrato primário para que o processo de fotossíntese ocorra, a quantidade de CO₂ disponível para as plantas tem efeito no metabolismo, crescimento e desenvolvimento, especialmente sob condições favoráveis de água, luz, nutrientes e temperatura (TAIZ; ZEIGER, 2013; ABDELGAWAD et al., 2016).

O Painel Intergovernamental de Mudanças Climáticas (IPCC) estima que até o fim do século XXI as alterações climáticas globais, causadas pela constante emissão de gases de efeito estufa, levarão a aumento da concentração do CO₂ atmosférico superiores a 700 ppm (IPCC, 2014). Uma vez que o CO₂ é recurso essencial para o crescimento das plantas é esperado o aumento da taxa fotossintética, maior eficiência do uso da água nas plantas, em resposta à redução na condutância estomática e transpiração (EVANS, 2013). A agricultura depende diretamente das condições climáticas, portanto, qualquer alteração no clima pode afetar o zoneamento agrícola, a produtividade e as técnicas de manejo das culturas (WANG et al., 2017).

As alterações climáticas exigem a constante adaptação das plantas para tolerar diferentes tipos de estresses bióticos e abióticos (IPCC, 2014). Além disso, há projeções de alteração na distribuição, abundância e severidade de pragas e plantas daninhas, o que poderá afetar os sistemas de cultivo e os métodos de controle de

pragas (KORRES et al., 2016). Embora as mudanças climáticas induzam à constante adaptação da agricultura (TOKATLIDIS, 2013), seus efeitos sobre a produção agrícola podem ser positivos em alguns sistemas e regiões agrícolas e negativos em outros (OBIRIH-OPAREH; ONUMAH, 2014). Todavia, muito dos benefícios alcançados com a elevação do CO₂ atmosférico podem ser minimizados, quando as plantas são submetidas a elevadas temperaturas (KORRES et al., 2016). As plantas C₃ e C₄ apresentam diferentes respostas ao enriquecimento de CO₂ (ZISKA et al., 2014); a quantidade atual de CO₂ atmosférico é inadequada para saturar a enzima ribulose-1,5-bifosfato-carboxilase-oxigenase (Rubisco) que catalisa a fotossíntese em plantas C₃ (FURBANK; SAGE, 2016), como é o caso do arroz-daninho.

Dentre as plantas daninhas, destaca-se o arroz-daninho, que é considerado uma das principais infestantes das lavouras de arroz irrigado à nível global, pois pertence ao gênero *Oryza*, por isso, apresenta semelhanças morfológicas, fisiológicas, genéticas e bioquímicas ao cultivado, o que dificulta o seu controle (SUDIANTO et al., 2016), o que pode acarretar perdas superiores a 50% na produtividade (SHIVRAIN et al., 2010). A disponibilização do Sistema de Produção Clearfield®, através do uso de cultivares resistentes aos herbicidas do grupo das imidazolinonas propiciou o controle seletivo de arroz-daninho (MEROTTO et al., 2016). Entretanto, diversos biótipos de arroz-daninho, resistente à herbicidas inibidores da enzima ALS, tem sido identificados nas regiões produtoras de arroz irrigado no sul do Brasil (MENEZES et al., 2009; ROSO et al., 2010). Problemas similares tem sido relatado nos Estados Unidos (SHIVRAIN et al., 2007; BURGOS et al., 2008), Grécia (KALOUMENOS et al., 2013) e Itália (ANDRES et al., 2014).

Na literatura existem alguns trabalhos relacionando o arroz-daninho no contexto de mudanças climáticas e ao aumento da concentração do CO₂ atmosférico (ZISKA; MCCLUNG, 2008; ZISKA et al., 2012; 2014). No entanto, a avaliação de biótipos de arroz-daninho com resistência ao grupo químico das imidazolinonas no contexto de mudanças climáticas ainda é exíguo.

Em vista do exposto, o estudo teve o objetivo de avaliar a resposta de populações de arroz-daninho suscetível e resistente aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas ao aumento do CO₂ atmosférico.

5.2 Material e Métodos

5.2.1 Material Vegetal

O experimento foi conduzido em câmaras de crescimento pertencentes ao “Alzheimer Lab - Department of Crop, Soil, and Environmental Sciences (CSES) - University of Arkansas”, Estados Unidos (Fayetteville, Arkansas) no ano 2016/17. Foram avaliados dois biótipos de arroz-daninho (*Oryza sativa* spp. *indica*), semelhantes em morfologia e ciclo, provenientes da cidade de Dom Pedrito, da mesorregião da Campanha, no estado do Rio Grande do Sul (RS), coordenadas GPS: 31°02'07" S e 54°52'02" W. Os biótipos de arroz-daninho foram coletados na safra 2012/2013 em lavouras comerciais de arroz e multiplicados por 3 gerações (1° ano -Arroio Grande/RS, 2° ano – Capão do Leão/RS, 3° ano – Fayetteville/AR-Estados Unidos) para uniformização das populações através da retirada de plantas atípicas e aumento do volume de sementes. Plantas de diferentes biótipos foram submetidas a screening preliminar para determinação da suscetibilidade aos herbicidas do grupo das imidazolinonas (MENEZES et al., 2009), onde, o biótipo 15-189 foi classificado como resistente e o biótipo 15-214 foi suscetível.

5.2.2 Condução e análises

Os biótipos de arroz-daninho foram semeados em solo, peneirado e destorroado. O solo utilizado foi classificado com o Captina silt-loam, com as seguintes características: areia = 30,5%; silte = 55,5%; argila = 14%, $\text{pH}_{\text{água}} = 7,3$; matéria orgânica = 2,41%, $\text{NO}_3 = 32,4 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{NH}_4 = 16,8 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{P} = 86 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{K} = 41 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Ca} = 827 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Mg} = 827 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{S} = 10 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Na} = 22 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Fe} = 671 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Mn} = 168 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Zn} = 3,6 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{Cu} = 0,6 \text{ mg kg}^{-1}$, $\text{B} = 0,2 \text{ mg kg}^{-1}$. As unidades experimentais consistiram em potes de 7 L preenchidos com solo, em delineamento inteiramente casualizado, com 6 repetições. Foram semeadas cinco sementes de arroz-daninho em cada pote, e após o estabelecimento das plântulas foi realizado o desbaste e deixada uma plântula por pote.

As plantas foram mantidas durante todo o experimento em duas câmaras de crescimento (Convicon™, modelo PGW36) com duas concentrações atmosféricas de CO_2 distintas: 400 e 700 ppm. As demais condições ambientais foram mantidas as

mesmas, para ambas as câmaras de crescimento, com fotoperíodo de 14/10 (dia/noite), radiação ativa fotossintética (PAR) de $600 \text{ mmol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ e temperaturas de $34/26^\circ\text{C}$ (dia/noite), com gradiente de variação ao longo do dia, culminando em maior temperatura no período do meio-dia. A partir do estágio V₄, as plantas foram mantidas em bandejas com lâmina de água constante, simulando inundação (SOSBAI, 2016).

O biótipo resistente (15-189) teve dois manejos na condução do experimento, com e sem a aplicação de herbicida. Esse manejo foi utilizado, para avaliar o efeito da interação do arroz-daninho resistente com o herbicida, em diferentes concentrações de CO₂ atmosférico. Quando as plantas resistentes com tratamento herbicida atingiram o estágio V₃-V₄ foram submetidas à aplicação de imazethapyr na dosagem de $106 \text{ g i.a ha}^{-1}$ (Newpath™, BASF) com 1% do volume com óleo vegetal concentrado (COC). A aplicação foi realizada utilizando câmara de aplicação de herbicidas na vazão de 187L ha^{-1} a 32 psi de pressão.

As avaliações do número de afilhos foram realizadas aos 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35, 38, 42, 45, 49, 52, 56, 59, 63, 67 DAE (Dias após a Emergência). Já, as avaliações da estatura foram realizadas aos 7, 10, 14, 17, 21, 24, 28, 31, 35, 38, 42, 45, 49, 52, 56, 59, 63, 67, 77, 81, 91, 98, 105, 112 e 119 DAE. Para a determinação das respostas fisiológicas foram mensurados os parâmetros fotossintéticos aos 45DAE, com o auxílio do medidor portátil de fotossíntese LI-COR 6400XT (Figura 24) na concentração de 400 e 700 $\mu\text{mol.mol}$ de CO₂ (dependendo da concentração de CO₂ da câmara de crescimento), intensidade de luz de $1.000 \mu\text{mol.m}^2.\text{s}^{-1}$, e umidade relativa entre 55 e 60%. Os parâmetros avaliados foram: taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs) e taxa de transpiração (E). Também aos 45 DAE, foi utilizado o clorofilômetro portátil SPAD-502 (Minolta, Japão) na avaliação do conteúdo de clorofila, no terço central da folha bandeira, em três replicatas em cada planta.

A avaliação do n° de panículas foi realizada quando as plantas atingiram a maturação. A esterilidade de espiguetas e a produtividade foram calculados após a colheita dos biótipos. Os dados foram submetidos a análise de variância. Em caso de significância entre os tratamentos foi realizado o teste de Tukey (biótipos) ou teste t (concentração), a 5% de probabilidade para separar as médias. A análise estatística foi conduzida utilizando o programa R Studio, versão 1.0.143.



Figura 24 - Avaliação de biótipos de arroz-daninho com o medidor portátil de fotossíntese Li-Cor 6400XT. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

5.3 Resultados e Discussão

A análise de variância não demonstrou interação entre os fatores biótipo e concentração de CO₂ para as variáveis estudadas (Tabela 13). Já, para as variáveis: esterilidade de espiguetas e produtividade (Tabela 14) a análise demonstrou diferença entre as médias para os fatores biótipo e concentração. Para as variáveis: SPAD (Tabela 13) e número de panículas (Tabela 14) houve diferenças de médias apenas para o fator biótipo. Por fim, para as variáveis: taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs) e Transpiração (E) (Tabela 14), foram observadas diferenças de médias para o fator concentração.

Tabela 13 - Resumo da análise de variância de taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs), Transpiração (E) a clorofilômetro (SPAD) dos biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO₂ atmosférico. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Variável (GL)	Quadrados Médios			
	SPAD	A	Gs	E
Biótipo (2)	51,6**	0,83	0,00	0,06
Concentração (1)	0,11	191,3**	0,018**	3,54**
B x C (2)	3,05	0,04	0,00	0,00
Resíduo (30)	5,17	3,80	0,00	0,46
Média	42,7	25,8	0,26	3,51
C.V.(%)	5,3	7,6	10,9	19,3

** - significativo a 1% pelo teste F.

Em ambiente com elevada concentração de CO₂ (700 ppm) as plantas de arroz-daninho suscetível apresentaram maior estatura a partir dos 49 DAE (Figura 25) em comparação as plantas que foram mantidas na concentração ambiente de CO₂ (400 ppm). Para o biótipo resistente, independente do uso do herbicida imazethapyr, as plantas apresentaram maior estatura a partir dos 63 DAE quando foram mantidas na concentração elevada de CO₂. A estatura dos biótipos de arroz-daninho resistente e suscetível foram, na média, 19,2 e 28,7% maiores sob a concentração elevada de CO₂, respectivamente na avaliação final de estatura aos 119 DAE.

Tabela 14 - Resumo da análise de variância de esterilidade das espiguetas, N° de panículas por planta e produtividade dos biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO₂ atmosférico. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Variável (GL)	Quadrados Médios		
	Esterilidade Espiguetas (%)	N° Panículas	Produtividade (Kg ha ⁻¹)
Biótipo (2)	1136,1**	24,5**	42630287,4**
Concentração (1)	29,4**	0,22	5462638,5**
B x C (2)	4,17	10,1	124864,5
Resíduo (12)	3,89	3,72	743997,0
Média	20,2	20,3	7684,9
C.V.(%)	9,8	9,4	11,2

** - significativo a 1% pelo teste F.

A estatura das plantas é parâmetro importante que deve ser considerado no fluxo gênico entre o arroz-daninho e o arroz cultivado e, entre o arroz-daninho resistente e o arroz-daninho suscetível, pois a taxa de fecundação cruzada e a distância que o pólen percorre entre uma planta e outra é limitada (GEALY et al., 2003). No mesmo sentido, Ziska et al. (2012) constataram que o aumento de CO₂ atmosférico aumentou a estatura média de plantas de arroz cultivado e arroz-daninho, bem como, mudou algumas características fenológicas que contribuiram para o aumento do fluxo gênico em arroz-daninho.

Quanto ao número de afilhos (Figura 26), houve tendência a ser maior na concentração elevada de CO₂, em ambos biótipos. Por outro lado, dentro de cada biótipo, baseado no intervalo de confiança a 95%, não houve diferença entre as concentrações a partir dos 28 DAE. Na média, o biótipo resistente apresentou 21,5 afilhos aos 67 DAE, enquanto o suscetível teve 15,8 afilhos. O número de afilhos é

importante pois contribui diretamente no número de panículas por planta e, conseqüentemente, na produtividade.

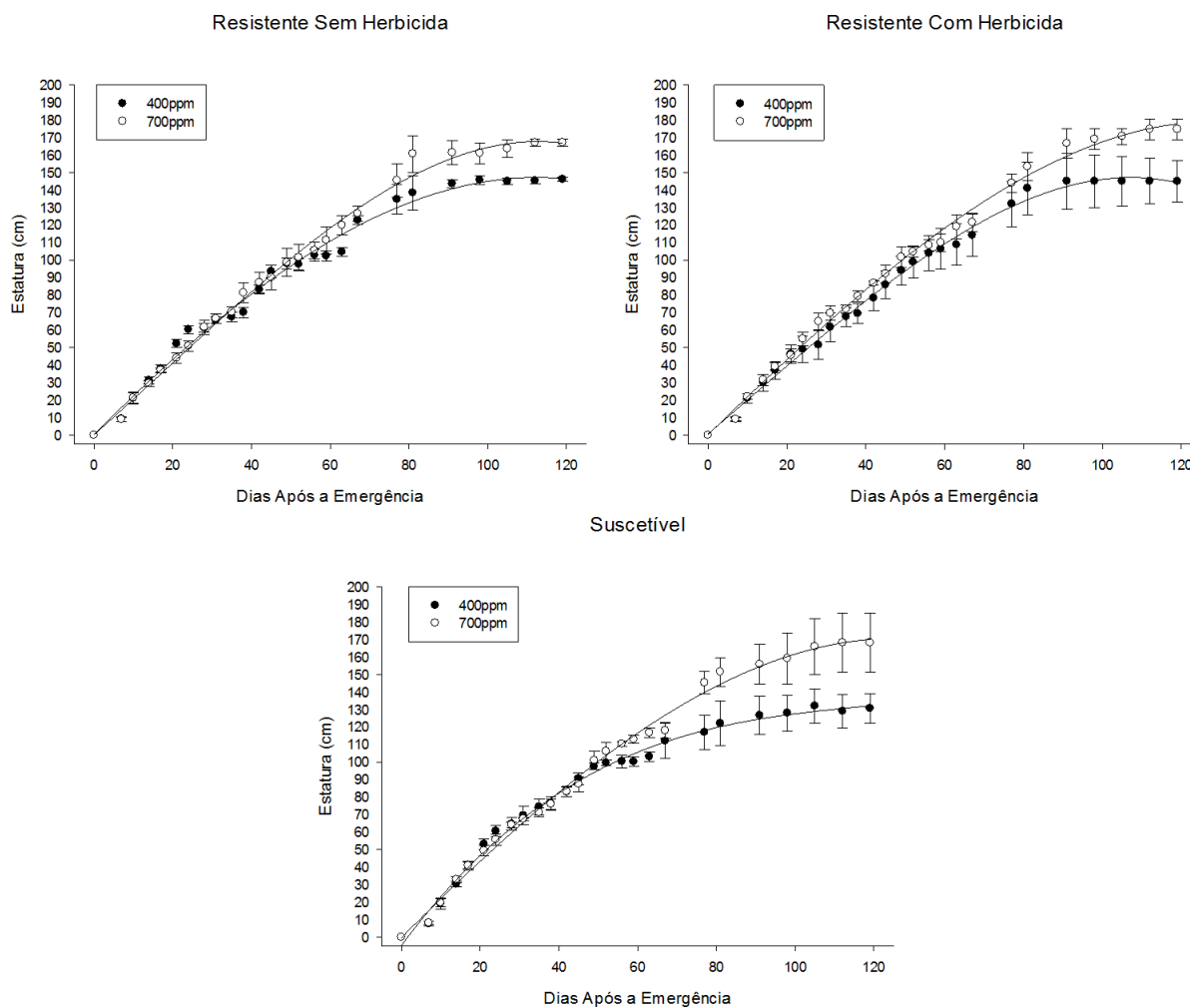


Figura 25 - Regressão das médias das estaturas de biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO₂ atmosférico. Intervalo de confiança = 95%. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

Os parâmetros da regressão das médias de estatura (Figura 25) e de n° de afilhos (Figura 26) podem ser visualizados na Tabela 15. As regressões, de ambas as variáveis e biótipos, se ajustaram no modelo polinomial cúbico, baseado no coeficiente de determinação (R^2) e na significância estatística (teste F) dos dados ao modelo.

Tabela 15 - Parâmetros da equação polinomial cúbica para as variáveis estatura e número de afilhos de biótipos de arroz- sob diferentes concentrações de CO₂ atmosférico. UFPel, Capão do Leão, RS, 2017.

Tratamento		Estatura				
		y0	a	b	c	R ²
Resistente sem Herbicida	400ppm	0,2148	2,2753	-0,0056	-0,000036	0,99
	700ppm	0,2595	1,9964	0,0041	-0,000077	0,99
Resistente com Herbicida	400ppm	0,8381	1,9143	0,0025	-0,000071	0,99
	700ppm	0,3230	2,1890	-0,0015	-0,000037	0,99
Suscetível	400ppm	-4,7338	3,0019	-0,0232	0,000065	0,99
	700ppm	-0,3165	2,2626	-0,0035	-0,000030	0,99

Tratamento		Afilhos				
		y0	a	b	c	R ²
Resistente sem Herbicida	400ppm	15,5022	-1,8500	0,0641	-0,0005	0,98
	700ppm	14,2021	-1,6577	0,0595	-0,0005	0,97
Resistente com Herbicida	400ppm	4,7329	-0,7310	0,0352	-0,0003	0,98
	700ppm	10,5593	-1,3801	0,0527	-0,0004	0,99
Suscetível	400ppm	11,1562	-1,2951	0,0452	-0,0004	0,98
	700ppm	9,9930	-1,2811	0,0483	-0,0004	0,99

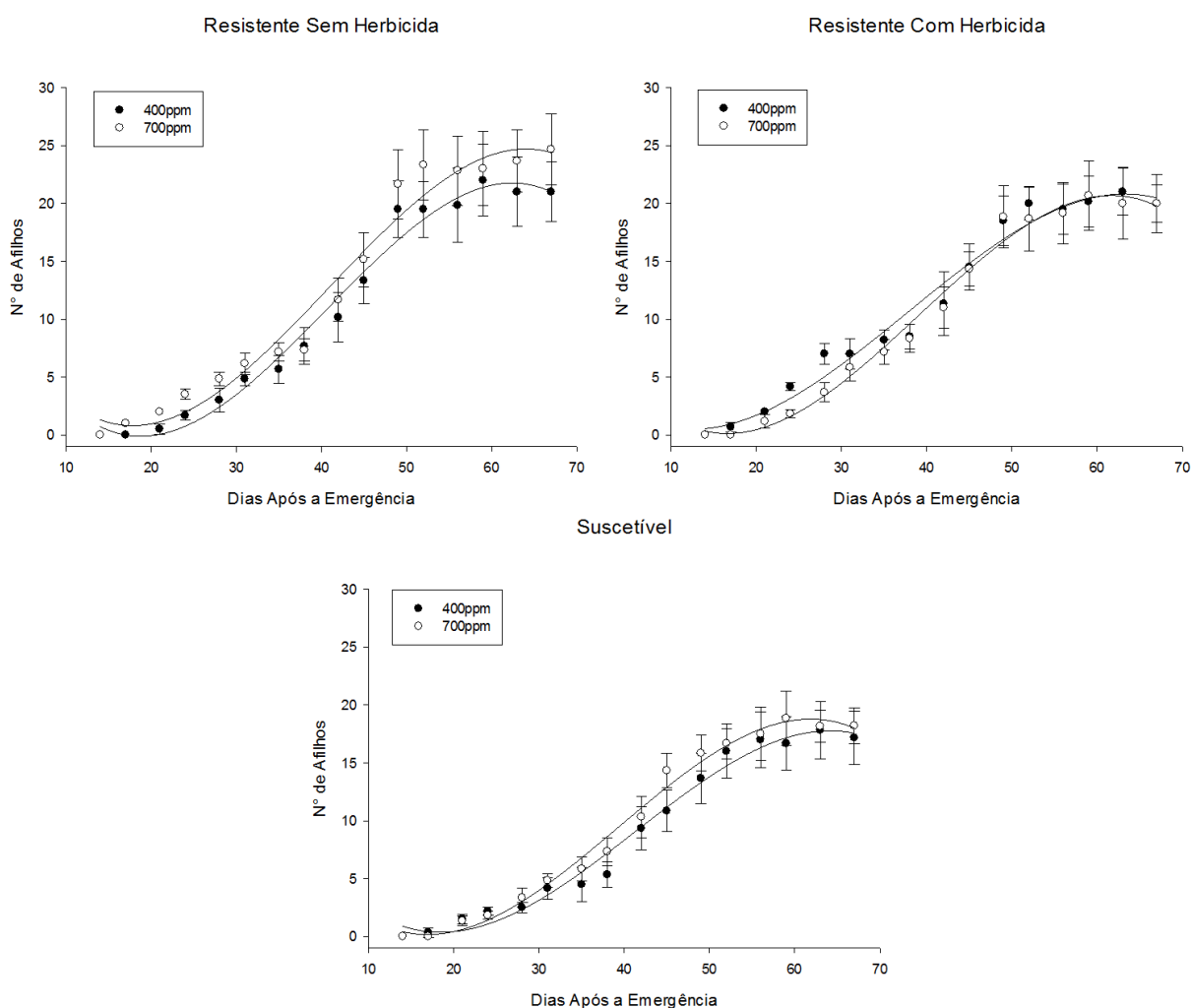


Figura 26 - Regressão das médias do número de afilhos de biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO₂ atmosférico. Intervalo de confiança = 95%. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

Os parâmetros fotossintéticos, taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs) e taxa de transpiração (E) e, as medidas do clorofilômetro (SPAD) (Tabela 16) não apresentaram interação significativa. Por outro lado, houve diferença entre as médias dos biótipos para as avaliações de SPAD, onde o biótipo resistente apresentou maior teor de clorofila. Já, para a variável taxa fotossintética (A) os biótipos sob elevada concentração de CO₂ apresentaram valores 19,6% superiores aos biótipos que estavam sob concentração ambiente de CO₂. No entanto, para condutância estomática (Gs) e transpiração (E) os biótipos sob concentração de 700 ppm de CO₂ apresentaram valores 17,2 e 16,2% inferiores aos que estavam em concentração de 400 ppm de CO₂.

A aquisição de CO₂ pelas plantas envolve a difusão deste gás da atmosfera para os espaços intercelulares do mesófilo foliar, através dos estômatos, e subsequentemente para os cloroplastos, onde a fixação do CO₂ em compostos orgânicos cria o gradiente de concentração que resulta na difusão (EVANS, 2013). Estima-se que 40% da massa seca das plantas é constituída de carbono que é fixado através da fotossíntese (LAMBERS et al., 2008). Portanto, ao captar energia solar e converter o CO₂ atmosférico em carbono orgânico para a construção de biomassa, a fotossíntese realizada pelas plantas é importante dreno para esse gás. Nos cloroplastos, a absorção de fótons é realizada por pigmentos, principalmente clorofila, distribuídos em complexos antena, que direcionam e transferem a energia de excitação para os centros de reação dos fotossistemas I e II. No fotossistema II ocorre a oxidação de moléculas de água, com produção de oxigênio e doação de um elétron para a cadeia de transporte de elétrons que o liga ao fotossistema I. Os prótons produzidos pela oxidação da água, que ocorre no lúmen das tilacoides, geram gradiente eletroquímico que se torna força motora para a fosforilação de ADP em ATP. No fotossistema I, ocorre a redução de NADP⁺ em NADPH. Ambos ATP e NADPH são utilizados nas reações subsequentes da fotossíntese, o ciclo de redução de carbono ou Ciclo de Calvin (LAMBERS et al., 2008; TAIZ; ZEIGER, 2013).

O metabolismo fotossintético de espécies C₃ é catalisado pela enzima ribulose-1,5-bisfosfato -carboxilase-oxigenase (Rubisco). Essa enzima compreende cerca de 50% das proteínas solúveis e 25% do N das folhas (LIN et al., 2014). Além da importante função que exerce, essa grande quantidade é também necessária porque a Rubisco é catalisador ineficiente (PARRY et al., 2008). A Rubisco catalisa

duas reações: A primeira envolve a carboxilação da molécula ribulose 1,5 bifosfato (RuBP) com o CO₂, para a produção de duas moléculas de 3-fosfoglicerato. A segunda reação, envolve a oxigenação da RuBP que produz uma molécula de 3-fosfoglicerato e uma de 2-fosfoglicolato (EVANS, 2013). A Rubisco tem maior afinidade pelo CO₂ do que pelo O₂, porém este último ocorre em concentração cerca de 550 vezes maior que o primeiro, fazendo com que a competição entre os dois substratos gasosos pela enzima seja um dos fatores determinantes da eficiência da fotossíntese nas atuais concentrações de CO₂ atmosférico (GRIFFIN; SEEMANN, 1996).

O crescimento não é dependente apenas da assimilação de nutrientes do solo e das taxas fotossintéticas, mas também de diversos parâmetros que controlam o ganho de carbono nas plantas. O equilíbrio entre o ganho de carbono por unidade de área foliar pela perda de carbono é dependente da taxa de respiração e também da proporção relativa dos órgãos que assimilam (fontes) ou não assimilam (drenos) (POORTER; KITAJIMA, 2007). O aumento no conteúdo de carboidratos é considerado a resposta mais pronunciada e uma das poucas respostas universais observadas em folhas cultivadas em elevado CO₂ (ZHU et al., 2012; YANG et al., 2013; VÁRY et al., 2015). A razão mais provável pela qual esse incremento acontece é que as plantas sob CO₂ elevado aumentam a fotossíntese até determinado ponto em que não conseguem integrar os carboidratos recém fixados ao crescimento, sendo esses acumulados como carboidratos não-estruturais nas folhas (LAMBERS et al., 2008).

Tabela 16 - Médias da taxa fotossintética (A), condutância estomática (Gs), Transpiração (E) a clorofilômetro (SPAD) dos biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO₂ atmosférico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

	SPAD	A	Gs	E
Suscetível	40,3 b ¹	25,7 ns ³	0,27 ns	3,4 ns
Resistente com Herbicida	43,8 a	26,0	0,26	3,6
Resistente sem herbicida	43,9 a	25,5	0,27	3,6
400 ppm	42,6 ns ⁴	23,5 * ²	0,29 *	3,82 *
700 ppm	42,7	28,1	0,24	3,20

¹ médias seguidas de letras minúsculas (biótipos) diferentes diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

² médias seguidas de * diferem pelo teste t (p<0,05).

³ ns – não significativo pelo teste de Tukey (p<0,05).

⁴ ns – não significativo pelo teste t (p<0,05).

A longo prazo é esperado que, em maiores concentrações de CO₂, menores quantidades de estômatos sejam necessárias, uma vez que a fotossíntese sofre menor limitação pela taxa de difusão do CO₂ para o interior da folha. Na ausência de variação da dimensão dos estômatos, a densidade estomática determina a condutância máxima possível em uma unidade de área foliar (CALDERA et al., 2017). Ainsworth & Rogers (2007) apontam que a redução da condutância estomática, como resposta de longo prazo ao aumento de CO₂, pode estar associada não só à abertura estomática, mas também à densidade de estômatos.

O biótipo suscetível apresentou maior esterilidade de espiguetas, menor número de panículas e, conseqüentemente, a menor produtividade em relação ao biótipo resistente (Tabela 17). Para a diferença de concentração de CO₂ atmosférico, os biótipos que cresceram sob a concentração elevada apresentaram menor esterilidade de espiguetas e produtividade 15,4% superior aos biótipos que cresceram sob a concentração ambiente de CO₂.

Tabela 17 - Médias da Esterilidade de Espiguetas, N° de panículas por planta e produtividade dos biótipos de arroz-daninho sob diferentes concentrações de CO₂ atmosférico. UARK, Fayetteville, AR, EUA, 2016.

	Esterilidade Espiguetas (%)	N° Panículas	Produtividade (Kg ha⁻¹)
Suscetível	36,1 a ¹	18,0 b	4610 b
Resistente com Herbicida	11,9 b	21,5 a	9107 a
Resistente sem herbicida	12,6 b	21,5 a	9338 a
400 ppm	21,5 * ²	20,4 ns ³	7134 *
700 ppm	18,9	20,2	8236

¹ médias seguidas de letras minúsculas (biótipos) diferentes diferem pelo teste de Tukey (p<0,05).

² médias seguidas de * diferem pelo teste t (p<0,05).

³ ns – não significativo pelo teste t (p<0,05).

Em estudo de meta-análise realizado com a revisão de 71 artigos que avaliaram o comportamento de arroz à elevação de CO₂ atmosférico, no período de 1980 à 2007, Ainsworth (2008) conclui que esse fator contribui para o aumento de 7% no peso dos grãos, 17% no número de panículas, 27% no número de grãos, 9% na biomassa, aumento na taxa fotossintética e decréscimo de 25% na condutância estomática.

No contexto de mudanças climáticas, o aumento da temperatura poderá afetar negativamente a produtividade (IPCC, 2014), por outro lado, o aumento da concentração atmosférica de CO₂ poderá os efeitos negativos causados por esse

estresse abiótico (LI et al., 2015). Em estudo realizado no sistema FACE (Free-Air Carbon dioxide Enrichment) com o objetivo de avaliar a interação de adubação nitrogenada e o aumento de CO₂ atmosférico em arroz, Liu et al. (2008) constataram que não houve alterações na fenologia das plantas, por outro lado, houve alteração em componentes da produtividade resultando em produtividade de até 34% superior que em plantas controle. No mesmo sentido, quando se compara o estudo de Liu et al. (2008) com os de Kim et al. (2003) e de Yang et al. (2006) é possível inferir que a produtividade de *Oryza sativa* sp. *indica* é mais responsiva que *O. sativa* sp. *japonica* em 13% em relação a adubação nitrogenada quando submetido a elevada concentração de CO₂ atmosférico.

Em ambientes com alta temperatura ou baixa disponibilidade de N pode ocorrer limitação dos drenos das plantas (menor n° de afixos, esterilidade de espiguetas, entre outros) resultando na redução da capacidade fotossintética (KIM et al., 2003). Por outro lado, quando há adequado suprimento de N, temperatura e elevado CO₂ acontece o aumento do desenvolvimento de drenos (maior n° de afixos, tamanho de panículas, porcentagem de grãos cheios) culminando em maior produtividade pela estimulação da capacidade fotossintética das plantas (HASEGAWA et al., 2013; SHIMONO; OKADA, 2013; ZISKA et al., 2014)

Em estudo conduzido por Zhu et al. (2014) avaliando duas cultivares de arroz sob elevada concentração de CO₂ atmosférico, foi demonstrado a ocorrência de diferenças espaciais e temporais na capacidade fotossintética, onde, a cultivar com maior produtividade apresentou maior relação dreno/fonte, maior expressão gênica da Rubisco, bem como, maior atividade enzimática da mesma, concluindo que as plantas têm resposta diferencial à estimulação por elevada concentração de CO₂. Segundo Ziska et al. (2014) há grande diversidade no crescimento e produtividade de biótipos de arroz-daninho e arroz cultivado em resposta a alta temperatura e elevado CO₂. Por esse motivo, é indispensável que em programas de melhoramento de arroz, haja a utilização de biótipos de arroz responsivos ao aumento de CO₂, principalmente, os que induzem ao maior perfilhamento e conseqüentemente a maior produtividade.

Conforme Ziska et al. (2016), o controle químico de plantas daninhas no contexto de elevada concentração de CO₂ pode afetar alguns aspectos da planta, como, diferenças na morfologia da folha, variação na relação raiz/parte aérea, possível redução no conteúdo proteico na folha (sítio de ação de alguns herbicidas)

e, também, mudanças na comunidade de plantas. Nesse contexto, Ziska & Goins (2006) avaliando o banco de sementes de plantas daninhas durante uma estação de crescimento concluíram que o número de plantas C₃ foram superiores às poaceas C₄, com alterações significativas na população de plantas daninhas da área.

Em estudo realizado no USDA, estudando três concentrações de CO₂ atmosférico: pré-industrial (300 ppm), atual (400 ppm) e projetado (600 ppm) resultou em maior sincronismo de florescimento e fecundação cruzada entre o arroz cultivado (CL 161) e o arroz-daninho (StgS) na maior concentração de CO₂ (ZISKA et al., 2012). Por sua vez, isso resultou em aumento na desdomesticação do arroz e em maior número de plantas daninhas híbridas resistentes a herbicidas (ZISKA et al., 2012). Esses resultados, embora preliminares, sugerem que o aumento de CO₂ pode alterar a sincronia do florescimento entre a cultura e a planta daninha em alguns biótipos, podendo afetar negativamente a eficácia de herbicidas através da hibridização e transferência de genes de resistência a herbicidas para o arroz-daninho suscetível.

5.4 Conclusões

A concentração de CO₂ atmosférico, ambiente e elevada, não afeta a interação do herbicida imazethapyr com o biótipo resistente aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas.

Os biótipos de arroz-daninho resistente e suscetível aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas conduzidos em elevada concentração de CO₂ atmosférico (700 ppm) aumentam a produtividade em 15,4% em relação aos que crescem em condição de CO₂ ambiente (400 ppm).

Os biótipos de arroz-daninho sob elevada concentração de CO₂, apresentam maior estatura e maior taxa fotossintética e menor condutância estomática, transpiração e esterilidade de espiguetas.

5.5 Referências Bibliográficas

ABDELGAWAD, H. et al. Future Climate CO₂ Levels Mitigate Stress Impact on Plants: Increased Defense or Decreased Challenge? **Frontiers in Plant Science**, v.7, p.1-7, 2016.

AINSWORTH, E.A.; ROGERS, A. The response of photosynthesis and stomatal conductance to rising [CO₂]: mechanisms and environmental interactions. **Plant, Cell & Environment**, v.30, p.258-270, 2007.

AINSWORTH, E.A. et al. Rice production in a changing climate: a meta-analysis of responses to elevated carbon dioxide and elevated ozone concentration. **Global Change Biology**, v.14, p.1642-1650, 2008.

ANDRES, A. et al. Susceptibility to imazamox in Italian weedy rice populations and Clearfield™ rice varieties. **Weed Research**, v.54, p.492-500, 2014.

BURGOS, N.R. et al. Red Rice (*Oryza sativa*) Status after 5 Years of Imidazolinone-Resistant Rice Technology in Arkansas. **Weed Technology**, v.22, p.200-208, 2008.

CALDERA, H.I.U. et al. Effects of elevated carbon dioxide on stomatal characteristics and carbon isotope ratio of *Arabidopsis thaliana* ecotypes originating from an altitudinal gradient. **Physiologia Plantarum**, v.159, p.74-92, 2017.

EVANS, J.R. Improving Photosynthesis. **Plant Physiology**, v.162, p.1780-1793, 2013.

FURBANK, R.T.; SAGE, R.F. Editorial overview: Physiology and metabolism: CO₂ concentrating mechanisms in photosynthetic organisms: evolution, efficiency and significance for crop improvement. **Current Opinion in Plant Biology**, v.31, p.1-4, 2016.

GEALY, D. et al. Gene Flow Between Red Rice (*Oryza sativa*) and Herbicide-Resistant Rice (*O. sativa*): Implications for Weed Management. **Weed Technology**, v.17, p.627-645, 2003.

GRIFFIN, K.L.; SEEMANN, J.R. Plants, CO₂ and photosynthesis in the 21 century. **Chemistry & Biology**, v.3, p.245-254, 1996.

HASEGAWA, T. et al. Rice cultivar responses to elevated CO₂ at two free-air CO₂ enrichment (FACE) sites in Japan. **Functional Plant Biology**, v.40, p.148-159, 2013.

IPCC. Climate Change 2014: Synthesis Report. Contribution of Working Groups I, II and III to the **Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change IPCC:Geneva**. 2014. 151 p.

KALOUMENOS, N.S. Red rice (*Oryza sativa*) cross-resistance to imidazolinone herbicides used in resistant rice cultivars grown in northern Greece. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v.105, p.177-183, 2013.

- KIM, H.Y. et al. Effects of free-air CO₂ enrichment and nitrogen supply on the yield of temperate paddy rice crops. **Field Crops Research**, v.83, p.261-270, 2003.
- KIMBALL, B. Crop responses to elevated CO₂ and interactions with H₂O, N, and temperature. **Current Opinion in Plant Biology**, v.31, p.36-43, 2016.
- KORRES, N.E. et al. Cultivars to face climate change effects on crops and weeds: a review. **Agronomy for Sustainable Development**, v.36, p.1-22, 2016.
- LAMBERS, H. et al. **Plant Physiological Ecology**. 2 ed. New York:Springer, 2008; 623p.
- LI, T. et al. Uncertainties in predicting rice yield by current crop models under a wide range of climatic conditions. **Global Change Biology**, v.21, p.1328-1341, 2015.
- LIN, M.T. et al. A faster Rubisco with potential to increase photosynthesis in crops. **Nature**, v.513, p.547-550, 2014.
- LIU, H. et al. Yield formation of CO₂-enriched hybrid rice cultivar Shanyou 63 under fully open-air field conditions. **Field Crops Research**, v.108, p.93-100, 2008.
- MENEZES, V.G. et al. Red rice (*Oryza sativa*) resistant to the herbicides imidazolinones. **Planta Daninha**, v.27, p.1047-1052, 2009.
- MEROTTO, A. et al. Evolutionary and social consequences of introgression of nontransgenic herbicide resistance from rice to weedy rice in Brazil. **Evolutionary Applications**, v.9, p.837-846, 2016.
- NOAA - National Oceanic and Atmospheric Administration. Disponível em <<https://www.esrl.noaa.gov/gmd/ccgg/trends/>>. Acesso em: 10 abr. 2017.
- OBIRIH-OPAREH, N.; ONUMAH, J.A. Climate Change Impact Pathways on Agricultural Productivity in Africa: A Review. **Journal of Environment and Earth Science**, v.4, p.1-7, 2014.
- PARRY, M.A.J. et al. Rubisco regulation: a role for inhibitors. **Journal of Experimental Botany**, v.59, p.1569-1580, 2008.
- POORTER, L.; KITAJIMA, K. Carbohydrate storage and light requirements of tropical moist and dry forest tree species. **Ecology**, v.88, p.1000-1011, 2007.
- ROSO, A.C. et al. Bioassays for diagnosis of resistance to the herbicides imidazolinones in rice plants. **Planta Daninha**, v.28, p.411-419, 2010.
- SHIMONO, H.; OKADA, M. Plasticity of rice tiller production is related to genotypic variation in the biomass response to elevated atmospheric CO₂ concentration and low temperatures during vegetative growth. **Environmental and Experimental Botany**, v.87, p.227-234, 2013.

SHIVRAIN, V.K. Genetic diversity of weedy red rice (*Oryza sativa*) in Arkansas, USA. **Weed Research**, v.50, p.289-302, 2010.

SOSBAI. **Arroz Irrigado**: Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil. In: Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado - SOSBAI:Pelotas, 2016. 200p.

SUDIANTO, E. et al. Morphology of Malaysian Weedy Rice (*Oryza sativa*): Diversity, Origin and Implications for Weed Management. **Weed Science**, v.64, p.501-512, 2016.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 5 ed. Porto Alegre:Artmed, 2013; 820p.

TOKATLIDIS, I.S. Adapting maize crop to climate change. **Agronomy for Sustainable Development**, v.33, p.63-79, 2013.

VÁRY, Z. et al. The severity of wheat diseases increases when plants and pathogens are acclimatized to elevated carbon dioxide. **Global Change Biology**, v.21, p.2661-2669, 2015.

WANG, X. et al. Management outweighs climate change on affecting length of ricegrowing period for early rice and single rice in China during1991–2012. **Agricultural and Forest Meteorology**, v.233, p.1-11, 2017.

YANG, L.X. et al. The impact of free-air CO₂ enrichment (FACE) and N supply on yield formation of rice crops with large panicle. **Field Crops Research**, v.98, p.141-150, 2006.

YANG, F. et al. Battle through signaling between wheat and the fungal pathogen *Septoria tritici* revealed by proteomics and phosphoproteomics. **Molecular & Cellular Proteomics**, v.12, p.2497-2508, 2013.

ZHU, C. et al. The temporal and species dynamics of photosynthetic acclimation in flag leaves of rice (*Oryza sativa*) and wheat (*Triticum aestivum*) under elevated carbon dioxide. **Physiologia Plantarum**, v.145, p.395-405, 2012.

ZHU, C. et al. Biochemical and molecular characteristics of leaf photosynthesis and relative seed yield of two contrasting rice cultivars in response to elevated [CO₂]. **Journal of Experimental Botany**, v.65, p.6049-6056, 2014.

ZISKA, L.H.; GOINS, E.W. Elevated atmospheric carbon dioxide and weed populations in glyphosate treated soybean. **Crop Science**, v.46, p.1354-1359, 2006.

ZISKA, L.H.; MCCLUNG, A. Differential Response of Cultivated and Weedy (Red) Rice to Recent and Projected Increases in Atmospheric Carbon Dioxide. **Agronomy Journal**, v.100, p.1259-1263, 2008.

ZISKA, L.H. et al. Recent and Projected Increases in Atmospheric CO₂ Concentration Can Enhance Gene Flow between Wild and Genetically Altered Rice (*Oryza sativa*). **Plos One**, v.7, p.1-6, 2012.

ZISKA, L.H. et al. Assessment of cultivated and wild, weedy rice lines to concurrent changes in CO₂ concentration and air temperature: determining traits for enhanced seed yield with increasing atmospheric CO₂. **Functional Plant Biology**, v.41, p.236-243, 2014.

ZISKA, L.H. et al. The role of climate change and increasing atmospheric carbon dioxide on weed management: Herbicide efficacy. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v.231, p.304-309, 2016.

6 CONCLUSÕES GERAIS

Há grande variabilidade genética e fenotípica entre os tipos morfológicos de arroz-daninho proveniente dos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Este polimorfismo é evidenciado pela possibilidade de agrupar os biótipos de arroz-daninho em pelo menos 14 grupos distintos quanto às características fenotípicas qualitativas e quantitativas. Os 249 biótipos de arroz-daninho coletados em diferentes regiões orizícolas dos estados do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina são da subespécie *indica*.

O alto nível de expressão de *HSFA2a* para estresse por alta temperatura e de *HSFA7* para o estresse de déficit hídrico, e de *HSPs* (*HSP24.15*, *HSP74.8* e *HSP80.2*) para ambos os estresses, demonstram que estes têm papel fundamental no mecanismo de defesa contra estresses abióticos. O período de 10 dias de déficit hídrico no período vegetativo alteram o metabolismo, expressão gênica de proteínas de choque térmico (*HSPs*) e caracteres morfológicos de plantas de arroz e arroz-daninho, mas não afetam a sua produtividade. O estresse de 42°C por 2 horas no período vegetativo alteram o metabolismo, expressão de genes *HSPs* e caracteres morfológicos de plantas de arroz e arroz-daninho e diminuem sua produtividade.

A concentração de CO₂ atmosférico, ambiente e elevada, não afeta a interação do herbicida imazethapyr com o biótipo resistente aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas. Os biótipos de arroz-daninho resistente e suscetível aos herbicidas do grupo químico das imidazolinonas conduzidos em elevada concentração de CO₂ atmosférico (700 ppm) aumentam a produtividade em 15,4% em relação aos que crescem em condição de CO₂ ambiente (400 ppm). Os biótipos de arroz-daninho sob elevada concentração de CO₂, apresentam maior estatura e maior taxa fotossintética e menor condutância estomática, transpiração e esterilidade de espiguetas.

VITA

Leonard Bonilha Piveta é filho de Avelino Mario Piveta e Ana Beatriz Urquiza Bonilha. Nasceu em 10 de setembro de 1986, no Município de Dom Pedrito, Rio Grande do Sul. Formou-se pelo Colégio da Urcamp onde em concomitância fez o curso profissionalizante de Técnico em Informática – Dom Pedrito/RS, no ano de 2004. No ano de 2005 ingressou na Faculdade de Agronomia “Eliseu Maciel” (FAEM) da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), onde se graduou como Engenheiro Agrônomo em 2010. No período de 2006 a 2009 desenvolveu atividades como estagiário do Departamento de Fitossanidade sob orientação do prof. Dr. Jesus Juarez Oliveira Pinto, na área de Herbologia, com ênfase na cultura do arroz irrigado e pastagens. Em 2010 após concluir estágio obrigatório de conclusão de curso nas Granjas 4 Irmãos S.A – Rio Grande/RS, foi efetivado como engenheiro agrônomo responsável pela implementação de pastagens e da lavoura de soja. Em 2011, iniciou o curso de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, em Capão do Leão/RS, com a conclusão em março de 2013. Após a conclusão do mestrado, no dia 3 de março, o aluno iniciou o Doutorado em Fitossanidade na Universidade Federal de Pelotas. No período de novembro de 2015 a novembro de 2016 realizou doutorado sanduíche na University of Arkansas, Fayetteville, AR, EUA com apoio financeiro do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).