

Mutação induzida como fonte de variabilidade para tolerância a temperaturas baixas no estágio de germinação em arroz irrigado

Juliana Vieira Raimondi¹, Fabiane da Rocha², Rubens Marschalek³ e Augusto Tullmann Neto⁴

Resumo – A tolerância a temperaturas baixas no estágio de germinação em cultivares de arroz irrigado é um método de controle eficiente para evitar os danos causados por este fenômeno de natureza abiótica e imprevisível. O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da mutação induzida na geração de variabilidade genética para tolerância a temperaturas baixas no estágio de germinação. Sementes de populações M_2 foram tratadas com raios gama e submetidas a temperatura de 14°C durante 28 dias. As respectivas linhagens e cultivares não tratados com raios gama serviram de comparação para certificação da presença de variabilidade genética nas populações M_2 . Houve grande variabilidade genética em todas as populações M_2 para taxa de germinação, comprimento de coleóptilo e radícula. Populações M_2 de SC 319, SC 333, SC 342, SC 213, Epagri 106, Epagri 107, Epagri 108 e Epagri 109 apresentaram maior tolerância à temperatura baixa do que as respectivas linhagens e cultivares não tratadas. A mutação induzida é eficiente na geração de variabilidade genética para tolerância a temperaturas baixas na germinação do arroz.

Termos para indexação: *Oryza sativa*, raios gama, seleção.

Induced mutation as a source of variability for cold tolerance of irrigated rice at the germination stage

Abstract – Tolerance to low temperatures in the germination stage of rice cultivars is an effective control method for avoiding the damage caused by this phenomenon of abiotic and unpredictable nature. This study was carried out to evaluate the efficiency of induced mutation in the generation of genetic variability for cold tolerance at the germination stage. M_2 seed families were treated with gamma rays and subjected to low temperature for 28 days. The respective lines and cultivars untreated with gamma rays were used for comparison to certify the presence of genetic variability in M_2 families. Great amount of variability for germination rate was observed in all M_2 families, as well as for length of the coleoptile and radicle. M_2 populations of SC 319, SC 333, SC 342, SC 213, Epagri 106, Epagri 107, Epagri 108 and Epagri 109 presented higher tolerance to low temperatures than the untreated line and cultivars. It was possible to select rice plants with tolerance to low temperatures during germination. It can be concluded that the induced mutation is effective in generating variability for this feature.

Index terms: *Oryza sativa*, gamma rays, selection.

Introdução

No sul do Brasil é comum a ocorrência de baixas temperaturas durante o estágio de germinação do arroz. No Estado do Rio Grande do Sul a temperatura média no mês de outubro, quando o arroz é semeado, é de 12°C (Cruz et al., 2006b). Em Santa Catarina, especialmente em regiões de altitude mais elevada (Alto Vale do Itajaí), é frequente a ocorrência de temperaturas

abaixo de 20°C durante os estádios de germinação e emergência do arroz. Esse fenômeno é problema também em outros países, como Japão, China, Chile, USA e Austrália (Guorui, 1991; Tilquin e Detry, 1993; McKenzie et al., 1994).

A ocorrência de baixas temperaturas no estágio de germinação das sementes é um dos estresses ambientais mais comuns na cultura do arroz irrigado, reduzindo não somente a taxa de germinação como também afetando o crescimento subsequente da plântula

em termos de acúmulo de matéria seca, o que reduz sobremaneira a produtividade do arroz irrigado. A tolerância genética dos cultivares de arroz a baixas temperaturas é extremamente importante, pois trata-se de um fator de natureza abiótica e imprevisível e, por isso, os efeitos negativos de sua ocorrência são de difícil controle.

Programas de melhoramento genético vêm buscando fontes de variabilidade para tolerância a baixas

Aceito para publicação em 26/9/11.

¹ Bióloga, M.Sc., Universidade Federal de Santa Catarina/Centro de Ciências Agrárias (CCA), Rod. Admar Gonzaga, 1.346, Florianópolis, SC, fone: (48) 3721-5333, email: jojuveira@terra.com.br.

² Eng.-agr, M.Sc., Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ), C.P. 83, 13418-900 Piracicaba, SP, fone: (19) 3429-4125, e-mail: fabinha_rocha@hotmail.com.

³ Eng.-agr, Dr., Epagri/Estação Experimental de Itajaí, Rodovia Antonio Heil, 6.800, 88301-970 Itajaí, SC, fone: (47) 3341-5224, e-mail: rubensm@epagri.sc.gov.br.

⁴ Eng.-agr, Dr., Universidade de São Paulo/Centro de Energia Nuclear na Agricultura (Cena), Av. Centenário, 303, 13416-000 Piracicaba, SP, fone: (19) 3429-4600, e-mail: tullmann@cena.usp.br.

temperaturas no estágio de germinação, a fim de transferir para cultivares elite. A literatura demonstra que genótipos de *O. sativa* subespécie *japonica* têm maior tolerância a temperaturas baixas do que genótipos da subespécie *indica* (Yoshida, 1981; Cruz et al. 2006a).

O programa de melhoramento genético de arroz irrigado da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri), na Estação Experimental de Itajaí (EEI), tem utilizado a hibridação controlada seguida do método genealógico como principal ferramenta para o desenvolvimento de cultivares. Na busca por genótipos tolerantes a baixas temperaturas, cruzamentos de *indica* com *japonica* vêm sendo realizados. No entanto, esse tipo de cruzamento aumenta consideravelmente o tempo despendido no processo de melhoramento genético devido à necessidade de retrocruzamentos a fim de diminuir a presença de algumas características indesejáveis provenientes do genótipo *japonica*, como grãos curtos e arredondados com presença de muitos pelos e amilose baixa, afetando a qualidade do grão.

A mutação induzida através de mutagênicos físicos e químicos tem auxiliado o melhoramento de arroz no intuito de gerar variabilidade genética (Tulmann Neto et al., 2011). Para arroz já existem protocolos bem estabelecidos com mutação induzida, sendo os raios gama muito utilizados com esse objetivo. A vantagem desse mutagênico é a boa penetração nos tecidos vegetais (Montálván, 1999). Segundo Ishiy (1991), a dose de 25 krad de raios gama é ideal para gerar variabilidade e garantir sobrevivência das plântulas. Através dessa técnica, centenas de linhagens e de novos cultivares de grande importância econômica foram gerados no mundo (Maluszynski et al., 2000; Qosim et al., 2011).

O programa de melhoramento genético de arroz da Epagri na EEI tem realizado esforços contínuos com trabalhos de mutação induzida, o que contribuiu com o desenvolvimento do primeiro cultivar brasileiro originado por esse processo, a SCS114 Andosan (Ishiy et al., 2006). A mutação induzida é eficiente também para melhorar

outras características. Segundo Vieira et al. (2009), com base na variabilidade gerada por mutação induzida foi possível melhorar a produtividade, a estatura de planta, o ciclo e o rendimento de grãos inteiros de linhagens e cultivares de arroz irrigado.

Segundo Maluszynski et al. (1986) e Ishiy (1991), quase todas as características podem ser alteradas por mutação induzida, sendo muito requisitada quando se deseja alterar caracteres quantitativos. Malone et al. (2005) fizeram seleção em populações M_2 de arroz visando selecionar plantas tolerantes ao alumínio. Martins et al. (2007) e Amaral et al. (2007) utilizaram a mutação para selecionar genótipos de arroz tolerantes a temperaturas baixas nos estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo.

Características de herança qualitativa e quantitativa podem ser alteradas por mutação induzida, tais como altura da planta, rendimento de grãos, resistência ao acamamento e a doenças, ciclo, perfilhamento, qualidade do grão e tolerância a baixas temperaturas (Maluszynski et al. 1986; Ishiy, 1991).

O coleóptilo é a estrutura morfológica que melhor caracteriza a tolerância a baixas temperaturas na germinação (Amaral et al., 2007; Cruz e Milach, 2004; Rosso et al., 2005). Além do coleóptilo, o comprimento da radícula também é fator importante a ser considerado, uma vez que após a emergência a plântula de arroz se mantém de reservas da própria semente por 10 a 14 dias, sendo as raízes seminais responsáveis pela sustentação da planta. Esse sistema radicular é temporário, sendo substituído pelas raízes adventícias, que terão função essencial de absorver água e nutrientes, além da fixação da planta (Sosbai, 2007). Dessa forma, a rápida emissão da radícula é fundamental para a fixação da planta e posterior absorção dos nutrientes, garantindo um bom desenvolvimento da plântula.

A taxa de germinação também é um requisito importante, e considera-se uma semente germinada apenas aquela com radícula e coleóptilo claramente emitidos, o que é considerado fundamental para melhor vigor na emergência e no estabelecimento das plântulas.

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência da mutação induzida na geração de variabilidade genética para tolerância a temperaturas baixas durante o estágio de germinação do arroz.

Material e métodos

O trabalho foi realizado na Epagri/ Estação Experimental de Itajaí em maio de 2008.

Material vegetal

Foram avaliadas sete linhagens e quatro cultivares da EEI (totalizando onze genótipos), os quais foram tratados com raios gama e avaliados juntamente com os respectivos cultivares e linhagens não tratados (Tabela 1).

Mutação induzida

A irradiação foi realizada no Centro de Energia Nuclear na Agricultura (Cena), Instituição de pesquisa da Universidade de São Paulo (USP), em Piracicaba, SP. O mutagênico físico utilizado foi raios gama na dosagem de 25 krad. Foram utilizados 100 gramas de sementes de cada material, os quais foram encaminhados para a EEI imediatamente após a irradiação.

Condução do experimento

As sementes irradiadas (M_1) foram cultivadas em parcelas de dez linhas com quatro metros (150 plantas) e colhidas na forma de *bulk*, cujas sementes M_2 foram utilizada no estudo. As sementes da população M_2 foram distribuídas em papel germitest (40 x 40cm) umedecidos com água destilada e mantidas em bandejas. Foram realizadas 6 repetições com 60 sementes por repetição dos materiais irradiados e 4 repetições com 30 sementes dos não tratados. Os materiais não tratados foram avaliados em menor quantidade de semente devido ao fato de serem estáveis geneticamente e, portanto, não devem apresentar variabilidade genética para a característica em estudo. As sementes tratadas e as não tratadas dos onze genótipos foram submetidas a temperaturas baixas

Tabela 1. (A) cultivares e (B) linhagens de arroz irrigado da Epagri/EEI utilizados para avaliação da tolerância a temperaturas baixas no estágio de germinação. Epagri, 2011

Cultivar/linhagem	Genealogia	Subespécie
A. Epagri 106	CT-7363-13-5-7-M	<i>indica</i>
A. Epagri 107	CNA 5259	<i>indica</i>
A. Epagri 108	CT-8008-16-31-3P-M	<i>indica</i>
A. Epagri 109	CT-8008-16-10-41-M	<i>indica</i>
B. SC 339	RCN-B-93-193/Epagri 108	<i>indica</i>
B. SC 319	Epagri 107/Roxo//Epagri 109	<i>indica</i>
B. SC 378	Epagri 107/ME//Epagri 107	<i>indica</i>
B. SC 333	Epagri 108/Drew	<i>indica</i>
B. SC 213	Epagri 108/SC 151	<i>indica</i>
B. SC 342	Epagri 109//Passarinho/Epagri 109	<i>indica</i>
B. SC 355	ME/Epagri 106//Epagri 106	<i>indica</i>

(14°C) durante 28 dias e fotoperíodo de 12h/12h, conforme proposto por Rosso et al. (2005)

Foram avaliadas: taxa de germinação, comprimento do coleóptilo e comprimento da radícula dos genótipos em M₂ comparando-se com os respectivos genótipos não tratados. Consideraram-se germinadas apenas sementes com coleóptilo e radícula emitidos, ou seja, claramente expostos (Figura 1).

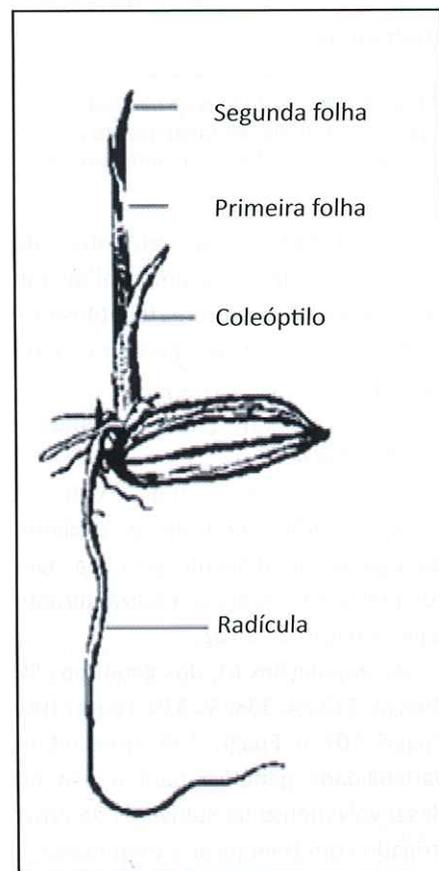


Figura 1. Fisiologia de plântulas de arroz

Análise dos dados

Foi utilizado o delineamento inteiramente ao acaso com quatro repetições. As médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Skott-Knott a 5% de probabilidade. A análise dos dados foi efetuada separadamente para cada teste, empregando-se o programa Genes (Cruz, 2006).

Resultados e discussão

A partir da média do comprimento do coleóptilo e da radícula das populações M₂ comparadas com as respectivas não tratadas, observa-se que o mutagênico físico raios gama foi eficiente na geração de variabilidade para tolerância a temperaturas baixas durante a germinação em arroz. Os genótipos de SC 319, SC 333, SC 213, SC 342, Epagri 106, Epagri 107 e Epagri 108 foram considerados suscetíveis

Tabela 2. Porcentagem de germinação em populações M₂ tratadas com raios gama e das respectivas (A) linhagens e (B) cultivares não tratados, submetidos a 14°C e o controle, padrão para germinação de arroz a 25°C. Epagri, 2011

Linhagem/cultivar	14°C		25°C	
	M ₂	Não tratado	M ₂	Não tratado
A. SC 339	3,3	5,8	90,0	88,3
A. SC 319	9,2	2,5	96,0	90,0
A. SC 378	0,0	0,8	82,0	93,3
A. SC 333	15,0	0,0	94,0	85,0
A. SC 213	22,5	0,0	96,0	88,3
A. SC 342	19,2	0,0	80,0	83,3
A. SC 355	0,8	1,7	86,0	91,7
B. Epagri 106	28,3	0,0	86,0	91,7
B. Epagri 107	5,0	0,0	98,0	96,7
B. Epagri 108	5,0	0,0	94,0	91,7
B. Epagri 109	0,0	0,0	96,0	93,3

a temperaturas baixas e, após serem submetidos à mutação induzida, observa-se a partir de plântulas M₂ considerável variabilidade para a característica.

Não houve diferença significativa entre os M₂ e genótipo não tratado nas linhagens SC 339, SC 378 e SC 355. Possivelmente, nessas linhagens a mutação induzida não causou alterações genéticas que favoreçam a característica tolerância a temperaturas baixas. Para as demais linhagens e cultivares, as plântulas M₂ diferem das respectivas não tratadas. No comprimento médio da radícula houve diferença significativa entre os tratados em relação aos não tratados, com exceção do cultivar Epagri 109.

A temperatura de 25°C é considerada ideal para a germinação do arroz. Populações M₂ e os respectivos cultivares e linhagens não tratados tiveram germinação variando de 85% a 95% quando submetidos a essa temperatura.

Em condições de baixa temperatura (14°C) a germinação variou de zero a 28,3% nas onze populações M₂, e de zero a 6% no genótipo não tratado (Tabela 2). Populações M₂ de SC 333, SC 213, SC 342 e Epagri 106 apresentaram considerável porcentagem de germinação (15%, 23%, 18% e 28%, respectivamente), enquanto os respectivos cultivares e linhagens sem tratamento não germinaram.

As linhagens não tratadas SC 339, SC 378 e SC 355 apresentaram taxa de germinação superior às respectivas populações M₂; logo, a indução de

variabilidade não foi eficaz. No cultivar Epagri 109 não houve germinação nas plântulas M_2 nem no cultivar não tratado. A germinação do mutante SC 319 foi de 9%, ao passo que sua linhagem não mutante foi de aproximadamente 3%

A porcentagem de germinação obtida nas populações M_2 , quando submetidas a 14°C, é um resultado importante para seleção de plantas tolerantes à temperatura baixa, principalmente pelo fato de que em Santa Catarina não ocorre frio intenso num período de 28 dias. Logo, qualquer genótipo selecionado nessa condição será recomendado não apenas para Santa Catarina, mas também para outros locais, como o Rio Grande do Sul, onde o período de frio é maior.

Houve grande variabilidade em populações M_2 quanto ao comprimento do coleótilo e da radícula (Figura 2A e 2B). O comprimento do coleótilo variou de 0 a 18mm nas populações M_2 , e a radícula variou de 0 a 17,8mm.

O cultivar Epagri 106 não tratado, não emitiu coleótilo nem radícula, porém a população M_2 desse cultivar teve coleótilo variando de zero a 5mm e radícula de zero a 1mm. Isso indica que o cultivar Epagri 106 é muito susceptível à temperatura baixa durante a germinação e que a mutação induzida possivelmente gerou variabilidade para esse fenótipo. Em plântulas M_2 de Epagri 109 houve considerável emissão de coleótilo. No entanto, nenhuma plântula emitiu radícula.

Pelo comprimento do coleótilo, plântulas M_2 se separam em quatro grupos, sendo destaque as populações de SC 213 e SC 342. Entre os não tratados houve a distinção de três grupos, e apenas a linhagem SC 339 apresentou coleótilo com mais de 7mm.

A partir do comprimento da radícula, a variabilidade entre as linhagens e cultivares tratados foi maior que o observado para o comprimento do coleótilo, sendo destaque plântulas M_2 de SC 342. Entre os não tratados houve a separação em três grupos e as linhagens SC 339, SC 378 e SC 355 foram superiores aos seus respectivos

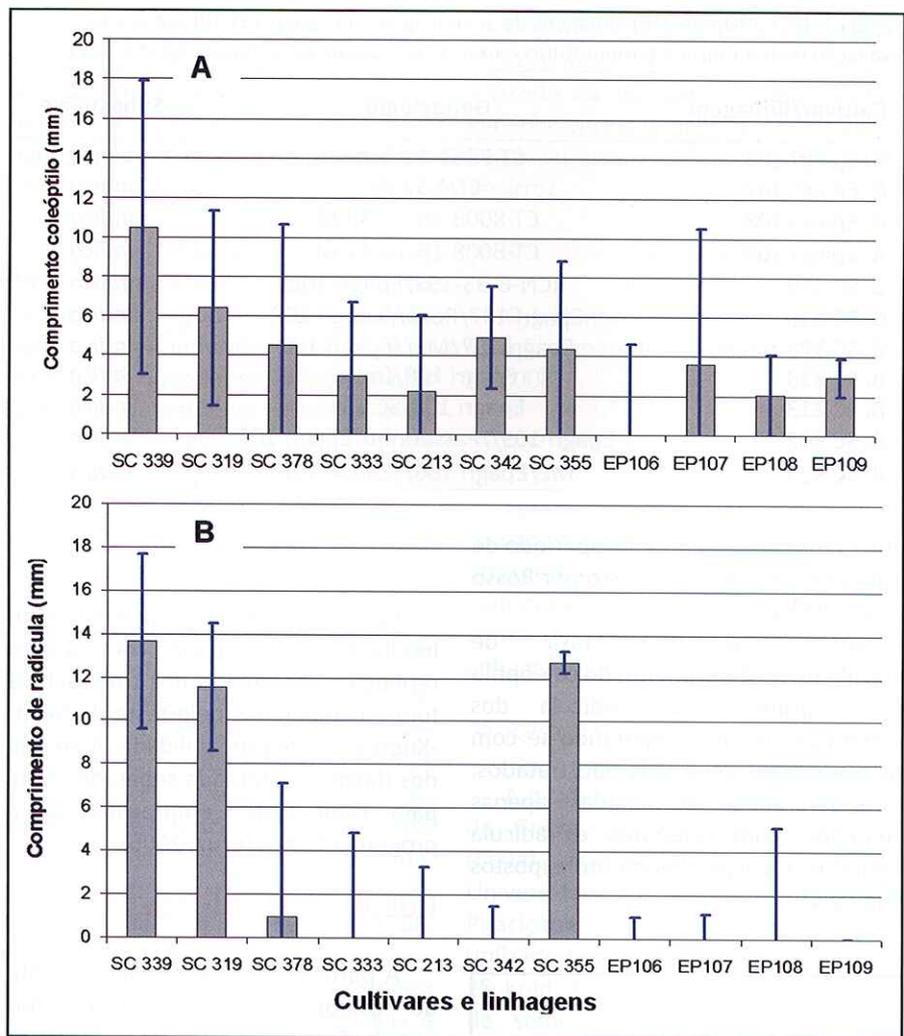


Figura 2. Variabilidade genética de populações M_2 de arroz irrigado (desvio padrão) comparadas com os respectivos cultivares e linhagens não tratados (coluna) quanto a (A) comprimento de coleótilo e (B) comprimento de radícula após 28 dias em temperatura baixa (14°C). Epagri, 2011

M_2 e aos demais não tratados. Os resultados apresentados indicam que existe variabilidade genética para tolerância a temperaturas baixas entre as populações M_2 e dentro delas, não sendo desprezível a variabilidade entre as linhagens e cultivares não tratados (Tabela 3).

Foi possível selecionar plântulas de arroz tolerantes a temperaturas baixas no estágio de germinação nas populações M_2 , com destaque para SC 342, SC 213, SC 333, SC 319, Epagri 106, Epagri 107 e Epagri 108 respectivamente.

A eficiência da mutação induzida em gerar variabilidade genética para tolerância a temperaturas baixas no estágio de germinação em arroz também foi comprovada por Martins

et al. (2007), com mutantes do cultivar BRS7 Taim. De um total de 240 populações M_2 , os autores identificaram 232 tolerantes à temperatura baixa (13°C).

Conclusões

A mutação induzida é eficiente para gerar variabilidade genética para tolerância à temperatura baixa durante a germinação do arroz.

As populações M_2 dos genótipos SC 342, SC 213, SC 333, SC 319, Epagri 106, Epagri 107 e Epagri 108 apresentam variabilidade genética para o uso no desenvolvimento de cultivares de arroz irrigado com tolerância a temperaturas baixas no estágio de germinação.

Tabela 3. Média do comprimento do coleóptilo e da radícula de populações M₂ e das respectivas (A) linhagens e (B) cultivares não tratados.⁽¹⁾ Epagri, 2011

Linhagem/cultivar	Comprimento coleóptilo (mm) ⁽¹⁾		Comprimento radícula (mm) ⁽¹⁾	
	M ₂	Não tratado	M ₂	Não tratado
A. SC 339	10,1 c A	10,5 a A	4,0 e B	15,0 a A
A. SC 319	18,9 b A	6,4 b B	14,0 c A	11,3 b B
A. SC 378	5,4 d A	4,5 b A	0,0 f B	1,0 c A
A. SC 333	16,9 b A	3,0 c B	16,0 b A	0,0 c B
A. SC 213	19,5 a A	2,2 c B	13,0 c A	0,0 c B
A. SC 342	19,9 a A	5,0 b B	19,0 a A	0,0 c B
A. SC 355	9,3 c A	4,4 b A	0,0 f B	15,0 a A
B. Epagri 106	15,4 b A	0,0 c B	8,5 d A	0,0 c B
B. Epagri 107	10,7 c A	3,6 c B	1,0 f A	0,0 c B
B. Epagri 108	9,4 c A	2,0 c B	7,0 e A	0,0 c B
B. Epagri 109	6,4 d A	3,0 c B	0,0 f A	0,0 c A
CV (%) ⁽²⁾	20,37	21,95	11,90	15,21

⁽¹⁾ Médias seguidas de mesma letra minúscula, na coluna, não diferem significativamente pelo teste de Skott-Knott; e médias seguidas de mesma letra maiúscula não diferem significativamente entre M₂ e não tratado pelo teste de Skott-Knott, ao nível de 5% de probabilidade.

⁽²⁾ Dados transformados em $(X + 0,5)^{1/2}$.

Literatura citada

- AMARAL, F.P.; FONSECA, S.F.; ZIMMER, D.P. et al. Utilização de populações mutantes de arroz no estudo da tolerância ao frio na germinação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 5.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 27., Pelotas, RS. **Anais...** Pelotas: Embrapa, 2007. p.201-202.
- CRUZ, C.D. **Programa Genes: Biometria**. Viçosa, MG: Editora UFV, 2006. 382p.
- CRUZ, R.P.; MILACH, S.C.K. Cold tolerance at the germination stage of rice: methods of evaluation and characterization of genotypes. **Sci. Agric.**, v.61, n.1, p.1-8, 2004.
- CRUZ, R.P.; MILACH, S.C.K.; FEDERIZZI, L.C. Inheritance of rice cold tolerance at the germination stage. **Genetics and Molecular Biology**, v.29, n.2, p.314-320, 2006a.
- CRUZ, R.P.; MILACH, S.C.K.; FEDERIZZI, L.C. Rice cold tolerance at the reproductive stage in a controlled environment. **Sci. Agric.**, v.63, n.3, p.255-261, 2006b.
- GUORUI, Z. Advances in research on cold tolerance in rice. **Jiangsu Journal of Agricultural Sciences**, v.7, p.52-56, 1991.
- ISHIY, T.; SCHIOCCHET, M.A.; BACHA, R.E. et al. Rice Mutant Cultivar SCS 114 Andosan. **Plant Mutation Reports**, v.1, n.2, p.25, 2006.
- ISHIY, T. **Desenvolvimento de genótipos mutantes de arroz (*Oryza sativa* L.) através de irradiação gama**. 1991. 67f. Tese (Doutorado em Agronomia), Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Botucatu, SP, 1991.
- MALONE, E.; SILVA, J.A.G. da; MARTINS, A.F. et al. Análise comparativa entre genótipos mutantes de arroz (*Oryza sativa* L.) em relação a uma linhagem não mutada quanto a sua tolerância ao alumínio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4.; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 26., 2005, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: Orium, 2005. p.29-31.
- MALUSZYNSKI, M.; NICTERLEIN, K.; VAN ZANTEN, L. et al. Officially released mutant varieties. The FAO/IAEA Database. **Mutation Breeding Review**, n.12, 2000, 84p.
- MALUSZYNSKI, M.; MICKE, A.; DONINI, B. Genes for semi-dwarf in rice induced by mutagenesis. In: INTERNATIONAL RICE GENETIC SYMPOSIUM, 1986, Manila. **Proceedings...** Manila: International Rice Research Institute, 1986, p.729-737.
- MARTINS, A.F.; VIEIRA, E.A.; KOPP, M.M. et al. Caracterização de populações mutantes de arroz para tolerância ao frio nos períodos vegetativo e reprodutivo. **Bragantia**, Campinas, v.66, n.2, p.227-233, 2007.
- McKENZIE, K.S.; JOHNSON, C.W.; TSENG, S.T. et al. Breeding improved Rice cultivars for temperate regions: a case study. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, v.34, p.897-905, 1994.
- MONTÁLVAN, R. Mutação induzida. In: DESTRO, D.; MONTÁLVAN, R. **Melhoramento genético de plantas**. Londrina, PR: UEL, 1999. p.39-56.
- QOSIM, W.A.; PURWANTO, R.; WATTIMENA, G.A. Alteration of Leaf Anatomy of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Regenerants In Vitro by Gamma Irradiation. **Plant Mutation Reports**, v.2, n.3, abr. 2011, p.4-11.
- ROSSO, A.F.; CRUZ, R.P.; RICACHENEVSKY, F.K. Avaliação de geótipos de Arroz para tolerância ao frio nos estádios de germinação e plântula. CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 4., REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 26., Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria, RS: Orium, 2005. p.41-43.
- SOSBAI. Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Pelotas: Sosbai, 2007. 105p.
- TILQUIN, J.P.; DETRY, F. Efficiency of natural selection against cold-induced sterility in bulked families. **International Rice Research Notes**, v.18, p.33, 1993.
- TULMANN NETO, A.; ANDO, A.; FIGUEIRA, A. et al. Genetic Improvement of Crops by Mutation Techniques in Brazil. **Plant Mutation Reports**, v.2, n.3, abr. 2011. p.24-37.
- VIEIRA, J.; SCHIOCCHET, M.A.; TULMANN NETO, A. Melhoramento genético de arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) através de mutação induzida. CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 6., Porto Alegre, RS. **Anais...** Porto Alegre-RS: Palotti, 2009. p.30-33.
- YOSHIDA, S. Growth and development of the rice plant. In: **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981. cap.1, p.1-63. ■