

ACÚMULO DE FITOMASSA E TEOR DE CLOROFILA EM PLÂNTULAS DE CULTIVARES DE ARROZ SOB ESTRESSE POR FRIO

Caroline Borges Bevilacqua^{1*}; Carolina Terra Borges²; Eduardo Venske³; Andréia da Silva Almeida⁴; Paulo Dejalma Zimmer⁵

SAP 12252 Data envio: 14/06/2015 Data do aceite: 04/09/2015
Scientia Agraria Paranaensis – SAP; ISSN: 1983-1471
Marechal Cândido Rondon, v. 14, n. 4, out./dez., p. 229-233, 2015

RESUMO - O estresse por frio durante os estádios iniciais de desenvolvimento do arroz pode causar desuniformidade e diminuição na velocidade de germinação. O objetivo do presente estudo foi avaliar distintas cultivares de arroz quanto ao teor de clorofila e acúmulo de fitomassa, esta medida após um período de recuperação, em resposta a este estresse, procurando ainda estabelecer qual variável melhor serve na discriminação de genótipos para a característica em questão. Para tanto, foram utilizadas as cultivares Ambar, Diamante e Oro, consideradas tolerantes; BRS Fronteira e BRS Pampa, moderadamente tolerantes; IRGA 417, BRS Pelota, BRS Taim e BRS Sinuelo CL, tidas como sensíveis ao frio. O semeio foi realizado em copos de 0,2 L com substrato de vermiculita, em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições. Após sete dias a 25 °C as plântulas foram expostas a 4 °C durante 24 h e, logo após, foi estimado o teor de clorofila das plântulas. Posteriormente, estas plântulas ficaram durante 72 h a 25 °C para recuperação e, em seguida, foi coletado material para a medição das fitomassas secas. Houve diferenças expressivas entre os genótipos e grupos de genótipos para a massa seca de plântulas e teor de clorofilas, quando sob estresse por frio. Os teores de clorofila não são eficientes para distinguir cultivares de arroz, já a massa seca de raízes e total de plântulas, avaliada após um período de recuperação de estresse por frio, é efetiva na separação de genótipos de arroz sob este estresse, podendo ser utilizada como ferramenta para este propósito.

Palavras-chave: estresse abiótico, *Oryza sativa* L., desenvolvimento inicial.

Biomass accumulation and chlorophyll content in rice cultivars seedlings under cold stress

ABSTRACT - The cold stress during the early stages of rice development can cause uneven and decrease in germination rate. The aim of this study was to evaluate different rice cultivars related to the chlorophyll content and biomass accumulation, the latter measured after a period of recovery, in response to this stress, looking further establish which variable best serves the discrimination of genotypes for the trait in question. To this end, the follow cultivars were used: Ambar, Diamante and Oro, considered tolerant; BRS Fronteira and BRS Pampa, moderately tolerant; IRGA 417, BRS Pelota, BRS Taim and BRS Sinuelo CL, seen as sensitive to cold. The sowing was carried out in vessels of 0.2 L with vermiculite substrate in a completely randomized design with three replications. After seven days at 25 °C plants were exposed to 4 °C for 24 h and, after that, was estimated chlorophyll content of plants. Subsequently, these seedlings were left for 72 h at 25 °C for recovery and then, samples for the measurement of dry fitomassas were taken. There were significant differences between genotypes and groups of genotypes for the seedling dry weight and chlorophyll content when under stress by cold. The chlorophyll content are not efficient to distinguish rice cultivars, on the other hand, the dry mass of roots and total of seedlings, evaluated after a period of stress recovery by cold, is effective in separating rice genotypes under this stress and may be used as a tool for this purpose.

Key words: abiotic stress, *Oryza sativa* L., early development.

¹Bióloga, pós-doutoranda em Ciência do Solo, Departamento de Solos, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Maria, CEP 97105-900, Santa Maria, RS. E-mail: carolinebevi@gmail.com. *Autor para correspondência

²Engenheira agrônoma, doutoranda em Ciência e Tecnologia de Sementes, Departamento de Fitotecnia, FAEM / UFPel, Campus Universitário do Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS. E-mail: carol.tborges@hotmail.com

³Engenheiro agrônomo, doutorando em Agronomia, Área de Concentração em Fitomelhoramento, Departamento de Fitotecnia, FAEM / UFPel, Campus Universitário do Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS. E-mail: eduardo.venske@yahoo.com.br

⁴Bióloga, pós-doutoranda em Ciência e Tecnologia de Sementes, Departamento de Fitotecnia, FAEM / UFPel, Campus Universitário do Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS. E-mail: andreiasalmeida@yahoo.com.br

⁵Engenheiro agrônomo, Professor Adjunto do Departamento de Fitotecnia, FAEM / UFPel, Campus Universitário do Capão do Leão, Caixa Postal 354, CEP 96010-900, Pelotas, RS. E-mail: dejalma@msn.com

INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os dez maiores produtores de arroz (*Oryza sativa* L.) do mundo, sendo o maior produtor fora do continente asiático. O Estado do Rio Grande do Sul é o principal produtor brasileiro de arroz irrigado, apresentando uma área de cultivo estimada em 1,1 milhões de hectares e produção de 8,6 milhões de toneladas de grãos, correspondendo a 70% da produção nacional (CONAB, 2015).

No Rio Grande do Sul, o período ideal para a semeadura dessa cultura corresponde ao intervalo entre 15 de outubro a 15 de novembro, com as normais climatológicas de 30 anos registrando temperaturas em torno de 18,55 °C nesse período (EMBRAPA/UFPEL/INMET, 2011). No entanto, sabe-se que temperaturas inferiores a 20°C podem ser prejudiciais ao desenvolvimento e rendimento da cultura, já que a temperatura ótima para a fase de germinação do arroz é entre 20 °C e 35 °C (YOSHIDA, 1981). Temperaturas abaixo de 20 °C podem ocasionar injúrias, sendo que esse fator é considerado um dos estresses abióticos mais relevantes para a cultura do arroz. Portanto, estudos sobre tolerância ao frio em arroz utilizam temperaturas inferiores a 20 °C nas fases germinativa, vegetativa e reprodutiva (YOSHIDA, 1981).

Os genes que conferem a tolerância ao frio são oriundos de cultivares provenientes de países como Chile, Filipinas e Japão e pertencentes a subespécie *japonica*. No entanto, a maioria das cultivares utilizadas no Brasil pertence à subespécie *indica*, o que contribui para desuniformidade e redução na velocidade da germinação sob condições de estresse por temperatura (SOUZA, 1990). Essa redução na velocidade de germinação está relacionada ao retardo das reações metabólicas, podendo acarretar menor acúmulo de massa seca, devido ao possível retardo na metabolização dos produtos de reserva (MERTZ et al., 2009).

As clorofilas são os principais responsáveis pela captação de energia luminosa que é fundamental para a fotossíntese. Alterações no teor de clorofila podem ser decorrentes de estresses, o que interfere no desenvolvimento da planta assim como na produção de biomassa (LIMA et al., 2004; CANCELLIER et al., 2011). Sthapit e Witcombe (1998) destacaram que as características fisiológicas como produção de clorofila são controladas geneticamente e devem ser exploradas no melhoramento genético de arroz irrigado, uma vez que possuem altos valores de herdabilidade.

Após a planta ter passado por estresses abióticos, essa pode se recuperar totalmente dos danos sofridos. Isso foi demonstrado em plantas de arroz, as quais após exposição a condições de estresse abiótico por seca, essas foram avaliadas quanto à concentração de pigmentos fotossintetizantes e os resultados revelaram que as mesmas foram capazes de combater a fotoinibição causada pelo estresse (LOGGINI et al., 1999).

O objetivo do presente estudo foi avaliar cultivares de arroz tolerante, moderadamente tolerante e sensível ao frio em relação ao teor de clorofila e acúmulo de fitomassa, este medido após um período de recuperação, em resposta a este estresse, procurando ainda estabelecer qual variável melhor serve na avaliação e seleção de genótipos para a característica em questão.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi conduzido no Laboratório Biotecnológicas, Departamento de Fitotecnia - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (UFPEL). As cultivares de arroz utilizadas no experimento classificadas como tolerantes ao frio foram: Ambar, Diamante e Oro; medianamente tolerantes ao estresse: BRS Fronteira e BRS Pampa; e sensíveis: IRGA 417, BRS Pelota, BRS Taim e BRS Sinuelo CL.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com três repetições. O semeio foi realizado em copos plásticos de 0,2 L de capacidade (sete sementes por vaso), preenchidos com substrato vermiculita, e mantidos em câmara de crescimento regulada para 25 °C durante sete dias. Após esse período, as plântulas foram expostas a 4 °C durante 24 h e logo após, foram avaliados os teores de clorofilas. Posteriormente, as plântulas foram mantidas por 72 h a 25 °C para sua recuperação e, em seguida, foi coletado material para realizar as avaliações de massa seca. Esse tempo de recuperação é necessário para que sejam obtidas respostas fisiológicas de biomassa, conforme Rabbani et al. (2003) e Cruz e Milach (2004).

Determinação dos teores de clorofilas *a*, *b* e *totais*

O material coletado (0,1 g da parte aérea por repetição) foi transferido para tubos Falcon® com capacidade de 15 mL, os quais foram previamente revestidos com papel alumínio para evitar a incidência de luz. Nos tubos as amostras foram maceradas juntamente com 5 mL de Acetona a 80% (v/v). As amostras foram centrifugadas por 10 min à 5477,5 força g. Em seguida, o material foi filtrado com algodão, sendo o volume restante completado a 20 mL com Acetona a 80%. As absorbâncias foram obtidas em espectrofotômetro (modelo Ultrospec 2000), no comprimento de onda de 645nm (para determinação da clorofila *b*) e 663 nm (para determinação da clorofila *a*). Os resultados foram expressos em $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ de fitomassa seca (MS). Os teores de clorofilas (Chl) *totais*, *a* e *b* foram calculados por meio de equações (eq. 1, 2 e 3) estabelecidas por Kichtenthaler & Wellburn (1985):

$$\text{Chl } \textit{totais} = 7,15 (A_{663}) + 18,71 (A_{645}) \quad (\text{eq. 1})$$

$$\text{Chl } \textit{a} = 12,25 (A_{663}) - 2,79 (A_{645}) \quad (\text{eq. 2})$$

$$\text{Chl } \textit{b} = 21,50 (A_{645}) - 5,10 (A_{663}) \quad (\text{eq. 3})$$

Determinação da fitomassa após período de recuperação do estresse pelo frio

Após 72 h de recuperação à temperatura de 25°C, coletaram-se as plântulas, e separaram-se as partes aéreas e radiculares para a avaliação da fitomassa seca. Para tanto, a parte aérea e a parte da raiz foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em estufa a 70 °C por 24 h. Posteriormente, as repetições foram pesadas em balança analítica, com os resultados expressos em g plântula⁻¹ de massa seca de raízes e massa seca total (massa seca de raízes + massa seca de parte aérea).

Todos os dados foram transformados pela equação: $\sqrt{(\text{valor observado}+1)}$ e submetidos à análise de variância, com o auxílio do programa SISVAR (FERREIRA, 2011). As análises de variância foram realizadas aplicando-se o teste F e quando foi detectado efeito significativo foi realizado o teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade de erro.

RESULTADO E DISCUSSÕES

Os genótipos Ambar, Diamante e Oro que são enquadrados como tolerantes ao frio apresentaram massa seca das raízes (MSR) e massa seca total (MST) de plântulas significativamente maior aos demais genótipos avaliados (Tabela 1). Para estas variáveis, destaca-se que tanto as cultivares medianamente como as sensíveis ao frio apresentaram menores MSR e MST, porém não diferindo entre si. O genótipo Oro ainda se destacou dentro do grupo

das cultivares tolerantes ao frio, por apresentar maior MST, diferindo-se estatisticamente das demais.

Durante o estágio de plântula, o frio pode provocar atraso no desenvolvimento, redução na estatura, amarelecimento das folhas e redução do acúmulo de matéria seca (MERTZ et al., 2009). Especialmente, o estresse pelas baixas temperaturas diminui a biomassa devido à redução na absorção de água e nutrientes, assim como afeta a assimilação de CO₂ e, portanto, a fotossíntese (AGHAEI et al., 2011). Tendo sido confirmada a diferença em crescimento entre os genótipos em função do estresse, isto enfatiza a importância do melhoramento genético como ferramenta na atenuação do problema do frio no cultivo do arroz, já que, pela natureza do fator abiótico em questão, poucas são as estratégias disponíveis para mitigá-lo além do uso de cultivares tolerantes.

Para as variáveis relacionadas à clorofila, os teores de clorofila *a* foram mensurados, porém as cultivares não diferiram significativamente entre si (média geral= 2,53; C.V.=25,6%), o que sugere que o estresse aplicado não afetou estes genótipos para esse tipo de clorofila. Já para os teores de clorofila *b* e *totais* ocorreu diferença significativa, no entanto, não foi observado um padrão visível de resposta que distinguisse cultivares tolerantes, sensíveis e intermediárias, sob as condições estudadas no estágio inicial de desenvolvimento (Tabela 2).

TABELA 1. Massa seca de plântulas de cultivares de arroz tolerante, medianamente tolerante e sensível ao frio, mantidas por sete dias à 25 °C, seguido de exposição à 4 °C por 24 h e posterior 72 h de recuperação à 25 °C.

Resposta ao frio	Cultivar	MSR (g plântula ⁻¹)	MST (g plântula ⁻¹)
Tolerante	Ambar	0,003a	0,010b
	Diamante	0,003a	0,010b
	Oro	0,004a	0,012a
Medianamente tolerante	BRS Fronteira	0,001b	0,006c
	BRS Pampa	0,001b	0,008c
Sensível	IRGA 417	0,001b	0,007c
	BRS Pelota	0,001b	0,006c
	BRS Taim	0,001b	0,007c
	BRS Sinuelo CL	0,001b	0,006c
Média		0,002	0,008
C.V. (%)		0,04	0,06

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo Teste Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

TABELA 2. Teores de clorofilas *totais* e *b* de plântulas de cultivares de arroz tolerante, medianamente tolerante ou sensível ao frio, mantidas sete dias a 25 °C, seguido de exposição à 4 °C por 24 h.

Resposta ao frio	Cultivar	Clorofilas <i>totais</i> (µg.g ⁻¹)	Clorofila <i>b</i> (µg.g ⁻¹)
Tolerante	Ambar	9,85b	3,83b
	Diamante	1,96b	0,57b
	Oro	6,15b	1,89b
Medianamente tolerante	BRS Fronteira	16,54a	7,94a
	BRS Pampa	16,91a	7,63a
Sensível	IRGA 417	9,82b	4,22b
	BRS Pelota	15,18a	6,56a
	BRS Taim	13,60a	6,60a
	BRS Sinuelo CL	8,05b	3,27b
Média		10,37	2,23
C.V. (%)		18,44	19,96

*Médias seguidas por letras distintas, na coluna, diferem entre si pelo Teste de Scott-Knott ao nível de 5% de significância.

Em trabalho com cultivares de arroz sensíveis ao resfriamento foi verificada a redução no conteúdo total de clorofila nas folhas (AGHAEI et al., 2011), o que era também esperado neste trabalho, porém não foi observado. Um fator que pode estar relacionado às alterações da clorofila sob estresse pelo frio em plantas, é que essa situação pode provocar condições de anaerobiose, levando ao processo de fermentação alcoólica, e conseqüente aumento na produção de etanol e na síntese de álcool desidrogenase. Esse aumento na síntese de etanol pode ajudar na preservação da fluidez dos lipídeos da membrana (SALTVEIT et al., 2004; MERTZ et al., 2009). No entanto, o aumento da produção de etanol, juntamente com o de espécies reativas de oxigênio ou diminuição na síntese de antioxidantes, pode acarretar no incremento da peroxidação dos lipídeos insaturados presentes nas membranas e que ajudam na fluidez dessas, sendo esses lipídeos sensíveis à oxidação, levando a ruptura da membrana plasmática. O rompimento membranar acarreta a perda da clorofila e degradação da Rubisco (MARCONDES; GARCIA, 2009). A enzima álcool desidrogenase produz acetaldeído e NADH o qual pode ser utilizado na cadeia transportadora de elétrons (LEHNINGER et al., 1995), e com isso pode causar alterações na concentração das clorofilas e fotossíntese de modo geral.

Quanto à ausência de diferença entre os genótipos somente para os teores de clorofila *a*, isto também foi observado por Cancellier et al. (2011), que, com diferentes cultivares de arroz, as doses de nitrogênio utilizadas influenciaram os índices de clorofila *b* e *total*, mas não apresentaram efeito significativo para o índice de clorofila *a*.

Como importantes considerações aos resultados deste trabalho, sugerem-se futuras análises da massa seca de plântulas e teor de clorofila após um período mais longo de estresse pelo frio e com outras temperaturas e mesmo alternância destas, e com outros genótipos, validando os resultados aqui observados. Adicionalmente, sugere-se que as variáveis sejam avaliadas e apresentadas em termos de desempenho relativo, isto é, analisar o desempenho de cada genótipo, para cada variável, em termos de proporção em relação ao desempenho do mesmo na condição sem estresse (ótima), especialmente quanto aos teores de clorofila, que foram variáveis pouco explicativas para a tolerância ao frio. Este tipo de análise pode expressar o efeito do estresse de maneira mais adequada do que utilizar os dados absolutos, pois geralmente existem diferenças entre qualquer grupo de genótipos para inúmeras características mesmo na condição ideal. O uso dos dados para o cálculo de índices de tolerância, como realizado por BEVILACQUA et al. (2013) é outra alternativa que visa estabelecer medidas para melhor discriminar genótipos em termos de reação à estresses.

CONCLUSÕES

Existem diferenças expressivas entre os genótipos e grupos de genótipos para a massa seca de plântulas e teor de clorofilas, quando sob estresse por frio.

Os teores de clorofila não são eficientes para distinguir cultivares de arroz quanto à reação às baixas temperaturas pelo período de estresse imposto.

A massa seca de raízes e total de plântulas, avaliada após um período de recuperação de estresse por frio, é efetiva na separação de genótipos de arroz sob este estresse, podendo ser utilizada como ferramenta para este propósito.

AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) e FAPERGS (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul) pelo suporte financeiro e bolsas de pós-graduação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGHAEI, A.; MORADI, F.; ZARE-MAIVAN, H.; ZARINKAMAR, F.; IRANDOOST, H.P.; SHARIFI, P. Physiological responses of two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to chilling stress at seedling stage. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v.10, n.39, p.7617-7621, 2011. Disponível em: <<http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/94820/84183>>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- BEVILACQUA, C.B., MONZON, D.R., VENSKE, E., BASU, S., ZIMMER, P.D. Application of stress indices for low temperature and deep sowing stress screening of rice genotypes. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, Faisalabad, v.16, n.22, p.1618-1622, 2013. Disponível em: <<http://scialert.net/qredirect.php?doi=pjbs.2013.1618.1622&linkid=pdf>>. Acesso em: 10 out. 2015.
- CANCELLIER, E.L.; BARROS, H.B.; KISCHEL, E.; GONZAGA, L.A. de M.; BRANDAO, D.R.; FIDELIS, R.R. Eficiência agrônômica no uso de nitrogênio mineral por cultivares de arroz de terras altas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, Recife, v.6, n.4, p.650-656, 2011. Disponível em: <http://www.agraria.pro.br/sistema/index.php?journal=agraria&page=article&op=view&path%5B%5D=agraria_v6i4a1420&path%5B%5D=1020>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- CONAB. **Companhia Nacional de Abastecimento**. Acompanhamento da Safra Brasileira – Grãos. v. 2 – Safra 2014/2015; n. 12 – Décimo segundo levantamento, 2015. Disponível em: <<http://www.conab.gov.br>>. Acesso em: 19 set. 2015.
- CRUZ, R.P.; MILACH, S.C.K. Cold tolerance at the germination stage of rice: methods of evaluation and characterization of genotypes. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v.61, n.1, p.1-8, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/sa/v61n1/a01v61n1.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- EMBRAPA/UFPEL/INME. **Agrometeorologia UFPEL**, 2011. Acesso em 01 mar. 2011. <http://www.ufpel.edu.br/faem/agrometeorologia/>
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cagro/v35n6/a01v35n6.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- KICHTENTHALER, H.K., WELLBURN, A.R. Determination of Total Carotenoids and Chlorophylls A and B of Leaf in Different Solvents. **Biochemical Society Transactions**, Londres, v.11, p. 591-592, 1985.
- LEHNINGER, A.L.; NELSON, D.L.; COX, M.M. **Princípios de Bioquímica**. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 1995. 839p.
- LIMA, M.G.S.; LOPES, N.F.; BACARIN, M.A.; MENDES, C.R. Efeito de estresse salino sobre a concentração de pigmentos e prolina em folhas de arroz. **Bragantia**, Campinas, v.63, n.3, p.335-340, 2004.

- Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/brag/v63n3/22631.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- LOGGINI, B.; SCARTAZZA, A.; BRUGNOLI, E.; NAVARI-IZZO, F. Antioxidative defense system, pigment composition, and photosynthetic efficiency in two wheat cultivars subjected to drought. **Plant Physiology**, Rockville, v.119, n.3, p.1091-1099, 1999. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/119/3/1091.short>>. Acesso em: 15 out. 2015.
- MARCONDES, J.; GARCIA, A.B. Aspectos citomorfológicos do estresse salino em plântulas de arroz (*Oryza sativa* L.). **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.2, p.187-194, 2009. Disponível em: <http://www.biologico.sp.gov.br/docs/arq/v76_2/marcondes.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- MERTZ, L.M.; HENNING, F.A.; SOARES, R.C.; BALDIGA, R.F.; PESKE, F.B.; MORAES, D.M. Alterações fisiológicas em sementes de arroz expostas ao frio na fase de germinação. **Revista Brasileira de Sementes**, Londrina, v.31, n.2, p.262-270, 2009. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbs/v31n2/v31n2a31.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- RABBANI, M.A.; MARUYAMA, K.; ABE, H.; KHAN, M.A.; KATSURA, K.; ITO, Y.; YOSHIWARA, K.; SEKI, M.; SHINOZAKI, K.; YAMAGUCHI-SHINOZAKI, K. Monitoring Expression Profiles of Rice Genes under Cold, Drought, and High-Salinity Stresses and Abscisic Acid Application Using cDNA Microarray and RNA Gel-Blot Analyses. **Plant Physiology**, Rockville, v.133, p.1755-1767, 2003. Disponível em: <<http://www.plantphysiol.org/content/133/4/1755.full.pdf+html>>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- SALTVEIT, M.E.; PEISER, G.; RAB, A. Effect of acetaldehyde, arsenite, ethanol, and heat shock on protein synthesis and chilling sensitivity of cucumber radicles. **Physiologia Plantarum**, Lund, v.120, p.556-562, 2004. Disponível em: <<http://ucanr.edu/datastoreFiles/234-2273.pdf>>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- SOUZA, P.R. Alguns aspectos da influência do clima temperado sobre a cultura do arroz irrigado, no sul do Brasil. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v.43, n.389, p.9-11, 1990.
- STHAPIT, B.R.; WITCOMBE, J.R. Inheritance of tolerance to chilling stress in rice during germination and plumule greening. **Crop Science**, Madison, v.38, n.3, p.660-665, 1998. Disponível em: <<https://www.crops.org/publications/cs/abstracts/38/3/CS0380030660>>. Acesso em: 13 jun. 2015.
- YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981. 269p.