



DESEMPENHO DE GERMINAÇÃO E CRESCIMENTO INICIAL DO ARROZ SILVESTRE (*Oryza australiensis*) COMPARADO COM O ARROZ CULTIVADO (*Oryza sativa*) EM CONDIÇÕES DE ALTA TEMPERATURA

LUIGI BENATI CARRARA; YUGO LIMA-MELO; JANETTE PALMA FETT

RESUMO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o alimento básico para praticamente metade da população mundial, sendo importante não só para alimentação e nutrição, como para práticas culturais. Considerando a existência de populações em risco de desnutrição, o aumento da produção de arroz evidencia-se como uma alternativa para a produção estável e segura de alimento. Além disso, diante do cenário atual e futuro de mudanças climáticas globais, os extremos de temperatura, incluindo altas temperaturas, são danosos ao cultivo de culturas socioeconomicamente importantes como o arroz. Frente a esse problema, trabalhos publicados recentemente demonstram que *Oryza australiensis*, uma espécie silvestre do gênero do arroz cultivado (*Oryza sativa*), possui metabolismo termotolerante a altas temperaturas. Entretanto, tal característica ainda não foi explorada no contexto de germinação e desenvolvimento inicial dessa espécie. Sendo assim, utilizando dois genótipos de *Oryza australiensis* (nomeados AUS7 e AUS13) e um genótipo do arroz cultivado *Oryza sativa* cv. Nipponbare (NIPP), o presente estudo objetivou testar se a possível característica de termotolerância dessa espécie silvestre de arroz está também relacionada a vantagens na germinação e desenvolvimento inicial em condições de alta temperatura. Para isso, analisou-se a taxa de germinação, comprimentos da parte aérea e da raiz, bem como a massa seca das plantas germinadas. Quatro temperaturas distintas foram testadas (30, 35, 40 e 45 °C) em um período de 7 dias, com 12 horas de luz e 12 horas de escuro. Comparados com *Oryza sativa*, os acessos de *O. australiensis* tiveram maiores taxas de germinação em temperaturas mais altas. Além disso, *O. australiensis* apresentou maior crescimento que *Oryza sativa* nas temperaturas de 40 e 45 °C. Conclui-se que *Oryza australiensis* possui características de termotolerância a altas temperaturas não apenas nos estágios vegetativo e reprodutivo, como já demonstrado na literatura, mas também no estágio de germinação e estabelecimento da planta. Acreditamos que *O. australiensis* possa fornecer um arsenal genético capaz de aumentar a resiliência térmica de *Oryza sativa* via melhoramento vegetal.

Palavras-chave: termotolerância; estresse; selvagens; calor; aquecimento global

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das três culturas de cereais mais importantes do mundo, sendo produzido por todo o globo (Prasad *et al.*, 2017). Em 2022 foram produzidas aproximadamente 800 milhões de toneladas de arroz, sendo essa cultura superada apenas pelo trigo e pelo milho (FAO, 2022). Estimativas apontam para uma

provável baixa no rendimento de arroz mundialmente por consequência das altas temperaturas provenientes do aquecimento global (Fahad & Wang, 2018). Com um acréscimo de aproximadamente 0,7 °C por década, estudos recentes mostram que o solo está mais propenso a sofrer extremos de temperatura que a atmosfera (García-García *et al.*, 2023). Os extremos de temperatura impactam as plantas negativamente, representando uma condição de estresse. Esses eventos climáticos apresentam grande risco às culturas de arroz, que é fonte do alimento básico de metade da população mundial (Prasad *et al.*, 2017), já que podem comprometer a principal produção de cereal de alguns países (FAO, 2022).

Os danos causados por estresses de alta temperatura quase sempre estão relacionados a prejuízos no complexo de evolução de oxigênio, na fixação de carbono e no sistema de geração de ATP no metabolismo vegetal (Allakhverdiev *et al.*, 2018). No crescimento e estado reprodutivo da planta, os danos são particularmente impactantes na diminuição de produção de perfilhos e panículas, no número de espiguetas por panícula e na fertilidade dessas panículas, além de reduzir o peso e crescimento da planta em geral (Xu *et al.*, 2020). No contexto de germinação, define-se estresse por calor em plantas a situação em que a mesma se encontra a 5°C ou mais que a sua temperatura ideal de germinação (Buchanan *et al.*, 2015).

Plantas possuem diferentes respostas em defesa ao estresse térmico, incluindo adaptações morfológicas, como alteração na orientação de folhas, resfriamento por transpiração e alteração na composição da membrana lipídica (Wahid *et al.*, 2007). Aumento da transcrição e tradução das proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*, HSPs) sob controle dos fatores de transcrição de choque térmico (*heat shock factors*, HSFs) são essenciais para a proteção de estruturas proteicas em condição de altas temperaturas (Buchanan *et al.*, 2015; Kotak *et al.*, 2007). Estudos mostram que outras proteínas além das HSPs estão associadas a resposta do estresse térmico. Por exemplo, ubiquitinas, proteínas abundantes na embriogênese tardia (LEA) e deidrinas parecem ter função protetora para estruturas subcelulares e celulares contra desidratação e dano oxidativo (Huang & Xu, 2008).

Diante desse problema, o arroz cultivado é especialmente suscetível, ou menos tolerante, ao estresse por alta temperatura durante seu desenvolvimento quando comparado a algumas outras espécies do mesmo gênero (Sanchez *et al.*, 2014). A enzima rubisco apresenta reconhecida importância para o funcionamento da fotossíntese nas plantas (Andersson & Backlund, 2008) e é suscetível as mudanças de temperatura, tendo sua ativação pela rubisco ativase diminuída em condições de estresse térmico (Crafts-Brandner & Salvucci, 2000). Dentre as espécies do gênero, *Oryza australiensis* apresenta uma tolerância significativa ao calor que tem sido atribuída à maior estabilidade da rubisco ativase em condições de alta temperatura em comparação com a rubisco ativase de *O. sativa* (Scafaro *et al.*, 2016). Assim, *Oryza australiensis* tem se mostrado como uma possível fonte genética para o melhoramento do arroz cultivado, vindo a beneficiar e auxiliar as populações dependentes do consumo do mesmo (Sanchez *et al.*, 2014; Kin, 2021).

Apesar das evidências de que *Oryza australiensis* é mais tolerante a altas temperaturas do que *Oryza sativa*, não há estudos focados na possível termotolerância dessa espécie nos estágios de germinação e crescimento inicial da plântula, que são etapas críticas para o estabelecimento das plantas e consequente sucesso na produção agrícola. Assim, o presente estudo traz como objetivo testar a tolerância térmica de *Oryza australiensis* em comparação com a de *O. sativa* durante a germinação e o

crescimento inicial.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Material vegetal

Sementes de *Oryza sativa* cv Nipponbare (NIPP) e dois genótipos de *O. australiensis* (AUS7 e AUS13) foram descascadas e submetidas a assepsia com hipoclorito de sódio 0,5% por 1 min. As sementes descascadas e higienizadas foram postas para germinação em placas de petri contendo papel filtro redondo umedecido com 8 mL de água. As placas foram vedadas com plástico filme visando a prevenção de evaporação ao longo do experimento.

2.2. Tratamentos

Para os tratamentos de temperatura, as sementes foram colocadas em câmaras de germinação do tipo BOD, com fotoperíodo de luz/escuro de 12/12 h, sendo a temperatura da noite de 30 °C em todos os tratamentos. As temperaturas testadas, que ocorriam durante o fotoperíodo de luz, foram de 30, 35, 40 e 45 °C. A temperatura de 50 °C não foi testada pois resultados anteriores do nosso grupo, ainda não publicados, mostraram que nenhum dos genótipos testados é capaz de germinar nessa temperatura. A intensidade luminosa em todas as condições era de $65 \pm 5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. As condições foram mantidas por sete dias. Seis placas foram utilizadas para cada genótipo em cada tratamento, onde cada placa continha 5 sementes, formando, portanto, o seguinte desenho experimental: 3 genótipos (NIPP, AUS7 e AUS13) $\times$ 4 temperaturas (30, 35, 40 e 45 °C) $\times$ 6 placas de petri contendo cinco sementes cada ($n = 30$).

2.3 Coleta e parâmetros analisados

Ao final do sétimo dia, as placas de petri contendo as plantas/plântulas e sementes foram fotografadas e tiveram parte aérea e raiz/radícula medidas. A taxa de germinação foi calculada, na qual foram consideradas germinadas as sementes que possuísem pelo menos 0,5 cm de comprimento de radícula. As plantas germinadas foram coletadas e colocadas em estufa a 65°C por três dias para secagem e pesagem da massa seca. Para análise estatística os resultados de comprimento e peso foram submetidos ao teste de Tukey considerando $p < 0.05$.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos mostraram que a temperatura impactou a taxa de germinação, a massa seca da planta e os comprimentos de parte aérea e raiz em todos os genótipos, tendo *O. sativa* respostas diferentes dos genótipos de *O. australiensis* (Figura 1). As plantas de *Oryza sativa* cv Nipponbare (NIPP) apresentaram tendência degenerativa nas temperaturas mais altas. Aos 40 °C sua taxa de germinação atingiu metade do valor observado aos 30 °C e caiu para 0% aos 45 °C (Figura 2). Os dois genótipos de *O. australiensis* (AUS7 e AUS13) mostraram desenvolvimento mais tolerante às altas temperaturas quando comparados com *O. sativa*, apresentando taxa de germinação acima de 75% aos 40 °C e acima de 50% aos 45 °C (Figura 2).

O comprimento de raiz das plantas NIPP tiveram igualdade estatística nas 3 temperaturas testadas, apesar de haver uma clara tendência de inibição de crescimento a 40 °C, onde houve metade do comprimento radicular que as temperaturas de 30 e 35 °C (Figura 3). Em comparação, nas plantas AUS7 e AUS13 o comprimento da raiz

aumentou significativamente de 30 °C para 40 °C, e diminuiu significativamente de 40 °C para 45 °C, atingindo valores mínimos para germinação (Figura 3). O comprimento da parte aérea apresentou a mesma tendência do comprimento de raiz para as sementes de NIPP (Figura 4). Houve inibição significativa do crescimento de 30 °C para 40 °C, atingindo menos de um terço do tamanho observado aos 30 °C (Figura 4). AUS7 e AUS13 apresentaram diminuição significativa de parte aérea a partir dos 40 °C e uma inibição maior aos 45 °C.

Quanto à massa seca, houve uma tendência de queda relacionado ao aumento de temperaturas testadas nas plantas de NIPP, atingindo no tratamento de 40 °C 35% do valor observado aos 30 °C, apesar das diferenças não serem evidenciadas estatisticamente (Figura 5).

°C atingiu 35% do valor observado aos 30 °C. Os valores de massa seca em AUS7 foi semelhante nos tratamentos de 30, 35 e 40 °C, tendo perda de massa significativa aos 45 °C. Já AUS13 apresentou massa seca significativamente maior aos 35 °C quando comparado com 30°C, mas obteve inibição significativa aos 45 °C.

Estes resultados corroboram o efeito negativo do estresse por alta temperatura em sementes de *Oryza sativa* submetidas a temperaturas acima de 35 °C, como já observado por diversos autores (Marini *et al.*, 2012; Kilasi *et al.*, 2018; Wahab MMS *et al.*, 2020). A capacidade de germinação dos genótipos de *O. australiensis* confirma sua termotolerância já citada (Sanchez *et al.*, 2014; Kin, 2021). Na Figura 2, fica clara a tendência decrescente apresentada pelas plantas de *O. sativa* e uma estabilidade de germinação apresentada pelos genótipos de *O. australiensis* nos tratamentos testados. Quanto ao crescimento inicial, mensurado através da massa seca e dos comprimentos de parte aérea e radícula, também fica claro que a temperatura ótima para germinação e crescimento de *O. australiensis* é cerca de 5 °C a mais que a de *O. sativa* (35 °C em AUS7 e AUS13 e 30 °C em NIPP). Os resultados obtidos revelam que *Oryza australiensis* possui tolerância quanto à germinação e ao crescimento inicial sob condições de estresse de alta temperatura em comparação com a espécie cultivada, reforçando a ideia de que se trata de uma ótima candidata para aplicações em melhoramento vegetal nessas condições.

Figura 1: Placas de petri contendo plantas de *Oryza sativa* cv Nipponbare (NIPP) e dois genótipos de *Oryza australiensis* (AUS7 e AUS13) submetidas à germinação por sete dias a 30, 35, 40 e 45 °C.

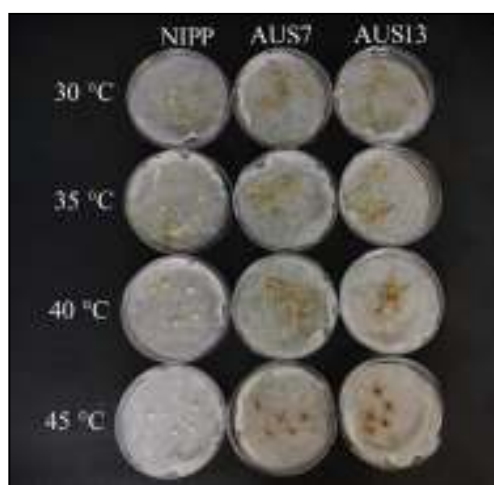


Figura 2: Taxa de germinação de *Oryza sativa* cv Nipponbare (NIPP) e dois genótipos de *Oryza australiensis* (AUS7 e AUS13) submetidas à germinação por sete dias a 30, 35, 40 e 45 °C. As barras de erro representam o erro padrão.

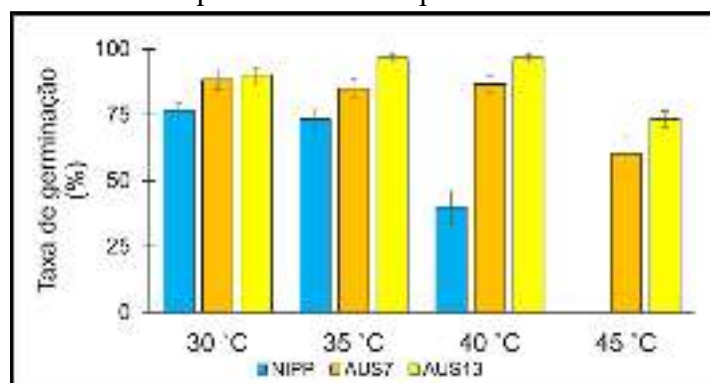


Figura 3: Comprimento da raiz de plantas de *Oryza sativa* cv Nipponbare (NIPP) e dois genótipos de *Oryza australiensis* (AUS7 e AUS13) submetidas à germinação por sete dias a 30, 35, 40 e 45 °C. As barras de erro representam o erro padrão. Os dados foram comparados com análise por teste de Tukey considerando $p < 0.05$. Diferenças estatísticas entre genótipos em um mesmo tratamento são representadas por diferentes letras maiúsculas. Diferenças estatísticas de um mesmo genótipo em diferentes temperaturas são representadas por diferentes letras minúsculas.

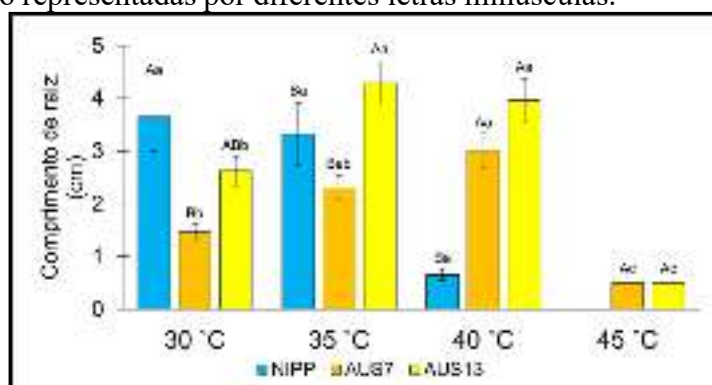


Figura 4: Comprimento da parte aérea de plantas de *Oryza sativa* cv Nipponbare (NIPP) e dois genótipos de *Oryza australiensis* (AUS7 e AUS13) submetidas à germinação por sete dias a 30, 35, 40 e 45 °C. As barras de erro representam o erro padrão. Os dados foram comparados com análise por teste de Tukey considerando $p < 0.05$. Diferenças estatísticas entre genótipos em um mesmo tratamento são representadas por diferentes letras maiúsculas. Diferenças estatísticas de um mesmo genótipo em diferentes temperaturas são representadas por diferentes letras minúsculas.

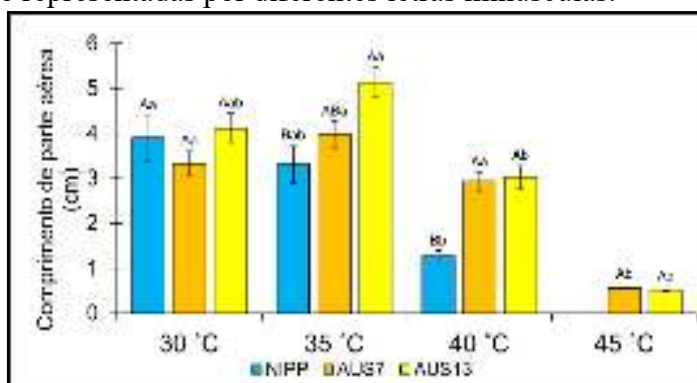
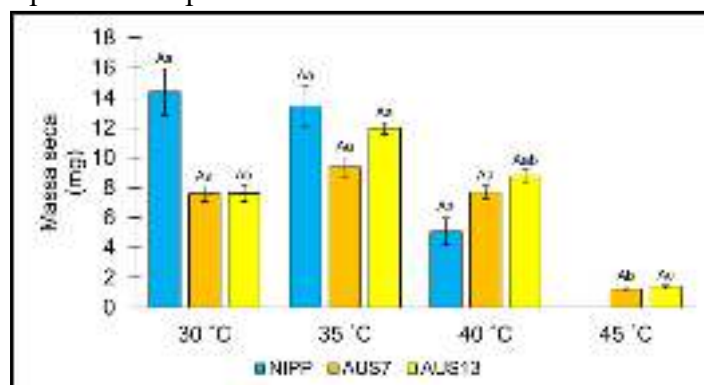


Figura 5: Massa seca de plantas de *Oryza sativa* cv Nipponbare (NIPP) e dois genótipos de *Oryza australiensis* (AUS7 e AUS13) submetidas à germinação por sete dias a 30, 35, 40 e 45 °C. As barras de erro representam o erro padrão. Os dados foram comparados com análise por teste de Tukey considerando $p < 0.05$. Diferenças estatísticas entre genótipos em um mesmo tratamento são representadas por diferentes letras maiúsculas. Diferenças estatísticas de um mesmo genótipo em diferentes temperaturas são representadas por diferentes letras minúsculas.



4 CONCLUSÃO

No presente estudo testamos a tolerância térmica de dois genótipos da espécie silvestre de arroz *Oryza australiensis*, comparados à espécie cultivada *Oryza sativa* cv Nipponbare. Concluímos que sementes e plantas de *O. australiensis*, comparativamente com *O. sativa*, possuem maior taxa de germinação e crescimento inicial quando se encontram sob estresse térmico. Dessa forma, evidencia-se que *O. australiensis* apresenta características de termotolerância também em seus estágios iniciais, e não apenas nos estágios vegetativos e reprodutivos (Phillips *et al.*, 2022). Com os resultados obtidos até aqui, evidenciamos a termotolerância da espécie silvestre de arroz *O. australiensis*. Trabalhos adicionais são necessários para reforçar a possibilidade de uso do arsenal genético que *O. australiensis* oferece para o melhoramento da termotolerância do arroz cultivado. Nosso grupo está atualmente testando o desempenho de *O. australiensis* no contexto de ondas de calor, com o objetivo de investigar a termotolerância dessa espécie em condições climáticas mais próximas àquelas ocorridas em plantações de arroz (Guo *et al.*, 2023).

REFERÊNCIAS

- ALLAKHVERDIEV, S.I., KRESLAVSKI, V.D., KLIMOV, V.V. *et al.* Heat stress: an overview of molecular responses in photosynthesis. **Photosynth Res** **98**, 541–550 (2008)
- ANDERSSON, I. & BACKLUND, A. Structure and function of Rubisco. **Plant Physiology and Biochemistry** **46**, 275–291 (2008).
- BUCHANAN, B. B.; GRUISSEM, W., & JONES, R. L. (Eds.). (2015). **Biochemistry and Molecular Biology of Plants**. 2. ed., Wiley-Blackwell, 2015. 1280 p.

CRAFTS-BRANDNER, S. J. & SALVUCCI, M. E. Rubisco activase constrains the photosynthetic potential of leaves at high temperature and CO₂. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.** **97**, 13430–13435 (2000).

FAHAD, S.; WANG, J. Farmers' risk perception, vulnerability, and adaptation to climate change in rural Pakistan. **Land Use Policy**, n. 79, p. 301–309, 2018.

FAO. 2023. Agricultural production statistics 2000–2022. **FAOSTAT Analytical Briefs, No.79**. Rome.

GARCÍA-GARCÍA, A.; CUESTA-VALERO, F. J.; MIRALLES, D. G. et al. Soil heat extremes can outpace air temperature extremes. **Nat. Clim. Chang.** **13**, 1237–1241 (2023).

GUO, S. *et al.* Concurrence of microplastics and heat waves reduces rice yields and disturbs the agroecosystem nitrogen cycle. **Journal of Hazardous Materials** **452**, 131340 (2023).

HUANG, B. & XU, C. Identification and Characterization of Proteins Associated with Plant Tolerance to Heat Stress. **Journal of Integrative Plant Biology** **50**, 1230–1237 (2008).

KILASI, N. L. *et al.* Heat Stress Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.): Identification of Quantitative Trait Loci and Candidate Genes for Seedling Growth Under Heat Stress. **Front. Plant Sci.** **9**, (2018).

KIN, A. C. Análise do perfil ionômico e de respostas ao estresse por calor em acessos de *Oryza australiensis*. 2021. 80 p.

KOTAK, S, JANE LARKNDALE, UNG LEE, PASCAL VON KOSKULL-DÖRING, ELIZABETH VIERLING, KLAUS-DIETER SCHARF. Complexity of the heat stress response in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, Volume 10, Issue 3, Pages 310–316, 2007.

MARINI, P., MORAES, C. L., MARINI, N., MORAES, D. M. D. & AMARANTE, L. D. Alterações fisiológicas e bioquímicas em sementes de arroz submetidas ao estresse térmico. **Rev. Ciênc. Agron.** **43**, 722–730 (2012).

PHILIPS, A.L., SCARAFO, A.P. & ATWELL, B.J. Photosynthetic traits of Australian wild rice (*Oryza australiensis*) confer tolerance to extreme daytime temperatures. **Plant Mol Biol** **110**, 347–363 (2022).

PRASAD, R.; SHIVAY, Y.S.; KUMAR, D. Current Status, Challenges, and Opportunities in Rice Production. In: Chauhan, B., Jabran, K., Mahajan, G. (eds) **Rice Production Worldwide**. Springer, Cham. 2017.

SANCHEZ, P. et al. The Wild Relative of Rice: Genomes and Genomics. In: Q. Zhang and R.A. Wing (eds.), **Genetics and Genomics of Rice, Plant Genetics and**

Genomics: Crops and Models 5. Springer Science Business Media New York, 2014.

SCAFARO AP, GALLÉ A, VAN RIE J, CARMO-SILVA E, SALVUCCI ME, ATWELL BJ. Heat tolerance in a wild *Oryza* species is attributed to maintenance of Rubisco activation by a thermally stable Rubisco activase ortholog. **New Phytol.** 2016.

WAHAB MMS, AKKAREDDY S, SHANTHI P, LATHA P. Identification of differentially expressed genes under heat stress conditions in rice (*Oryza sativa* L.). **Mol Biol Rep.** 2020 Mar;47(3):1935-1948.

WAHID, S. GELANI, M. ASHRAF, M.R. FOOLAD. Heat tolerance in plants: An overview. **Environmental and Experimental Botany**, Volume 61, Issue 3, Pages 199-223, 2007.

XU, J., HENRY, A. & SREENIVASULU, N. Rice yield formation under high day and night temperatures—A prerequisite to ensure future food security. **Plant Cell & Environment** 43, 1595–1608 (2020).