POTENCIAL DE CRUZAMENTO NATURAL ENTRE O ARROZ TRANSGÊNICO RESISTENTE AO HERBICIDA GLUFOSINATO DE AMÔNIO E O ARROZ DANINHO¹

Outcrossing Potential of Glufosinate-Resistant Rice to Red Rice

NOLDIN, J.A.², YOKOYAMA, S.², ANTUNES, P.³ e LUZZARDI, R.³

RESUMO - A utilização de cultivares de arroz irrigado resistentes a herbicidas não-seletivos, como o glufosinato de amônio, pode se constituir numa alternativa de controle de arroz daninho em lavouras de arroz irrigado. O objetivo deste trabalho foi avaliar a taxa e o sentido do cruzamento natural entre plantas de uma linhagem modificada geneticamente para resistência ao herbicida glufosinato de amônio (arroz GM) e ao arroz daninho. A taxa de cruzamento natural entre o arroz GM como receptor feminino e o arroz daninho como doador de pólen foi de 0,22 e 0,02%, respectivamente para os ecótipos de arroz daninho com glumas de cor palha e com glumas pretas. No caso inverso, quando o arroz daninho foi o receptor feminino e o arroz GM o doador de pólen, a taxa de cruzamento foi de 0,26 e 0,14%, para o arroz daninho com glumas palha e com glumas pretas, respectivamente. Os resultados deste estudo evidenciaram que ocorreu cruzamento natural entre o arroz GM e o arroz daninho em percentuais que variaram de 0,14 e 0,48%, respectivamente para o arroz preto e para o arroz vermelho. A fim de minimizar a possibilidade de hibridação, medidas de controle eficientes devem ser adotadas no sentido de prevenir a coincidência de floração das plantas de arroz daninho com a das plantas de arroz GM cultivado.

Palavras-chave: arroz vermelho, arroz preto, arroz GM, resistência a herbicidas, gene *bar*.

ABSTRACT - The broad spectrum non-selective herbicide ammonium glufosinate, combined with genetically modified glufosinate-resistant rice cultivars (GM rice), may comprise a rice weed control system for red rice and other weeds that infest Brazilian rice fields. The objective of this study was to evaluate the potential for outcrossing and gene flow of GM rice to red rice. Natural outcrossing between adjacent field plots (1 m x 1 m) was measured during the 1999/2000 production season in Brazil. The outcrossing rate of the GM rice as the female parent to red rice, as the pollen donor, was 0.22% for strawhull and 0.02% for the blackhull red rice, respectively. In the reciprocal crosses, when GM rice was the pollen donor and red rice, the female parent, the outcrossing rate was 0.26 and 0.14%, respectively, for strawhull and blackhull red rice. The results of this study suggest that, under field conditions, outcrossing of glufosinate-resistant rice to red rice can occur at a measurable level. The potential frequency of hybrids would be minimum under situations where weed control measures help prevent the red rice from flowering.

Key words: weedy rice, GM rice, herbicide resistance, *bar* gene.

INTRODUÇÃO

O arroz daninho (*Oryza sativa*), também conhecido como arroz vermelho, é uma das plantas daninhas que mais prejuízos causa à

produtividade do arroz irrigado no Brasil (Souza & Fisher, 1986; Ávila et al., 1999) e em outros países (Dunand, 1988; Montealegre & Vargas, 1989; Pantone & Baker, 1991). As populações de arroz daninho predominantes nas lavouras

¹ Recebido para publicação em 9/11/2001 e na forma revisada em 7/8/2002.

² Eng.-Agr., Ph.D., Pesquisadores da Epagri, Estação Experimental de Itajaí, Caixa Postal 277, 88301-970 Itajaí-SC, <noldin@epagri.rct-sc.br>. ³ Eng.-Agr., M.S., Aventis Seeds Brasil Ltda, Av. Maria Coelho de Aguiar, 215/Bl. B, São Paulo-SP.

de arroz irrigado são bastante variáveis, mas os tipos mais comuns e predominantes são os ecótipos que apresentam glumas de cor palha e os ecótipos com glumas de cor escura ou preta (Ortiz et al., 1997; Silveira et al., 1997; Noldin et al., 1999). Neste trabalho, os ecótipos de arroz daninho com glumas de cor palha serão denominados arroz vermelho, e os ecótipos com glumas de cor preta, arroz preto.

O arroz daninho é uma planta não-invasiva de áreas não-agricultáveis e restrita às áreas cultivadas. O principal mecanismo de disseminação desta planta daninha é através do uso de sementes de arroz contaminadas com sementes da planta daninha.

O controle do arroz daninho em lavouras infestadas somente pode ser realizado com a utilização de um conjunto integrado de práticas, que incluem uso de sementes puras, uso do sistema de semeadura com sementes pré-germinadas e medidas de controle a serem adotadas antes da implantação da lavoura, como preparo do solo na entressafra e adoção do sistema de cultivo mínimo (Noldin, 1988; Embrapa Clima Temperado, 1999). O emprego do sistema de semeadura pré-germinado combinado com a aplicação de herbicidas em pré-semeadura do arroz, associado ao adequado manejo da água de irrigação, constitui-se numa alternativa altamente eficiente para a supressão do arroz daninho em áreas infestadas. No entanto, existem áreas em que é inviável a adoção do pré-germinado, e novas alternativas precisam ser identificadas para o manejo do arroz daninho.

Na década de 90, com o desenvolvimento da engenharia genética, surgiu a possibilidade do uso de cultivares de arroz GM ou arroz transgênico transformados para resistência a herbicidas não-seletivos, como o glufosinato de amônio [amônio-DL-homocisteína-4-il(metil) fosfinato], permitindo assim o controle seletivo do arroz daninho em áreas plantadas com os cultivares resistentes ao herbicida (Linscombe & Jodari, 1996; Sankula et al., 1997; Ferreira et al., 2001). Ferreira et al. (2001) relataram que glufosinato na dose de 600 g i.a. ha⁻¹ controlou 100% do arroz daninho sem causar danos ao arroz GM. Andres et al. (2000) também observaram que o controle de arroz daninho variou de 96 a mais de 99%, dependendo da dose e da época de aplicação do herbicida.

A maioria das populações de arroz daninho infestantes das áreas de arroz irrigado pertence ao mesmo gênero e/ou espécie do arroz cultivado (*Oryza sativa*) (Vaughan et al., 2001), podendo, portanto, ocorrer cruzamento natural, produzindo híbridos que incorporam características de ambos e, assim, facilitando ainda mais sua disseminação via sementes (Galli et al., 1980). Uma importante preocupação acerca do desenvolvimento de cultivares resistentes a herbicidas diz respeito à possibilidade de transferência do gene de resistência para os parentais selvagens (Harrisson, 1992). Brown & Brown (1996) relataram a ocorrência de cruzamento entre plantas de canola resistentes ao herbicida glufosinato de amônio e uma variedade selvagem de mostarda. A literatura menciona até mesmo a ocorrência de híbridos oriundos de cruzamentos naturais entre plantas de gêneros diferentes, no caso do trigo (*Triticum aestivum*) resistente ao herbicida imazamox com a planta daninha *Aegilops cylindrica* (Seefeldt et al., 1998; Zemetra et al., 1998).

O arroz, mesmo sendo uma planta autógama, pode apresentar taxa variável de alopoliploidia dependendo dos genótipos envolvidos e das condições de ambiente (Beachell et al., 1938; Jodon, 1959; Chandraratna, 1964; Jachuck & Sampath, 1966). Em experimentos conduzidos nos Estados Unidos (Texas, Arkansas, Louisiana e Califórnia), Beachell et al. (1938) relataram taxas de cruzamento médio de 0,45%, variando de zero a 3,39%. Resultados de pesquisas mais recentes (Reaño & Pham, 1998) mostraram taxas de cruzamento natural de 0,40, 0,27 e 0,35% para os genótipos de arroz BG 90-2 e "Secano de Brasil" e o arroz daninho, respectivamente. No mesmo estudo, os autores encontraram taxas de cruzamento muito mais baixas (0,02%) para os genótipos Tojo e CI 8898-2. Em trabalho conduzido para determinação da distância de isolamento de linhagens para a produção de sementes de cultivares híbridos de arroz, Muker & Sharma (1991) relataram que o arroz poderia dispersar pólen a distâncias de até 31 m. Na prática, é recomendada uma distância mínima de 3 a 5 metros, suficiente para produzir sementes de linhagens puras (Chandraratna, 1964; Muker & Sharma, 1991). A fecundação cruzada, ainda que ocorra a distâncias inferiores a 3 metros, dependeria de ocorrência de plena sincronia de períodos de

floração entre o arroz comercial e o arroz daninho.

A literatura reporta grande volume de informações referentes a estudos relativos à avaliação da taxa de cruzamento natural entre cultivares comerciais de arroz. No entanto, são poucos os trabalhos publicados sobre o cruzamento natural envolvendo o arroz e a espécie parental, o arroz daninho. Langevin et al. (1990) utilizaram metodologia de marcadores com isoenzimas para identificar a ocorrência de híbridos provenientes de cruzamento natural entre o arroz daninho e seis cultivares comerciais. Os autores encontraram híbridos entre o arroz daninho e todos os cultivares avaliados. As porcentagens de cruzamento entre o arroz daninho e cinco cultivares testados foram de 1,08; 1,38; 2,50; 3,65; e 7,36%, respectivamente, para os cultivares Lemont, Saturn, Labelle, Mars e Leach. Entretanto, para o cultivar de ciclo longo Nortai, a taxa de cruzamento observada foi excepcionalmente alta: 52,18%. A alta taxa de cruzamento observada para este cultivar foi atribuída pelos autores à coincidência plena de floração entre o cultivar e o arroz daninho, bem como à possível presença, entre os híbridos identificados, de plantas originárias do retrocruzamento de mais de uma geração, uma vez que o estudo se iniciou com coletas a campo, em que não tinham controle sobre a homogeneidade e a geração do material coletado.

Por outro lado, seria importante determinar também qual o sentido do cruzamento mais freqüente: do arroz cultivado para o arroz daninho ou o contrário. A predominância de plantas de porte mais alto na maioria dos ecótipos de arroz daninho, comparados com os cultivares modernos, os mais utilizados atualmente, é um fato que torna possível a predominância da direção do pólen do arroz vermelho para o arroz cultivado, na geração de híbridos F_1 . Se esse for o caso, os cuidados para evitar a ocorrência e disseminação de F_1 's poderiam ser mais dirigidos aos campos de produção de sementes. No caso inverso, com o arroz cultivado doando pólen para o arroz daninho, as implicações serão igualmente importantes, pois o arroz daninho irá adquirir resistência ao herbicida (Oard et al., 2000), diminuindo assim a viabilidade do uso dessa nova tecnologia em áreas infestadas, pois a eficiência do herbicida no controle da planta daninha seria reduzida.

O presente trabalho foi desenvolvido para determinar a taxa e o sentido do cruzamento entre uma linhagem de arroz resistente ao herbicida glufosinato de amônio e o arroz daninho, em condições de máxima coincidência de floração e mínima distância entre as plantas de arroz GM e as de arroz daninho no campo.

MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido em duas etapas (I e II), conduzidas no campo e em condições controladas de laboratório e casa de vegetação.

Etapas I - Experimento a campo. Um experimento foi conduzido na safra 1999/2000, com a autorização da CTNBio – Comissão Técnica Nacional de Biossegurança, na Unidade Experimental de Arroz da Agrevo, município de Rio Grande-RS. A execução a campo deu-se após a solicitação à CTNBio e aprovação por parte desta (Comunicado nº 95 - Processo Nº 01200.002985/99-09 - D.O.U. de 22/11/99), sob requerimento e responsabilidade de Hoechst Schering AgrEvo do Brasil Ltda., posteriormente sob denominação de Aventis Seeds. As práticas de implantação e manutenção do experimento foram de responsabilidade da Aventis Seeds. O experimento foi conduzido em área típica de lavoura de arroz irrigado, e dois ecótipos de arroz daninho foram semeados em quatro épocas, visando promover situações em que ocorresse a plena coincidência de floração com o arroz GM, plantado na segunda época de semeadura. O arroz GM utilizado foi a linhagem ABR-15*, derivada do cultivar BR-IRGA 410, o qual expressa o gene exógeno *bar* ("bialophos resistance"), proporcionando resistência ao herbicida glufosinato de amônio. As sementes utilizadas eram homozigóticas para o caráter resistência ao herbicida, fazendo com que todas as plantas F_1 fossem resistentes ao herbicida e passíveis de identificação. Foram usados dois ecótipos de arroz daninho: um com glumas pretas (arroz preto) e outro com glumas de cor palha (arroz vermelho). Amostras do lote de sementes de ambos os ecótipos foram testadas para sensibilidade ao herbicida, sendo comprovada a sua suscetibilidade.

* A linhagem ABR-15 é propriedade da Aventis Crop Science e foi cedida para a condução do trabalho.

O arroz GM foi semeado em quatro parcelas de 1 x 1 m, em uma época fixa (6/12/1999). Em cada lado da parcela de arroz GM foi semeada uma parcela também de 1 x 1 m, com os ecótipos de arroz vermelho e arroz preto, ou seja, ao redor de cada parcela de arroz GM existiam duas parcelas com arroz vermelho e duas com arroz preto (Figura 1). As parcelas com arroz daninho foram semeadas em épocas distintas, com intervalos de uma semana, visando proporcionar uma situação de máxima coincidência de floração entre o arroz GM e o arroz daninho. As datas de semeadura do arroz daninho foram: 29/11/1999, 6/12/1999, 13/12/1999 e 20/12/1999.

Para medir o sentido do cruzamento, ambas as plantas (arroz GM e arroz daninho) foram consideradas como receptores e doadores de pólen e, portanto, avaliadas para determinação da presença de híbridos.

As sementes foram colhidas em 29/4/2000, embaladas e armazenadas apropriadamente para a realização dos experimentos subsequentes.

Etapla II - Experimentos em condições controladas. a) Determinação da frequência

de híbridos provenientes do cruzamento natural arroz GM x arroz daninho - arroz GM como progenitor feminino. As sementes provenientes do arroz GM que ficaram expostas ao pólen do arroz daninho nas épocas de semeadura 3 e 4 foram semeadas em casa de vegetação com ambiente controlado, da Unidade de Pesquisa da Aventis Seeds, Fazenda Douradinho IV, Uberlândia-MG, CQB 005/96. Foram avaliadas 6.000 sementes do arroz GM, para cada época. A semeadura foi feita no dia 18/8/2000, em caixas de acrílico, no tamanho de 65 x 45 x 17 cm, na densidade de 100 sementes por caixa. As sementes foram submetidas à quebra de dormência antes da semeadura, a fim de eliminar a possibilidade de híbridos não serem detectados caso ocorresse germinação diferenciada. Para a quebra de dormência, as sementes foram submetidas à temperatura de 42 °C por 120 horas, em estufa com circulação de ar. A identificação de plantas híbridas (F_1) foi feita pela observação da presença de plantas atípicas na população estabelecida com sementes do arroz GM colhido no experimento a campo. A identificação das plantas atípicas foi feita através de observação do fenótipo, com ênfase para as seguintes

Figura 1 - Croqui do experimento instalado no campo para estudo de fluxo gênico entre arroz GM, arroz vermelho ou arroz preto, sob condições típicas de cultivo comercial de arroz irrigado. Rio Grande-RS, 1999/2000.

características: altura das plantas, ciclo (data de floração), pilosidade das folhas, formato da panícula, tipo do grão, cor das glumas e presença de arista nas espiguetas. Como controle, foram semeadas, ao mesmo tempo, em separado, sementes dos dois ecótipos de arroz daninho e do arroz GM, cujas sementes foram oriundas do mesmo lote utilizado na implantação do experimento de campo na etapa I.

Foi avaliado o número de plantas emergidas por amostragem aleatória para estimar o total de plantas de arroz viáveis, antes de se proceder à pulverização com o herbicida glufosinato. Quando as plantas de arroz GM encontravam-se no estágio de duas a três folhas, elas foram pulverizadas com o herbicida glufosinato, na dose de 1.200 g i.a. ha⁻¹, no dia 6/9/2000, para confirmar a pureza do lote quanto à resistência das plantas ao herbicida.

b) Determinação da frequência de híbridos provenientes do cruzamento natural arroz daninho x arroz GM - arroz daninho como progenitor feminino. As sementes de arroz daninho oriundas das parcelas de campo da etapa I foram transferidas para o laboratório da Epagri/Estação Experimental de Itajaí-SC, CQB 092/98. No laboratório, as sementes foram submetidas ao teste de germinação, conforme protocolo estabelecido pela Embrapa Clima Temperado (Magalhães Jr. et al., 2000). O teste consistiu na germinação das sementes em papel para germinação, previamente embebido por 18 horas em solução 0,1% v/v de Finale, seguido da incubação em câmara de germinação na temperatura de 30 °C, por 14 dias. Os rolos de papel com 100 sementes cada foram acondicionados em sacos plásticos vedados e com 200 ml da solução herbicida, para manter hidratado o substrato. Foram avaliadas 6.000 sementes de arroz vermelho e arroz preto provenientes das épocas de semeadura 3 e 4, da etapa I. Um controle triplo foi adotado, em que tanto as sementes do arroz GM de um cultivar não-transformado, Epagri 108, como os dois ecótipos do arroz daninho foram colocados para germinar em substrato com a presença da solução de glufosinato de amônio. As sementes dos mesmos genótipos também foram germinadas sem a solução herbicida, a fim de determinar a capacidade germinativa das amostras e a eficiência do método. Visando a uniformização das sementes de todos os lotes

testados quanto a uma possível presença de sementes dormentes, procedeu-se ainda à quebra de dormência. Para isso, as amostras foram submetidas à temperatura de 42 °C, durante 120 horas.

O método proposto por Magalhães Jr. et al. (2000) permite identificar a ocorrência de falsos positivos, ao se lidar com grandes volumes de sementes, por diminuição da concentração do agente de seleção em algum ponto do substrato embebido com a solução. Para eliminar os falsos positivos e visando uma determinação mais precisa, procedeu-se a uma avaliação complementar de plântulas supostamente híbridas (portadoras do gene *bar*). As plântulas suspeitas de serem positivas foram transplantadas em vasos na casa de vegetação e, posteriormente, testadas para resistência ao herbicida com o pincelamento de uma folha com solução 1% de Finale. Duas semanas após o pincelamento, era possível comprovar, através da sintomatologia, a ocorrência ou não da resistência ao herbicida.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Etapas I - Experimento a campo. Nas primeiras épocas de semeadura (1 e 2) não houve germinação do arroz daninho, devido ao baixo vigor das sementes. Sementes de outra procedência foram utilizadas nas épocas 3 e 4, as quais apresentaram boa germinação e estabelecimento. A coincidência floral plena entre os dois ecótipos de arroz daninho e o arroz GM foi observada na época 4 de semeadura, ao passo que na época 3 a coincidência foi parcial - cerca de 70%. Caso as sementes dos ecótipos de arroz vermelho e arroz preto semeadas nas épocas 1 e 2 tivessem germinado, provavelmente não ocorreria a sincronia de floração para proporcionar cruzamentos com o arroz GM (Tabela 1).

A estatura (comprimento do colmo) das plantas de arroz GM no campo foi de 53 cm. A estatura do arroz vermelho variou de 79 a 98 cm, com média de 90 cm, e a do arroz preto, de 85 a 108 cm, com média de 100 cm.

Etapas II - Experimentos em condições controladas. a) Determinação da frequência de híbridos provenientes do cruzamento natural do arroz GM x arroz daninho - arroz GM como progenitor feminino. A porcentagem de

germinação e emergência de plantas de arroz GM cultivado em casa de vegetação foi de 68% (Tabela 2). A observação do fenótipo das plantas nas bandejas permitiu a identificação de plantas híbridas, as quais se diferenciavam claramente das de arroz GM, por apresentarem arquitetura de planta e características morfológicas como maior estatura, ciclo diferenciado e panículas e grãos similares àqueles apresentados pelas plantas dos ecótipos de arroz vermelho e arroz preto. O número de plantas atípicas identificadas em cada um dos quatro lotes de 6.000 sementes avaliados é apresentado na Tabela 2. Não foi possível a identificação de nenhum híbrido nas sementes de arroz vermelho e arroz preto provenientes da época 3. Para a semeadura na época 4, na qual ocorreu coincidência plena de floração entre o arroz GM e o arroz vermelho e preto (Tabela 1), foi detectada a presença de nove plantas híbridas no lote de sementes de arroz vermelho e apenas uma planta no lote de 6.000 sementes

de arroz preto (Tabela 2). Nesse caso, a taxa de cruzamento natural observada entre o arroz GM e a espécie parental foi de 0,22% para o arroz vermelho e de 0,02% para o arroz preto, observada sob condições de plena coincidência de floração e para parcelas adjacentes.

b) Determinação da frequência de híbridos provenientes do cruzamento natural arroz daninho x arroz GM - arroz daninho como progenitor feminino. A expressão fenológica de diferentes genótipos de arroz submetidos ao teste de germinação em solução com e sem a presença do herbicida glufosinato de amônio é apresentada na Tabela 3. Assim, sementes germinadas em substrato com água resultaram em plântulas normais aos 14 dias, ao passo que na germinação em substrato com solução herbicida apenas aquelas portadoras do gene *bar* resultaram em plântulas normais. O poder germinativo dos lotes de sementes utilizadas no teste variou de 69 a 85% (Tabela 3).

Tabela 1 - Épocas de semeadura e datas de florescimento das parcelas com arroz GM e arroz daninho estabelecidas no campo na safra 1999/2000, Rio Grande-RS

Genótipo ^{1/}	Época de semeadura	Data de florescimento		
		Início da floração	50% da floração	100% da floração
Arroz GM	6/12/99	20/3/00	27/3/00	6/4/00
Arroz daninho (época 1)	29/11/99	^{2/}	^{2/}	^{2/}
Arroz daninho (época 2)	6/12/99	^{2/}	^{2/}	^{2/}
Arroz daninho (época 3)	13/12/99	14/3/00	27/3/00	1/4/00
Arroz daninho (época 4)	20/12/99	20/3/00	1/4/00	5/4/00

^{1/} O arroz vermelho e o arroz preto apresentaram períodos de floração e duração de ciclo similares.

^{2/} Parcela perdida por falta de germinação.

Tabela 2 - Taxa de cruzamento natural, entre o arroz GM como receptor feminino e o arroz vermelho ou arroz preto como doador de pólen, estimada através da identificação de plantas híbridas presentes nos lotes de sementes de arroz GM. Uberlândia-MG, 2000

Data de semeadura	Sincronia de floração	Semente avaliada	Germinação	Planta atípica F ₁ ^{1/}	Taxa de cruzamento ^{2/}
	(%)	(n ^o)	(%)	(n ^o)	(%)
Arroz vermelho					
13/12/99	70	6.000	68	0	0
20/12/99	100	6.000	68	9	0,22
Arroz preto					
13/12/99	70	6.000	68	0	0
20/12/99	100	6.000	68	1	0,02

^{1/} Número de plantas F₁ com características fenotípicas do arroz vermelho ou arroz preto.

^{2/} Estimada pela fórmula: taxa cruzamento (%) = $\frac{\text{número de plantas F}_1 \times 100}{\text{número de sementes} \times \text{germinação (\%)}}$.

Neste estudo foram detectadas plântulas de arroz vermelho e arroz preto germinadas na solução herbicida, suspeitas de serem resistentes ao glufosinato de amônio, nas épocas de semeadura 3 e 4 (Tabela 3). Todas as plântulas suspeitas de serem resistentes no teste de germinação tiveram sua resistência confirmada após seu transplante em baldes na casa de vegetação. O número máximo de plantas resistentes foi observado no lote de semente de arroz vermelho da época 4, com 11 plântulas. As sementes (400) testadas do cultivar de arroz comercial Epagri 108 mostraram-se sensíveis ao herbicida glufosinato de amônio, enquanto o arroz GM apresentou plântulas normais. A taxa de cruzamento observada, considerando cada sentido isoladamente, variou de 0,02 a 0,26%, para o arroz preto e arroz vermelho nas duas épocas de semeadura. Destaca-se, nesse caso, o fato de terem sido detectadas progênies de arroz vermelho e arroz preto portadoras do gene *bar* na época de semeadura 3, em que o período de coincidência de floração foi parcial, diferentemente do que foi observado no estudo para identificação de plantas de arroz GM polinizadas por pólen de arroz daninho, onde não foi detectada a presença de plantas híbridas de arroz GM com características de arroz vermelho ou arroz preto.

As taxas de cruzamento natural observadas nos dois experimentos, em que o arroz GM foi a planta receptora de pólen do arroz

vermelho ou o arroz vermelho receptor de pólen do arroz GM, foram similares. No primeiro caso, a máxima taxa de cruzamento observada foi de 0,22% (Tabela 2), enquanto na segunda possibilidade avaliada a taxa máxima observada foi de 0,26% (Tabela 3). Em ambos os casos, esses valores foram observados nas parcelas com arroz daninho onde ocorreu coincidência plena de floração. Esses dados mostram que não existem diferenças de fluxo no sentido de cruzamento recíproco.

Considerando que em condições de campo o fluxo de pólen pode ocorrer em ambos os sentidos, as taxas de cruzamentos naturais observadas na quarta época de semeadura, quando ocorreu plena coincidência de floração, foram de 0,09 e 0,48%, respectivamente para o arroz preto e para o arroz vermelho, com o arroz GM; já quando ocorreu coincidência de floração parcial (época 3), as taxas de cruzamentos naturais foram de 0,02 e 0,14%, respectivamente para o arroz vermelho e para o arroz preto.

As taxas de cruzamento natural envolvendo o arroz GM e o arroz vermelho ou preto, observadas neste estudo, são inferiores às reportadas na literatura, em experimentos que envolveram o cruzamento de arroz daninho com arroz cultivado (Langevin et al., 1990), porém são similares àquelas referenciadas em trabalhos realizados para determinação das

Tabela 3 - Taxa de cruzamento natural, entre o arroz GM como doador de pólen e o arroz vermelho ou arroz preto como receptores femininos, estimada através do teste de sobrevivência das sementes em solução com o herbicida glufosinato. Epagri, Itajaí-SC, 2000

Data de semeadura	Sincronia de floração (%)	Semente testada (n°)	Germinação ^{1/} (%)	Planta resistente ^{2/} (n°)	Taxa de cruzamento ^{3/} (%)
Arroz vermelho					
13/12/99	70	6.000	75	1	0,02
20/12/99	100	6.000	69	11	0,26
Arroz preto					
13/12/99	70	6.000	85	7	0,14
20/12/99	100	6.000	74	3	0,07
Testemunha					
Arroz GM	-	400	77	308	-
Epagri 108	-	400	80	0	-

^{1/} Teste de germinação de 400 sementes em substrato com água para estabelecer o potencial germinativo de cada lote de sementes.

^{2/} Teste de germinação de 6.000 sementes em substrato com solução herbicida para identificar as plantas resistentes.

^{3/} Estimada pela fórmula: taxa cruzamento (%) = $\frac{\text{número de plântulas resistentes} \times 100}{\text{número de sementes testadas}}$.

taxas de cruzamento natural entre cultivares comerciais de arroz (Jodon, 1959). Langevin et al. (1990), em trabalho conduzido na Louisiana, Estados Unidos, para avaliar o cruzamento do arroz cultivado com arroz daninho, observaram taxas de cruzamento natural que variaram de aproximadamente 1% para o cultivar comercial Lemont até mais de 7% para o cultivar Leach. Apenas para um dos cultivares avaliados, Nortai, o percentual de hibridação foi excepcionalmente alto (mais de 52%). Os autores atribuíram o resultado à coincidência de floração entre os genótipos envolvidos.

No presente trabalho, houve coincidência de floração entre o arroz GM e o arroz daninho. Assim, as baixas taxas de cruzamento observadas poderiam estar relacionadas a fatores como baixa compatibilidade entre os genótipos e a fatores ambientais, como temperatura e umidade relativa do ar, no período de fecundação (Chandraratna, 1964; Jachuck & Sampath, 1966). No entanto, em trabalho conduzido recentemente para avaliar a possibilidade de cruzamento natural entre arroz GM e arroz daninho plantados em mistura, Sanders et al. (1998) não observaram a presença de híbridos nas sementes de arroz daninho produzidas na área experimental. Esse fato foi atribuído a uma diferença de 14 dias entre o florescimento do arroz GM e o do arroz daninho.

Jodon (1959), em trabalho conduzido em quatro estados produtores de arroz nos Estados Unidos, num período de quatro a seis anos, observou uma taxa média geral de cruzamento natural de 0,45%, com valor mínimo de 0,16% na Califórnia e máxima de 0,56% no Texas. No Uruguai, pesquisadores do INIA/Estación Experimental Del Este, Treinta Y Três, estudaram a taxa de cruzamento natural entre dois cultivares comerciais de arroz, Bluebelle e El Paso 144, em amostras colhidas a distâncias crescentes entre ambos os cultivares (INIA, 1994). Os pesquisadores daquele centro de pesquisa relataram que o efeito da distância sobre o número de híbridos foi acentuado, tendo o valor máximo de 52,7 híbridos/10.000 plantas (0,53%) na menor distância (0,5 m) e de 24,3 (0,24%) na distância de 3 m. A partir dessa distância, observaram decréscimo gradual e rápido no número de híbridos presentes na população, além de diferenças significativas entre os cultivares avaliados.

Na época de semeadura 4, observou-se que a taxa de cruzamento natural entre o arroz GM e o arroz preto foi inferior àquela do arroz vermelho (Tabelas 2 e 3), mesmo considerando-se os cruzamentos recíprocos. Entretanto, na época de semeadura 3, houve exceção para a taxa de cruzamento natural, que foi maior quando o arroz preto foi o receptor de pólen (Tabela 3).

Os resultados obtidos neste trabalho, comparados com os de outros pesquisadores, sugerem que a taxa de cruzamento natural entre arroz GM e arroz daninho pode variar, dependendo do cultivar envolvido, das características dos ecótipos de arroz daninho presentes na lavoura e das condições ambientais, principalmente vento, umidade relativa e temperatura, os quais afetam diretamente a dispersão e sobrevivência do pólen no ambiente.

Os resultados deste trabalho mostram que ocorre cruzamento natural entre o arroz GM e o arroz vermelho e arroz preto, em ambos os sentidos, com o arroz GM sendo receptor ou fornecedor de pólen, e que os índices de cruzamento dependerão do grau de sincronia de floração entre os genótipos envolvidos.

AGRADECIMENTOS

Ao Eng.-Agr., M.S., Domingos Sávio Eberhardt, da Epagri/Estação Experimental de Itajaí, ao Eng.-Agr. André Abreu e à Sra. Donna Mitten, da Aventis Seeds, pelo apoio e pelas sugestões na condução deste trabalho.

LITERATURA CITADA

- ANDRES, A.; MAGALHÃES Jr., A. M.; PINTO, J. J. O. Uso de glufosinato de amônio para o controle de arroz vermelho em arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 22.; 2000, Foz do Iguaçu. **Resumos...** Foz do Iguaçu: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 2000. p. 228.
- ÁVILA, L. A. et al. Interferência do arroz vermelho sobre o arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 1., 1999, Pelotas. **Anais...** Pelotas: EMBRAPA Clima Temperado, 1999. p. 594-596.
- BEACHELL, H. M. et al. Extend of natural crossing in rice. **J. Am. Soc. Agron.**, v. 30, p. 743-753, 1938.

- BROWN, J.; BROWN, A. P. Gene transfer between canola (*Brassica napus* L.) and *B. campestris* L. and related weed species. **Ann. Appl. Biol.**, v. 129, p. 513-522, 1996.
- CHANDRARATNA, M. F. **Genetics and breeding of rice**. London: Longmans, 1964. 389 p.
- DUNAND, R. T. Red rice - its impact on grain quality and its cultural control: a review of research in Louisiana, 1960-1982. **Louis. Agric. Exper. Station B.**, 792, p. 1-18, 1988.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA - EMBRAPA Clima Temperado. **Arroz irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil**. Pelotas: 1999. 124 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 57).
- FERREIRA, F.B. et al. Controle de arroz vermelho com Liberty em arroz irrigado (*Oryza sativa*) geneticamente modificado com o gene *bar*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: IRGA, 2001. p.585-587.
- GALLI, J.; TERRES, A. L.; GONÇALO, J. F. P. Red and cultivated rice relationships on seed production: I. Preliminary behavior of F_1 hybrids. **Tecnol. Sementes**, v. 5, p. 27-36, 1980.
- HARRISSON, H. E. Developing herbicide-tolerant crop cultivars: introduction. **Weed Tech.**, v. 6, p. 613-614, 1992.
- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN AGRÍCOLA – INIA, Estación Experimental Del Este. **Arroz; resultados experimentales 1993-94**. Treinta Y Tres, Uruguay:INIA, 1994. p. 9.4-9.7.
- JACHUCK, P. J.; SAMPATH, S. Natural interspecific crossing in genus *Oryza*. **Oryza**, v. 3, p. 71-72. 1966.
- JODON, N. E. Occurrence and importance of natural crossing in rice. **Rice J.**, v. 62, p. 8-9. 1959.
- LANGEVIN, S. A.; CLAY, K.; GRACE, J. B. The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed red rice (*Oryza sativa* L.). **Evolution**, v. 44, n. 4, p.1000-1008. 1990.
- LINSCOMBE, S. D.; JODARI, F. Potential for the use of transgenic rice for the weed control of *Oryza sativa* and other rice weeds. In: INTERNATIONAL WEED CONTROL CONGRESS, 2., 1996, Copenhagen. **Proceedings...** Copenhagen: IWSS, 1996. p. 435-439.
- MAGALHÃES Jr., et al. Método para identificação de sementes de arroz transgênico resistente ao herbicida glufosinato de amônio. **Agropec. Clima Temper.**, v. 3, p. 31-38. 2000.
- MONTEALEGRE, F. A.; VARGAS, J. P. Efecto de algunas practicas culturales sobre la población de arroz rojo y los rendimientos del cultivo comercial. **Arroz**, n. 38, p. 19-24. 1989.
- MUKER, H. S; SHARMA, H. L. Isolation distance for producing hybrid rice seed. **Intern. Rice Res. Notes**, v. 16, n. 1, p. 6. 1991.
- NOLDIN, J. A. Controle de arroz vermelho no sistema de semeadura em solo inundado. **Lav. Arroz.**, v. 41, p. 11-13. 1988.
- NOLDIN, J. A.; CHANDLER, J. M.; MCCAULEY, G. N. Red rice (*Oryza sativa*) biology. I. Characterization of red rice ecotypes. **Weed Tech.**, v. 13, p. 12-18. 1999.
- OARD, J. et al. Field evaluation of seed production, shattering, and dormancy in hybrid population of transgenic rice (*Oryza sativa*) and the weed, red rice (*Oryza sativa*). **Plant Sci.**, v. 157, p. 13-22. 2000.
- ORTIZ, A.; LIZARÓ, J.; LÓPEZ, L. Caracterização morfológica de ecótipos de arroz vermelho e variedades de arroz na Venezuela UCV-FAGRO. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 22., 1997, Bal. Camboriú. **Anais...** Itajaí: Epagri, 1997. p. 475-477.
- PANTONE, D. J.; BAKER, J. B. Reciprocal yield analysis of red rice (*Oryza sativa*) competition in cultivated rice. **Weed Sci.**, v. 39, p. 42-47. 1991.
- REAÑO, R.; PHAM, J. L. Does cross-pollination occur during seed regeneration at the Int. Rice Genebank? **Intern. Rice Res. Notes**, v. 23, n. 3, p. 5-6. 1998.
- SANDERS, D. E. et al. Outcrossing potential of Liberty Link rice to red rice. In: RICE TECH. WORKING GROUP, 27., 1998. **Proceedings...** College Station: The Texas Agricultural Experiment Station, 1998. p. 214-215.
- SANKULA, S.; BRAVERMAN, M. P.; LINSCOMBE, S. D. Response of BAR transformed rice (*Oryza sativa*) to glufosinate application timing. **Weed Tech.**, v. 11, p. 303-307, 1997.
- SEEFELDT, S. S. et al. Production of herbicide-resistant jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*) x wheat (*Triticum aestivum*) hybrids in the field by natural hybridization. **Weed Sci.**, v. 46, p. 632-634. 1998.
- SILVEIRA, C. A. et al. Características morfológicas e desenvolvimento fenológico de biótipos de arroz vermelho (*Oryza sativa*). In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 22, 1997, Balneário Camboriú. **Anais...** Itajaí: Epagri, 1997. p. 431-434.
- SOUZA, P. R.; FISHER, M. M. Arroz vermelho: danos causados à lavoura gaúcha. **Lav. Arroz.**, v. 39, p. 19-20. 1986.
- VAUGHAN, L. K. et al. Is all red rice found in commercial rice really *Oryza sativa*?. **Weed Sci.**, v. 49, p. 468-476. 2001.
- ZEMETRA, R. S.; HANSEN, J.; MALLORY-SMITH, C. A potential for gene transfer between wheat (*Triticum aestivum*) and jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica*). **Weed Sci.**, v. 46, p. 313-317. 1998.