

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOTECNIA

**CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE  
ARROZ IRRIGADO**

Mara Cristina Barbosa Lopes  
Engenheira Agrônoma (UFRGS)

Dissertação apresentada como um dos  
requisitos à obtenção do grau de  
Mestre em Fitotecnia  
Área de Concentração Plantas de Lavoura.

Porto Alegre (RS), Brasil  
Março, 2002



*Dedico este trabalho ao meu esposo Sérgio Iraçu Gindri Lopes e as nossas filhas Fernanda Barbosa Lopes e Fabiane Barbosa Lopes pela dedicação, companheirismo, compreensão e amor.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por todas as oportunidades que estou tendo em minha vida.

Aos meus pais, pelos ensinamentos e ao amor demonstrado, especialmente a minha mãe por todo o esforço dedicado na minha educação.

À professora Sandra Cristina Kothe Milach pela orientação, ensinamentos, apoio e amizade em momentos de dificuldades, me incentivando quando eu tinha que enfrentar desafios.

A esta Universidade pela acolhida, desde a graduação, onde tive a oportunidade à formação acadêmica, que sem dúvida fará muita diferença em minha vida profissional.

A todos os professores pelos ensinamentos transmitidos e o relacionamento tranqüilo ao longo do curso.

Ao Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), pelo apoio para realização deste trabalho, principalmente atendendo as necessidades relacionadas às atividades de campo e estruturação do laboratório de biologia molecular, viabilizado inicialmente pelo empenho do gerente Maurício Fischer com a continuidade do gerente Dieter Kempf.

Ao pesquisador Paulo Sérgio Carmona pela ajuda na seleção dos genótipos incluídos neste estudo, pelas informações importantes do germoplasma, ajuda na identificação dos materiais no campo, pela troca de idéias e confiança que em mim sempre depositou.

Ao pesquisador e amigo Antônio Folgiarini de Rosso pela amizade, troca de idéias e incentivo.

Aos funcionários do IRGA e da UFRGS que me auxiliaram, em especial a Sra. Maria Garcia pela amizade, as palavras de carinho e incentivo.

Aos estagiários Daiane Flores e Edson Quoos, que colaboraram nas avaliações de campo e ao Vicente Almeida pela ajuda no laboratório.

Aos colegas que dividiram o espaço de trabalho no laboratório, da faculdade, de maneira harmoniosa, superando os momentos de estresse.

Ao maravilhoso convívio ao longo do curso com os amigos Alexandre Voltz, Edson Amorin, Mariangela dos Santos e Paulo Fagundes nas longas horas de estudo que tivemos que compartilhar e, com certeza esta ajuda mútua fez a diferença. Agradeço especialmente ao Edson Amorim, ao Cícero Almeida, a Mariangela dos Santos e ao Sérgio dos Anjos pela ajuda nas análises estatísticas ou dicas importantes para o bom desempenho na avaliação dos resultados e, a Renata da Cruz pela ajuda na fase inicial do curso, a qual me esclareceu muitas dúvidas sobre marcadores moleculares.

A todos os amigos que tive o prazer de conviver harmoniosamente e dividir momentos de alegria, em especial ao Alexandre, Edson Amorin, Caren, Cláudia Lemons, Mariangela dos Santos, Paulo Fagundes, Renata da Cruz e Sérgio dos Anjos.

Especialmente gostaria de agradecer ao meu esposo Sérgio Lopes, por toda a ajuda, ensinamentos, incentivo e dedicação, principalmente nos momentos finais deste trabalho. As minhas filhas por determinados momentos de ausência, devido ao tempo que tive que dedicar ao trabalho e aos estudos.

# CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA E MOLECULAR DE GENÓTIPOS DE ARROZ IRRIGADO<sup>1</sup>

Autor: Mara Cristina Barbosa Lopes

Orientador: Sandra Cristina Kothe Milach

## RESUMO

A existência e o conhecimento detalhado da variabilidade genética no germoplasma são fatores importantes para que ocorra avanço genético nos programas de melhoramento. Neste sentido, este trabalho teve como objetivo geral caracterizar a variabilidade genética existente em um grupo de cultivares e linhagens do germoplasma de arroz irrigado, disponível no programa de melhoramento do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA). Os objetivos específicos foram identificar os marcadores morfológicos mais informativos para descrição de genótipos individuais; avaliar a eficiência dos descritores mínimos de arroz (DMA) quanto a distinguibilidade de genótipos; investigar a capacidade dos marcadores morfológicos e moleculares em separar os grupos índica e japônica de arroz; estimar o grau de similaridade genética entre genótipos de arroz irrigado através de marcadores moleculares do tipo RAPD e microssatélites; comparar o padrão de agrupamento de genótipos analisados com marcadores moleculares e morfológicos. Foram avaliados 38 genótipos constituídos por variedades e linhagens, utilizando-se os DMA para a caracterização morfológica e, marcadores do tipo RAPD e microssatélites para análise molecular. As características morfológicas mais polimórficas foram o peso de 1000 grãos e o ciclo, e as que mais contribuíram para separar os genótipos dos dois grupos foram o ângulo da folha bandeira, comprimento do colmo, grau de exerceção e degrane da panícula. Os DMA não foram suficientes para fazer a distinguibilidade de todos os materiais e também não separaram corretamente os genótipos dos grupos índica e japônica. A maior similaridade genética média foi para características morfológicas ( $0,76 \pm 0,081$ ) seguida por RAPD ( $0,42 \pm 0,14$ ) e microssatélites ( $0,25 \pm 0,20$ ). O teste de Mantel mostrou maior correlação genética entre RAPD e microssatélites do que estes relacionados aos marcadores morfológicos. Os locos OPA-16 (900 pb), OPM-02 (1150 pb) e RM-261 separaram os genótipos índica dos japônica. Este estudo mostrou que os marcadores moleculares são mais efetivos em identificar variabilidade genética entre os genótipos de arroz irrigado utilizados no programa de melhoramento do IRGA.

---

<sup>1</sup> Dissertação de Mestrado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (79 p.) Março de 2002.

# PHENOTYPIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF IRRIGATED RICE GENOTYPES<sup>1</sup>

Author: Mara Cristina Barbosa Lopes  
Advisor: Sandra Cristina Kothe Milach

## ABSTRACT

The knowledge of the available genetic variability in the germoplasm is essential to improving breeding programs. In this way, the main objective of this study was to determine the level of genetic variability among genotypes used in the Rice Institute of Rio Grande do Sul State (IRGA) breeding program. The specific objectives were to identify the most informative morphological markers for rice variety description; evaluate the ability of the official Brazilian rice minimal descriptors (RMD) to distinguish rice genotypes; investigate the capacity of molecular and morphological markers to separate Indica and Japonica rice groups; determine the genetic similarity degree of irrigated rice genotypes using random amplified polymorphic DNA (RAPD) and microsatellite markers; and, compare dendrograms and groups formed with morphological and molecular markers. Thirty-eight irrigated rice genotypes were evaluated using RMD, RAPD and microsatellite markers. The most polymorphic morphological traits were 1000 grains weight and days to maturity. Flag leaf angle, culm length, and panicle exertion and shattering revealed the most differences between Indica and Japonica genotypes. However, RMD was not able to completely distinguish all rice genotypes and to separate correctly the Indica and Japonica groups. The higher genetic similarity mean was obtained with morphological markers ( $0.76 \pm 0.081$ ) followed by RAPD ( $0.42 \pm 0.14$ ) and microsatellites ( $0.25 \pm 0.20$ ). The correlation coefficients obtained by Mantel matrix correspondence test showed higher genetic relationship between RAPD and microsatellites than these molecular markers and morphological markers. The loci OPA-16 (900 pb), OPM-2 (1150 pb), and RM-261 discriminated the Indica and Japonica groups. This study showed that the molecular markers are most effective in identifying genetic variability among the irrigated rice genotypes used by the Rice Institute of Rio Grande do Sul State (IRGA) breeding program.

---

<sup>1</sup>Master of Science dissertation in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (79 p.) March, 2002.

## SUMÁRIO

	Página
CAPÍTULO I: INTRODUÇÃO GERAL.....	01
CAPÍTULO II: Caracterização fenotípica de genótipos de arroz irrigado.....	09
2.1. INTRODUÇÃO .....	09
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	12
2.2.1. <i>Germoplasma utilizado</i> .....	12
2.2.2. <i>Avaliação das características fenotípicas dos genótipos de arroz</i> .....	12
2.2.3. <i>Análise estatística</i> .....	15
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	16
2.4. CONCLUSÕES.....	27
CAPÍTULO III: Divergência genética entre genótipos de arroz irrigado estimada através de marcadores moleculares RAPD e microssatélites e características morfológicas.....	39
3.1. INTRODUÇÃO .....	39
3.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	44
3.2.1. <i>Germoplasma utilizado</i> .....	44
3.2.2. <i>Extração do DNA</i> .....	44
3.2.3. <i>Análise de RAPD</i> .....	45
3.2.4. <i>Análise de microssatélites</i> .....	45
3.2.5. <i>Comparação de marcadores moleculares com características morfológicas</i> .....	46
3.2.6. <i>Análise estatística</i> .....	47



3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	48
3.3.1. <i>Análise com marcadores RAPD</i> .....	48
3.3.2. <i>Análise com marcadores microssatélites</i> .....	50
3.3.3. <i>Comparação entre marcadores RAPD e microssatélites</i> .....	53
3.3.4. <i>Análise entre os marcadores de RAPD, microssatélites e morfológicos</i> .....	55
3.3.5. <i>Base genética do germoplasma no melhoramento de arroz</i> .....	57
3.4. CONCLUSÕES .....	59
CONCLUSÕES GERAIS .....	70
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
VITA.....	80

## RELAÇÃO DE TABELAS

	<b>Página</b>
2.1. Genótipos de arroz utilizados no estudo, seu grupo e respectivas genealogias. Cachoeirinha, IRGA / EEA, 2002.....	28
2.2. Médias e desvio padrão (cm) e classes para as características comprimento do colmo e da panícula e espessura do colmo, avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado. Cachoeirinha, IRGA / EEA, 2002.....	29
2.3. Descritores morfológicos da folha, avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.....	30
2.4. Descritores morfológicos do colmo avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.....	31
2.5. Descritores morfológicos da panícula avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.....	32
2.6. Descritores morfológicos da espiguetta avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.....	33
2.7. Ciclo cultural e descritores morfológicos do grão, avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.....	34
2.8. Características agronômicas dos 38 genótipos de arroz irrigado, avaliados na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.....	35
2.9. Características químicas e físicas dos grãos avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.....	36
2.10. Matriz de similaridade genética de 38 genótipos de arroz obtida pelo coeficiente “simple matching similarity” para os dados morfológicos. UFRGS, 2002.....	37
3.1. Genótipos de arroz utilizados no estudo, seu grupo e respectivas genealogias. Cachoeirinha, IRGA / EEA, 2002.....	60

3.2.	Porcentagens de marcadores polimórficos e monomórficos obtidas com 32 <i>primers</i> de RAPD avaliados. UFRGS, 2002.....	61
3.3.	Locos microssatélites utilizados na análise de 38 genótipos de arroz, seqüência dos <i>primers</i> , localização cromossô-mica, temperatura de anelamento e alelos amplificados. UFRGS, 2002.....	62
3.4.	Matriz de similaridade genética de 38 genótipos de arroz obtida pelo coeficiente de Jaccard para os dados dos marcadores RAPD. UFRGS, 2002.....	63
3.5.	Matriz de similaridade genética de 38 genótipos de arroz obtida pelo coeficiente de Jaccard para os dados dos marcadores de Microssatélites. UFRGS, 2002.....	64
3.6.	Médias dos coeficientes de similaridade entre todos os genótipos dentro dos grupos índica e japônica, para os diferentes marcadores. UFRGS, 2002.....	65

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
2.1. Dendograma do agrupamento de 38 genótipos de arroz para características morfológicas. UFRGS, 2002.....	38
3.1. Dendograma do agrupamento de 38 genótipos de arroz com marcadores RAPD. UFRGS, 2002.....	66
3.2. Dendograma do agrupamento de 38 genótipos de arroz com marcadores microssatélites. UFRGS, 2002.....	67
3.3. Dendograma do agrupamento de 38 genótipos de arroz para características morfológicas. UFRGS, 2002.....	68
3.4. Correlação entre as matrizes de similaridade RAPD e microssatélite. UFRGS, 2002.....	69
3.5. Correlação entre as matrizes de similaridade morfológica e microssatélites. UFRGS, 2002.....	69
3.6. Correlação entre as matrizes de similaridade morfológica e RAPD. UFRGS, 2002.....	69

## **CAPÍTULO I**

### **1.1. INTRODUÇÃO GERAL**

O arroz (*Oryza sativa* L.), pertencente à família das Poaceae, constitui-se no principal alimento para a grande maioria da população da América Latina e da Ásia. No Brasil, é o responsável por 18 % das calorias e 12 % das proteínas da dieta básica da população. A produção deste cereal no Brasil é originária, principalmente, das lavouras irrigadas do Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC), sendo que a cultura do arroz no RS está entre as poucas exceções cujo aumento da produção decorre, não só do acréscimo da área cultivada, mas também do incremento da produtividade.

Em virtude do uso de cultivares do grupo moderno, com alto potencial produtivo, que em média é de 8 t ha<sup>-1</sup>, de insumos e de tecnologias modernas, a produtividade média da lavoura de arroz do RS cresceu nas últimas décadas. Na safra 2000/2001, foram cultivados 942.596 hectares e o rendimento médio obtido foi de 5.625 kg ha<sup>-1</sup> (IRGA, 2002), que pode ser comparado à média dos mais importantes países produtores de arroz no mundo. Além disso, a qualidade do arroz produzido tem tido a preferência do consumidor nacional.

No melhoramento genético de plantas, o avanço genético pode ser alcançado a partir do momento em que existe variabilidade genética, que o

efeito ambiental não mascare por completo esta variabilidade, e que a seleção e recombinação de genótipos superiores possam ser realizadas com o fim de se estabelecer a próxima geração. Em arroz irrigado, existe uma limitação da variabilidade, em consequência do estreitamento da base genética e, provavelmente isto esteja contribuindo para o estabelecimento de patamares de produtividade. Isto pode ser evidenciado nos cultivares de arroz produzidos no Rio Grande do Sul, em que 86 % da sua constituição genética provém de apenas seis ancestrais conforme estudo realizado por Rangel *et al.* (1996) com base na genealogia.

No Rio Grande do Sul, o cultivo das primeiras lavouras de arroz nas coxilhas da Depressão Central data de 1833. Entre os anos de 1890 e 1900, os colonos alemães de Taquara e Santa Cruz do Sul realizaram as primeiras experiências com irrigação mecânica. Essas experiências foram seguidas em Gravataí em 1905 e Cachoeira do Sul em 1906. A partir daí, a cultura foi disseminada no Estado (IRGA, 1997).

Na década de 30, quando foi criada a Estação Experimental do Arroz (EEA), pertencente ao Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), 129.000 hectares foram cultivados com arroz irrigado, cuja produtividade média era de 2.300 kg ha<sup>-1</sup>. Os cultivares predominantes eram Piemonte, Nero Vialone e Lenciano, introduzidos da Itália e as americanas Carolina, Blue Rose e Fortuna (IRGA, 1997).

De 1940 até 1965, o IRGA colocou à disposição dos produtores cerca de 20 cultivares com ciclo mais curto que os anteriores e melhor qualidade de grãos. A orizicultura gaúcha já não crescia somente pela absorção de novas

áreas e sim, decorrente de um somatório de técnicas e atitudes, buscando sempre um melhor desempenho do segmento arroseiro (IRGA, 1997).

Segundo Pedroso (1989), a partir do início da década de 1970, foi possível o cultivo de cultivares mais exigentes em manejo, como os do tipo americanos, devido à utilização de práticas culturais mais intensas, como o aplainamento do solo, adubação e utilização de defensivos químicos no controle de plantas daninhas, pragas e moléstias. Houve uma rápida difusão dos cultivares do tipo Patna, de procedência norte-americana, principalmente na Fronteira Oeste e Litoral do Estado. Esses cultivares, apesar de requererem melhor manejo, trouxeram como vantagem a redução das perdas por acamamento, maior resposta em produção de grãos e adição de fertilizantes, adaptação a colheita mecânica e maior valor comercial dos grãos.

A partir de 1971, o IRGA/EEA intensificou o intercâmbio técnico com instituições nacionais e internacionais. Como consequência, as trocas de materiais genéticos e experiências trouxeram resultados positivos. Lançaram-se cultivares modernos de porte baixo e boa produtividade que contribuíram para aumentar substancialmente a produção do Rio Grande do Sul. Em 1978, o BR-IRGA 409 veio revolucionar a orizicultura gaúcha, chegando a ocupar 60 % da área cultivada com arroz irrigado (IRGA, 1997). Vários outros cultivares foram lançados até a safra 2000/2001 por diferentes instituições de pesquisa, sendo os mais plantados atualmente os cultivares IRGA 417, EL PASO 144, BRS 7, QUALIMAX 1, IRGA 416 e BRS 6. Os cultivares lançados recentemente são IRGA 418, IRGA 419, IRGA 420, IRGA 421, FIRMEZA, ATALANTA e PELOTA.

Os cultivares de arroz são classificados em dois grupos: *índica* e *japônica*. Os cultivares *índica* são predominantemente cultivados nos trópicos e subtropicais e os *japônica* em regiões temperadas (Mackill, 1995; Mackill & Lei, 1997). Existe também um terceiro grupo denominado *javânica*, cultivado em planícies tropicais da Indonésia, entretanto, o trabalho realizado por Mackill (1995) com marcadores RAPD mostrou que os genótipos deste grupo estão incluídos no grupo *japônica tropical*. Existem diferenças para várias características agrônômicas entre os genótipos do grupo *índica* e *japônica*, segundo Oka & Morishima (1997), sendo as principais relacionadas a tolerância das plantas a baixas temperaturas, resistência a seca, acamamento e resposta a fertilizantes, habilidade competitiva com plantas vizinhas, germinação em baixas temperaturas, resposta de germinação e taxa de crescimento a temperatura, longevidade da semente e eficiência fotosintética das folhas com o mesmo conteúdo de proteína. Neste sentido, é importante a classificação dos genótipos de arroz nestes dois grupos para os melhoristas, pois ela indica adaptação a ambientes específicos e influencia, desta forma, as estratégias para utilização de germoplasma (Mackil *et al.*, 1996).

No Brasil, a maioria dos cultivares de arroz irrigado utilizados são do grupo *índica*, obtidos por cruzamentos entre linhagens introduzidas principalmente do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) e do International Rice Research Institute (IRRI) (Rangel *et al.*, 1996). Semelhante ao que acontece no Brasil, nos países da América Latina, os cultivares comerciais de arroz são também caracterizados por elevado grau de homogeneidade genética (Fuentes *et al.*, 1999). Isto foi evidenciado no trabalho



realizado por Cuevas-Pérez *et al.* (1992), onde foi verificado que 56 % dos genes dos cultivares de arroz explorados comercialmente são oriundos da Deo Geo Woo Gen, Cina e Lati Sail.

Em estudo realizado baseado na genealogia com o objetivo de determinar a base genética dos cultivares de arroz irrigado cultivados no Brasil, foi verificado que a maior contribuição genética é dada pelos ancestrais oriundos da China, com 35,52 % e que apenas dez ancestrais contribuem com 68 % do conjunto gênico (Rangel *et al.*, 1996). Estes mesmos autores verificaram que no Rio Grande do Sul, que é o maior produtor de arroz irrigado do Brasil, apenas seis ancestrais (Deo Geo Woo Gen, Cina, Lati Sail, Geo Tze, Mong Chim Vang A, Belle Patna) contribuem com 86 % dos genes das variedades de arroz mais plantadas.

Dentre as doenças que ocorrem no arroz, a brusone (*Pyricularia grisea* Sacc.) é considerada a mais importante, não só no Brasil como em todo o mundo, devido principalmente aos prejuízos que acarreta no rendimento da cultura (Dario *et al.*, 1999; Nunes *et al.*, 1999; Disconzi *et al.*, 2001). Contudo, conforme Rangel *et al.* (1996), apenas duas fontes de resistência, Tetep e Tadukan, contribuem com genes para os cultivares brasileiros de arroz irrigado. A principal consequência da limitação da diversidade genética é a redução das possibilidades de ganhos adicionais na seleção, uma vez que o melhorista passa a manejar um conjunto gênico de tamanho limitado (Rangel e Zimmermann, 1998).

O aumento da base genética dos cultivares de arroz irrigado do Brasil é desejável para se romper, a médio e longo prazo, o atual platô de produtividade

e evitar a vulnerabilidade genética (Rangel *et al.*, 1996). Entre os pré-requisitos para introdução de novas características no germoplasma elite estão a existência de diversidade genética no banco de germoplasma de arroz e a utilização de germoplasma exótico em cruzamentos múltiplos com materiais elite, não aparentados (Ko *et al.*, 1994; Rangel *et al.*, 1996 ). Segundo Fuentes *et al.* (1999), mesmo quando programas de melhoramento incluem grande amplitude de linhas parentais, ocorrem problemas de esterilidade em cruzamentos entre genótipos índica e japônica, reduzindo o sucesso na tentativa de aumentar a base genética dos cultivares comerciais. Portanto, a identificação de variabilidade genética dentro do germoplasma adaptado é também essencial para evitar esses problemas e, a curto prazo, continuar obtendo-se ganhos genéticos.

Melhoramento é a fase contemporânea da evolução das plantas cultivadas e o mecanismo fundamental é a substituição de alelos, seguido do isolamento diferenciado dos produtos de seleção (Federizzi,1998). Segundo o mesmo autor, a variabilidade genética é a base de todo melhoramento de plantas. O progresso genético através da seleção em populações segregantes é diretamente proporcional à variabilidade genética disponível e à frequência de genótipos superiores existentes nestas populações (Barbosa Neto e Bered, 1998).

De uma maneira geral, a agricultura moderna enfatiza o máximo de produtividade, com aceitável qualidade e uniformidade. Isto traz como conseqüência a redução da diversidade genética nos grupos gênicos primário, secundário e terciário, para a maioria das plantas cultivadas (Lee, 1995). O

mesmo autor também enfatiza que a extensão da redução de variabilidade não está quantificada; entretanto genes de grande valor e insubstituíveis têm sido perdidos ou ignorados reduzindo os ganhos genéticos, o que tem feito que a agricultura se torne mais vulnerável às variações climáticas e aos estresses bióticos e abióticos.

Conforme Cao *et al.* (1998), o melhoramento clássico afeta a diversidade genética dentro dos programas de melhoramento e a seleção aumenta a frequência de alelos ou combinações alélicas com efeitos favoráveis com a perda de outros. Desta forma, a diversidade genética acaba sendo reduzida em muitos programas de melhoramento.

O aumento na eficiência de seleção, o melhor conhecimento e caracterização do germoplasma e a maximização dos ganhos genéticos, têm sido objetivos de melhoristas de plantas do mundo inteiro (Milach, 1998). Segundo Weeden *et al.* (1994), é fundamental para o melhorista a identificação de plantas de uma progênie segregante que possuam genes favoráveis. Da mesma forma, Jaradat (1991) salienta que a avaliação da coleção de germoplasma é um pré-requisito importante para uma efetiva utilização deste germoplasma nos programas de melhoramento.

A eficiente utilização da coleção de germoplasma requer o conhecimento do padrão de variação para as características de interesse econômico. Estes padrões de variação podem ser identificados com análises de características morfológicas quantitativas ou qualitativas, isoenzimas, genealogia, marcadores moleculares ao nível de DNA e outros (Beer *et al.*, 1993; Melchinger *et al.*, 1994).

O presente trabalho teve como objetivo geral caracterizar a variabilidade genética existente em um grupo de genótipos de arroz irrigado do banco de germoplasma disponível no programa de melhoramento do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) e como objetivos específicos identificar marcadores morfológicos que separem os dois grupos de arroz índica e japônica, avaliar a amplitude da base genética desse germoplasma e comparar o padrão de agrupamento obtido pelos marcadores morfológicos e moleculares.

Para atingir tais objetivos, este trabalho foi organizado em capítulos. No segundo, foram investigados os marcadores morfológicos e no terceiro os marcadores moleculares e uma análise comparativa com os marcadores morfológicos.

## **CAPÍTULO II**

### **CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE GENÓTIPOS DE ARROZ IRRIGADO**

#### **2.1. INTRODUÇÃO**

Até meados da década de 60, os marcadores utilizados em estudos de genética e melhoramento eram controlados por genes associados a caracteres morfológicos, em geral fenótipos de fácil identificação visual, como nanismo, deficiência clorofítica, cor de pétala ou morfologia foliar. Marcadores morfológicos contribuíram significativamente para o desenvolvimento teórico da análise de ligação gênica e para a construção das primeiras versões de mapas genéticos (Ferreira e Grattapaglia, 1998).

Embora muitas características possam servir de marcadores morfológicos, existem algumas limitações na sua utilização. Entre elas está o forte efeito de genes determinantes destes marcadores que podem afetar a análise genética de grande número de caracteres de importância agronômica. Além disso, poucos caracteres podem ser estudados ao mesmo tempo devido aos efeitos das interações gênicas e também as interações com o ambiente

podem modificar a expressão dos marcadores morfológicos (Weeden *et al.*, 1994; Autrique *et al.*, 1996; Bered *et al.*, 1997).

Ainda assim, muitos pesquisadores têm utilizado marcadores morfológicos para caracterização de germoplasma em estudos de divergência genética. Thanh *et al.* (1999) encontraram variabilidade na maioria das características morfológicas da raiz em genótipos de arroz de sequeiro, indicando a presença de alta diversidade genética. Da mesma forma, Schlosser *et al.* (2000) separaram 21 cultivares do tipo tradicional e cinco cultivares de arroz de sequeiro das Filipinas em cinco grupos, baseados em oito características morfológicas. Para diferenciar as espécies *Oryza malampuzhaensis* e *Oryza officinalis*, Thomas *et al.* (2001) utilizaram 16 materiais, nos quais foram avaliadas 63 características morfológicas e 263 marcadores de RAPD, permitindo a diferenciação entre os dois taxa. Outros estudos de diversidade genética tem sido realizados, conforme trabalhos desenvolvidos em trigo (Jaradat, 1991; Autrique *et al.*, 1996), aveia (Beer *et al.*, 1993) e feijão (Mitrick *et al.*, 1997).

De acordo com Lee (1995), as coleções de germoplasma de plantas cultivadas estão sendo caracterizadas pelo sistema de descritores e após organizadas em categorias. Estes sistemas têm sido importantes para registro de cultivares. Com a lei brasileira de proteção de cultivares (Brasil, 1997), o registro de novos materiais, com as respectivas avaliações dos descritores mínimos, passaram a ser requeridos pelo Ministério da Agricultura.

Em arroz, 27 descritores mínimos estão sendo solicitados para registro. O poder de discriminação desses descritores é fundamental, pois o registro de

um novo cultivar só é concedido mediante a comprovação de sua distingüibilidade, homogeneidade e estabilidade. Apesar dos descritores mínimos de arroz estarem sendo utilizados, nenhum estudo foi feito para averiguar sua capacidade de distinguir os novos genótipos do germoplasma nos programas de melhoramento de arroz no Brasil.

Desta forma, o presente trabalho objetivou caracterizar a morfologia de 38 genótipos de arroz irrigado para identificar os marcadores mais informativos para descrição de genótipos individuais, avaliar a eficiência dos descritores mínimos de arroz quanto a distingüibilidade de genótipos e investigar a capacidade dos mesmos em separar os grupos índica e japônica de arroz.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.2.1. Germoplasma utilizado

Para a realização deste estudo foram utilizados 38 genótipos (Tabela 2.1), provenientes do banco de germoplasma do Programa de Melhoramento da Estação Experimental do Arroz (EEA) do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), constituído por cultivares e linhagens utilizados no programa de cruzamentos.

### 2.2.2. Avaliação das características fenotípicas dos genótipos de arroz

Os 38 genótipos foram avaliados para características fenotípicas em um ensaio realizado na Estação Experimental do Arroz, localizada em Cachoeirinha, RS, na safra 1999/2000. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições. A semeadura foi no sistema convencional, utilizando-se uma semeadora de parcelas composta por seis linhas, espaçadas em 0,20 m, com densidade de 150 kg ha<sup>-1</sup> de sementes. O tamanho das unidades experimentais foi de 3,6 m<sup>2</sup> (3 m de comprimento por 1,2 m de largura). A adubação de base foi conforme o resultado da análise de solo e para a adubação de cobertura foi aplicada a dose de 50 kg ha<sup>-1</sup> de nitrogênio.

A caracterização morfológica dos genótipos de arroz foi realizada através dos descritores mínimos de arroz (*Oryza sativa* L.) (DMA), desenvolvidos pelo Ministério da Agricultura e do Abastecimento, Secretaria de



Desenvolvimento Rural – SDR e pelo Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC, para as seguintes características:

- *cor da folha*: as colorações do limbo e da bainha no início do aparecimento das panículas;
- *pubescência do limbo foliar*: entre os estádios de emborrachamento e da emissão da panícula;
- *cor da aurícula e cor da lígula*: na penúltima folha, entre os estádios de emborrachamento e da antese;
- *ângulo da folha bandeira*: ângulo formado em relação ao colmo, na antese;
- *comprimento do colmo*: medido no colmo principal, sendo a distância do nível do solo ao nó ciliar da panícula, em amostra de 10 plantas, a partir do enchimento dos grãos;
- *espessura do colmo*: medida do diâmetro da parte mediana do colmo principal, em amostra de 20 plantas durante a antese;
- *ângulo dos afilhos*: durante o enchimento dos grãos;
- *cor do internódio do colmo*: no início da floração;
- *coloração de antocianina nos nós do colmo*: avaliação visual realizada entre o início do enchimento e final da fase leitosa dos grãos;
- *comprimento da panícula*: distância do nó ciliar à última espiguetta da panícula, a partir do enchimento dos grãos, em 10 plantas;
- *tipo da panícula*: classificada de acordo com o ângulo das ramificações primárias durante a maturação;
- *grau de exerceção da panícula*: avaliação da distância entre o colar da folha bandeira e nó ciliar, realizada durante o enchimento dos grãos, conforme as

seguintes classes: completa, com o nó ciliar distante 5 cm ou mais do colar da folha bandeira; média, com o nó ciliar entre 1 e 5 cm do colar da folha bandeira e justa, com o nó ciliar situado no mesmo nível do colar da folha bandeira;

- *degrane dos grãos*: porcentagem de grãos debulhados após pressionar levemente a panícula com a mão, na fase de maturação;
- *presença, distribuição e comprimento das aristas*: após o enchimento dos grãos;
- *cor do estigma*: na antese;
- *pubescência das glumelas*: observada durante a maturação;
- *cor do ápulo*: na floração observada durante a antese e na maturação dos grãos;
- *cor das glumelas*: na maturação;
- *cor das glumas estéreis*: no final da maturação;
- *ciclo cultural*: número de dias da emergência à maturação;
- *peso de 1000 grãos*: peso de 1000 grãos completamente desenvolvidos a 13 % de umidade;
- *comprimento dos grãos*: medição de 200 grãos inteiros descascados e não polidos, tomados ao acaso;
- *forma dos grãos*: classificação realizada com base na razão comprimento/largura dos grãos descascados e não polidos;
- *cor dos grãos descascados*: após o descasque dos grãos e antes do polimento.

Foram também avaliadas as características de rendimento de grãos, rendimento de engenho, 80 % da floração após a emergência e testes de qualidade culinária, através das análises de centro branco, temperatura de gelatinização e teor de amilose, utilizando-se a metodologia desenvolvida pelo CIAT (1989). Para avaliar o rendimento de grãos, foi colhida uma área de 1,6 m<sup>2</sup> por parcela, correspondendo às 4 linhas centrais com 2 m de comprimento. Após a colheita, o arroz foi trilhado, limpo e seco até os grãos atingirem 13 % de umidade. A seguir foi coletada uma amostra de 100 g por parcela para o beneficiamento do arroz em um engenho de pequenas amostras, marca SUZUKI, determinando-se o peso dos grãos inteiros após o beneficiamento. Foi coletada uma amostra, de aproximadamente 5 g, dos grãos descascados e polidos, de cada genótipo, para as análises de qualidade.

### **2.2.3. Análise estatística**

As características relacionadas à espessura e comprimento do colmo, comprimento da panícula, rendimento de grãos, rendimento de grãos inteiros e floração (80 %) foram submetidas à análise de variância e testadas estatisticamente através do F-teste, no programa estatístico Statistical Analysis System (SAS Institute, 2000), versão 8.0. A comparação entre as médias foi realizada através do teste de Duncan, a 5 % de probabilidade.

As características de espessura e comprimento do colmo, comprimento da panícula, ciclo e comprimento dos grãos não apresentavam, nos DMA, intervalos para o estabelecimento de classes discretas. Desta forma, para as três primeiras características, os genótipos foram agrupados em classes, como

descrito a seguir. A classe central foi definida pelo intervalo de mais ou menos um desvio padrão ao redor da média (Tabela 2.2). As outras duas classes ficaram acima ou abaixo da classe central.

Os intervalos de classes para a característica de ciclo foram definidos conforme proposta da Associação Brasileira dos Obtentores Vegetais - BRASPOV, segundo a qual as diferentes classes serão apresentadas a seguir, com o número de dias correspondentes. Ciclo muito curto: # 105; curto: 106-120; médio: 121-135; longo: 136-150; muito longo: > 150. Para comprimento de grãos, as classes foram estabelecidas conforme as normas para classificação do Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária (Brasil, 1988).

Para determinação das distâncias genéticas foi construída uma matriz, incluindo todas as características avaliadas. Foi atribuído o valor de 1 para presença e 0 para a ausência da classe dentro de cada característica. Os dados foram analisados no programa NTSYS-PC, versão 2.10 (Rohlf, 2000). A similaridade genética foi calculada através do coeficiente "Simple Matching Similarity" utilizando-se o programa SIMQUAL. Os genótipos foram agrupados com base na matriz de similaridade, através do método UPGMA (Unweighted pair-group method, arithmetic average) e o SAHN (Sequential agglomerative hierarchical cluster analysis) e a relação entre genótipos foi visualizada com o dendograma obtido.

### **2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Através das diferentes classes das características estudadas, obteve-se um total de 77 marcadores, sendo 72 polimórficos e cinco monomórficos.

As características relacionadas à folha foram agrupadas na Tabela 2.3. Das cinco características avaliadas, três foram polimórficas (cor da folha, pubescência do limbo e ângulo da folha bandeira), mas foram poucas classes formadas para cada caráter, considerando-se todos os genótipos estudados. Estas características são fáceis de serem avaliadas em relação às outras duas, cor da aurícula e cor da lígula, que se mostraram monomórficas. Apesar da cor da folha, da aurícula e da lígula serem pouco influenciadas pelo ambiente, a cor da folha pode ser alterada principalmente nas plantas novas. Em solos que apresentam deficiência de nitrogênio, as folhas apresentam tonalidade verde clara, ao contrário dos solos mais férteis, onde adquirem tonalidade verde escura. Nenhuma destas características permitiu diferenciar os grupos índica e japônica (Tabela 2.3).

As características relacionadas ao colmo das plantas mostraram-se, de modo geral, polimórficas, exceto para ângulo dos afilhos em que todos os genótipos foram classificados como ereto (Tabela 2.4). Dentre essas, as características de espessura e comprimento do colmo têm recebido atenção especial na busca de genótipos resistentes ao acamamento para o sistema de cultivo pré-germinado.

Genótipos com colmos longos e finos são indesejáveis para esse objetivo. De fato, os genótipos BLUEBELLE, COLOMBIA 1, DAWN, DIAMANTE, EEA 404, EEA 406, IAS – 12 – 9 FORMOSA e KOSHIHIKARI, todos pertencentes ao grupo japônica (Tabela 2.1), apresentaram comprimento

de colmo longo. Além disso, os dois últimos materiais apresentaram colmos de espessura fina, não sendo fontes interessantes para desenvolvimento de cultivares para o sistema de cultivo pré-germinado (Tabela 2.4). Na condução do experimento de campo, esses genótipos tiveram problemas com acamamento, o que se refletiu em rendimentos de grãos inferiores ou intermediários.

De uma maneira geral, não houve muita variabilidade para as características relacionadas à panícula entre os materiais estudados (Tabela 2.5), não sendo estas muito informativas para separar genótipos. Além disso, a altura de exerceção da panícula pode ser afetada por fatores do ambiente, como frio, deficiência hídrica e outros. Também a arista, quando presente em determinados cultivares, pode ter o seu comprimento alterado pela densidade de semeadura e pela fertilidade do solo (Fonseca e Bedendo, 1984).

Para as características relacionadas à espiguetas, apenas a cor das glumelas foi igual para todos os materiais (Tabela 2.6). Entretanto, foram poucas as classes formadas dentro de cada caráter, exceto para pubescência das glumelas, onde se constituíram quatro classes. Essa, contudo é uma característica de difícil avaliação, visto que a classificação para pubescência pode variar conforme o observador e é difícil determinar o limite entre uma classe e outra.

Ciclo é uma característica importante a ser considerada para recomendação de cultivares que podem ser plantados em cada região orizícola. Os resultados para o ciclo e para as características do grão estão apresentados na Tabela 2.7. Os genótipos foram agrupados em cinco classes

para ciclo, variando de muito curto a muito longo. Os cultivares EPAGRI 108 e EPAGRI 109 apresentam ciclo muito longo e estão entre os que tiveram baixos rendimentos de grãos (Tabela 2.8). O ciclo tardio desses materiais pode explicar, em parte, o desempenho inferior para rendimento de grãos.

Foram formadas três classes para comprimento dos grãos. Apenas o cultivar COLOMBIA 1 foi classificado como apresentando grão médio e os cultivares IAS – 12 – 9 FORMOSA e KOSHIHIKARI apresentaram grão curto. Os demais genótipos apresentaram grãos classificados como longo. Estes resultados mostram que nem todos os materiais do grupo japônica apresentam necessariamente grão curto, não sendo este um parâmetro morfológico indicado para separar genótipos dos grupos índica e japônica.

Os genótipos formaram grupos diferenciais quanto às características de forma e cor dos grãos e a maior diversidade foi relacionada à forma, onde se obteve quatro classes (Tabela 2.7).

Entre todas as características morfológicas estudadas, o peso de 1000 grãos, com sete classes, e o ciclo, com cinco classes, foram as mais polimórficas (Tabela 2.7). A cor do estigma, comprimento das aristas, pubescência das glumelas e a forma dos grãos tiveram polimorfismo intermediário, e os genótipos foram agrupados em quatro classes para cada caráter. As características monomórficas incluíram a cor da aurícula e da lígula, o ângulo dos afilhos, a distribuição das aristas e a cor das glumelas.

A caracterização morfológica foi feita utilizando-se os descritores mínimos de arroz. Assim sendo, este estudo foi um exercício de aplicação dos descritores oficiais disponíveis para um grupo de genótipos de arroz. Essa

experiência prática revelou alguns entraves que são descritos a seguir. O descritor “distribuição das aristas” não distinguiu os genótipos analisados (Tabela 2.5). Sabe-se contudo, que existem genótipos de arroz sem aristas ou múticos, que não puderam ser enquadrados em nenhuma classe com base neste descritor. Sugere-se que o item distribuição das aristas seja substituído por aristas, mantendo-se as mesmas classes, incluindo apenas a alternativa de mútica, pois nem todos os genótipos são aristados.

Para o caráter comprimento das aristas (Tabela 2.5), seria interessante separar a opção ausente de muito curta, já que as duas estão juntas na mesma classe, ficando mais adequada essa separação de classe, caso o material avaliado não tenha arista. Da mesma forma, com relação à pubescência e cor das glumelas (Tabela 2.6), onde estão juntas as classes ausente ou muito fraca e cor palha com a cor dourada, respectivamente.

Nas classes estabelecidas para cor do estigma (Tabela 2.6) não consta a cor vermelha. Contudo, para os genótipos COLOMBIA 1 e ELONI foi identificado este tipo de coloração. Na avaliação realizada para cor do ápulo na floração no cultivar CYPRESS foi identificado que existe variação na coloração, sendo a maioria de cor branca e alguns ápulos com cor vermelha.

Outra consideração a ser feita é que devem ser estabelecidos intervalos para determinação das classes relacionadas às características de comprimento e espessura do colmo, comprimento de panícula, comprimento de grãos e ciclo (Tabelas 2.4, 2.5 e 2.7), proporcionando, desta forma, uma padronização nos critérios de avaliação para todos que forem fazer a caracterização morfológica de genótipos e utilizarem os descritores mínimos de arroz.



Quanto ao rendimento de grãos (Tabela 2.8), de maneira geral, observou-se que os genótipos do grupo índica foram mais produtivos que os do grupo japônica, justificando a maior área explorada com estes materiais no RS. Entre os índica, destacam-se os cultivares e linhagens desenvolvidos pelos programas de melhoramento locais, corroborando a importância da adaptação dos genótipos ao ambiente alvo. Para a variável rendimento de grãos inteiros, também se destacaram os genótipos locais (Tabela 2.8). Na mesma tabela estão apresentados os dados de floração, para os quais se verificou que os materiais CICA 8, EPAGRI 108, EPAGRI 109 e COLOMBIA 1 são muito tardios para as condições climáticas do RS.

Neste trabalho também foram estudadas as características de qualidade culinária dos grãos (Tabela 2.9). Esses são fatores importantes na tomada de decisão para seleção de genótipos promissores. A boa qualidade dos grãos é importante para aceitação pelo agricultor, indústria e também pelo consumidor. Com relação ao centro branco, os materiais apresentaram boa aparência, a exceção foi para os cultivares DIWANI e para a linhagem IRGA 440-49-2-2-5 que apresentaram valores de 2,0 e 1,3, respectivamente. Segundo CIAT (1989), o principal fator que influencia o aspecto opaco dos grãos é a temperatura depois da floração, sendo que as temperaturas altas aumentam o centro branco e as baixas o diminuem.

O genótipo BRS 7 apresentou temperatura de gelatinização alta e o cultivar EPAGRI 109 baixa/média, diferente dos dados divulgados anteriormente, os quais apresentaram, respectivamente, temperatura de gelatinização intermediária/baixa e alta (Tabela 2.9). Essa diferença de

resultados pode ser explicada pela influência do ambiente, o que dificulta o entendimento da herança da temperatura de gelatinização. Alguns autores consideram que esta é determinada por um ou dois genes maiores e outros relatam que vários genes controlam este caráter, conforme está citado em CIAT (1989). Segundo esta referência, o principal fator que afeta a temperatura de gelatinização é a temperatura do ambiente na qual o grão de arroz se desenvolve. Temperatura baixa depois da floração tende a diminuir a temperatura de gelatinização e o conteúdo de amilose do amido. Por outro lado, temperaturas altas depois da floração aumentam a temperatura de gelatinização, reduzindo a qualidade culinária. A temperatura de gelatinização é aquela na qual os grãos de amido começam a absorver água e inchar de forma irreversível. Está associada com o conteúdo de amilose, que é o principal determinante da qualidade culinária do arroz, com a dureza do grão e o com o tempo de cocção. Os programas de melhoramento buscam genótipos com grãos com baixa temperatura de gelatinização e com teores de amilose variando de intermediário a alto. De uma maneira geral os materiais que apresentam teor de amilose alto foram avaliados com teor de amilose intermediário neste estudo.

Segundo Rutger e Mackill (2001), trabalhos têm sido realizados para estudar a herança dos níveis de amilose, os quais incluem genótipos de arroz japônica temperado, com grão médio e curto e baixo conteúdo de amilose (16-18 %), japônicas tropicais com grão longo do sul dos Estados Unidos, com amilose intermediária (21-24 %) e materiais com amilose alta (26-28 %), compreendendo os do grupo indica. Nos estudos de McKenzie e Rutger (1983)

e Kumar e Khush (1987) foi constatado que cruzamentos entre genitores que apresentavam teor de amilose baixa e intermediária, o conteúdo de amilose foi controlado por um ou dois genes. Em cruzamentos com genitores que apresentavam amilose alta, houve efeito de dominância dos genes para alta amilose sobre aqueles para níveis baixo ou intermediário (Kumar & Khush,1987). Além destes genes de maior efeito no fenótipo estão também presentes genes de menor efeito.

Neste estudo, a análise individual das características morfológicas mostrou baixo poder de discriminação entre os genótipos, pois a maioria classificou-os em duas a três classes. Através dos descritores não foi possível separar os grupos índica e japônica. Por esse motivo, foi realizada uma análise de agrupamento dos genótipos, considerando a informação conjunta de todos os descritores.

A matriz de similaridade genética (SG), obtida das 27 características morfológicas apresentou amplitude de 0,51 a 0,97 (Tabela 2.10) e a SG média de  $0,76 \pm 0,08$ . Estes resultados confirmaram aqueles obtidos com a análise individual das características morfológicas. Outros trabalhos de divergência genética em arroz foram realizados, utilizando características morfológicas, através das quais foi possível identificar alta divergência genética entre os materiais avaliados (Thanh *et al.*, 1999; Thomas *et al.*, 2001). Essas diferenças de separação dos materiais podem ser atribuídas ao nível de divergência entre os genótipos em cada um dos estudos realizados, sendo que Thanh *et al.* (1999) trabalharam com genótipos originados de diferentes países e no estudo feito por Thomas *et al.* (2001) utilizaram diferentes espécies do gênero *Oryza*.

Foi realizada uma análise de agrupamento dos genótipos, considerando a informação conjunta de todas as características e através dessa análise foi possível separar 6 grupos de genótipos. Para formação dos grupos foi utilizado como critério a similaridade genética média (0,76). O grupo A foi formado por linhagens e cultivares do tipo moderno de planta predominando genótipos indica, exceto INIA TACUARI e CYPRESS (Figura 2.1). Conforme Pedroso, (1989) as plantas do tipo moderno caracterizam-se pelo porte baixo ou médio, com boa resposta a nitrogênio e resistência a acamamento, folhas curtas e eretas, afilhamento vigoroso, panículas grandes e férteis, plantas resistentes ao ataque de doenças e pragas e ciclo vegetativo de 120 a 140 dias da emergência a maturação.

Observou-se ainda que o cultivar BRS 7 e a linhagem IRGA 1598 apresentaram similaridade genética de 0,97.

O cultivar DIAMANTE agrupou separadamente, formando o grupo B, distinguindo-se dos demais para a característica de cor do estigma (Tabela 2.6).

No grupo C ficaram os genótipos BLUEBELLE e DAWN, com glumas estéreis de cor dourada (Tabela 2.6). Estes cultivares são americanos e foram muito plantados no Rio Grande do Sul na década de 70.

O grupo D foi formado pelos cultivares COLOMBIA 1, ELONI e L 202. Os cultivares EEA 404 e EEA 406 formaram o grupo E, ambos apresentam a mesma genealogia, pertencem ao tipo de planta tradicional e se destacaram na lavoura orizícola do RS nos anos 60. No grupo F ficaram os cultivares IAS 12-9

FORMOSA e KOSHIHIKARI, ambos com panícula compacta, grão curto e semi-arredondado (Tabelas 2.5 e 2.7).

A similaridade genética encontrada neste estudo teve amplitude de 0.51 a 0.97 entre os genótipos estudados, evidenciando-se baixo poder de discriminação obtido através de marcadores morfológicos. Esses resultados estão de acordo com Rangel *et al.* (1996), que constatou estreita base genética dos materiais cultivados no RS.

Não foi possível separar os genótipos dos grupos índica dos do japônica. Apesar da discriminação dos genótipos em grupos, a similaridade entre os grupos formados foi alta (0,76). Portanto, as características incluídas nos descritores morfológicos não foram totalmente adequadas e suficientes para separação dos dois grupos. Um exemplo disso é o cultivar CYPRESS, lançado em 1983 nos Estados Unidos que, apesar de ser do grupo japônica, foi agrupado no grupo índica. Uma explicação para isso pode ser atribuída à seleção realizada, a qual foi direcionada para obter-se o tipo de planta moderna.

O baixo poder de discriminação dos marcadores morfológicos avaliados neste estudo se deve, provavelmente, à similaridade genética do material estudado. De fato, os descritores morfológicos foram discriminativos no trabalho realizado por Thomas *et al.* (2001). Estes autores conseguiram separar claramente as espécies *Oryza malampuzhaensis* (Krish e Chand) e *Oryza officinalis* (Wall e Watt) por meio de 23 características morfológicas entre 63 avaliadas. Da mesma forma, Thanh *et al.* (1999) encontraram marcadores morfológicos da raiz e parte aérea que separaram 46 genótipos nos grupos

índica e japônica, o que foi confirmado por marcadores de DNA (microssatélites). Estes resultados indicam que quanto mais distantes geneticamente forem os genótipos, mais fácil é identificar marcadores morfológicos que os distingüam.

De fato, nos materiais estudados observou-se maior variabilidade dentro do grupo japônica (SG média de 0,70), onde foram incluídos cultivares antigos do RS, como o EEA 404 e o EEA 406, japônica tropicais, como a BLUEBELLE, e japônica temperado, como a KOSHIHIKARI. Para os genótipos do grupo índica, constatou-se menor variabilidade (SG média de 0,77) devido principalmente, ao maior coeficiente de parentesco dos cultivares modernos (Rangel *et al.* 1996) que dominaram as lavouras de arroz a partir da década de 80.

Diante dos resultados obtidos no presente estudo, sugere-se que outras características relacionadas a fatores bióticos e abióticos sejam acrescentadas nos descritores mínimos de arroz para que facilite a distingüibilidade dos genótipos. Alguns exemplos de características bióticas que poderiam ser utilizadas em arroz incluem as reações a doenças (brusone, mancha parda, mancha estreita, podridão do colmo, entre outras) e a insetos (bicheira da raiz, percevejo e outros). Para as características abióticas, poderiam ser incluídas reações à toxicidade ao ferro e ao alumínio trocável, tolerância à salinidade e a temperaturas baixas.

A escolha para os descritores mínimos dentre essas características, contudo, deve ser criteriosa, levando-se em conta a facilidade de

estabelecimento de metodologias de avaliação reproduzíveis por, diferentes grupos de pesquisa.

## 2.4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- Existe alta similaridade entre os genótipos de arroz estudados para os descritores morfológicos avaliados, principalmente dentro do grupo índica;
- As características morfológicas mais polimórficas são o peso de 1000 grãos e o ciclo e as monomórficas são a cor da aurícula e da lígula, o ângulo dos afilhos, a distribuição das aristas e a cor das glumelas.
- Não é possível separar corretamente, através de características morfológicas, os genótipos dos grupos índica e japônica;
- As características que mais contribuem para separar os genótipos dos grupos índica e japônica são o ângulo da folha bandeira, comprimento do colmo, altura de exerceção e grau de degrane da panícula;
- Os descritores mínimos de arroz não são suficientes para distinguir todos os genótipos de arroz estudados.



TABELA 2.1. Genótipos de arroz utilizados no estudo, seu grupo e respectivas genealogias. Cachoeirinha, IRGA / EEA, 2002.

Genótipos	Grupo <sup>1</sup>	Genealogia
BR-IRGA 409	I	IR 930-2 / IR 665-31-2-4
BR-IRGA 410	I	IR 930-53 / IR 665-31-2-4
BR-IRGA 412	I	IR 930-2 / IR 665-31-2-4
BR-IRGA 414	I	IR 930-2 / IR 665-31-7-4
BR-IRGA 415	I	CICA 9 / BR-IRGA 409
BRS 6	I	SELEÇÃO BR-IRGA 410
BRS 7	I	--
CEYSVONI	I	SML 997 / AWINI
CICA 8	I	CICA 4 // IR 665-23-3 / TE TEP
DIWANI	I	WASHABO / IR454-1-17-1-1
EL PASO L 144	I	IR 930-2 / IR 665-31-2-4
ELONI	I	ACORNI // KAPURI / IR 454
EPAGRI 108	I	CT 7347 / IR 21015-72-3-3-3-1
EPAGRI 109	I	CT 7347 / IR 21015-72-3-3-3-1
IRGA 416	I	IR 841-67-1-1 / BR-IRGA 409
IRGA 417	I	NEW REX / IR 19743-25-2-2 // BR-IRGA 409
IRGA 418	I	BR-IRGA 412 / CICA 9 // BR-IRGA 409
IRGA 419	I	ORYZICA 1 / BR-IRGA 409
IRGA 420	I	ORYZICA 1 / BR-IRGA 412
IRGA 421	I	SELEÇÃO IRGA 416
IRGA 318-11-6-8-2-A1-2	I	NEW REX / IR 19743-25-2-2 // BR-IRGA 409
IRGA 440-49-2-2-5	I	P 1356-1-3M-2-1B / BR-IRGA 412
IRGA 959-1-2-2F-5-2-4-D-1-1-MF	I	IRGA 793 / P 1790-5-1M-4-5M-1B-3M-1B
IRGA 959-1-2-2F-5-2-5-A-2	I	IRGA 793 / P 1790-5-1M-4-5M-1B-3M-1B
IRGA 1567-14-2-3-1-	I	IRGA 370-16-2-1-1F / IRGA 416
IRGA 1598-3-2F-1-3-1	I	TEBONNET / P 1390-1-1M-2-1B
QUALIMAX 1	I	--
BLUEBELLE	J	C.I. 9214 // CENTURY PATNA 231 / C.I. 9122
COLOMBIA 1	J	NAPAL / TAKAO – IKU 18
CYPRESS	J	L 202 / LEMONT
DAWN	J	CENTURY PATNA 231 / HO 12-1-1
DIAMANTE	J	AGOSTANO / P 6 / BLUE ROSE // RB 2 / BALILLA
EEA 404	J	ZENITH / MARAVILHA 1
EEA 406	J	ZENITH / MARAVILHA 1
IAS 12-9 FORMOSA	J	--
INIA TACUARI	J	NEW BONNET / NEW REX L 79
KOSHIHIKARI	J	--
L 202	J	IR456-3-2-1-SEL / 7232278 // L 201

<sup>1</sup> I = Índica; J = Japônica; -- = Desconhecida.

TABELA 2.2. Média e desvio padrão (cm) e classes para as características comprimento do colmo e da panícula e espessura do colmo, avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.

<b>Características</b>	<b>Média ± desvio padrão</b>	<b>Classes</b>
Comprimento do colmo	69,06 ∇ 3,38	curto, médio, longo
Comprimento da panícula	20,35 ∇ 1,75	curta, média, longa
Espessura do colmo	4,02 ∇ 0,62	fina, média, grossa

TABELA 2.3. Descritores morfológicos da folha, avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.

Genótipos	Cor da folha	Pubescência do limbo	Cor da aurícula <sup>1</sup>	Cor da lígula <sup>2</sup>	Ângulo da folha bandeira
<b>Grupo índica:</b>					
BR – IRGA 409	verde	forte	VC	IV	ereto
BR – IRGA 410	verde	forte	VC	IV	ereto
BR – IRGA 412	verde claro	ausente	VC	IV	ereto
BR – IRGA 414	verde	ausente	VC	IV	ereto
BR – IRGA 415	verde	forte	VC	IV	ereto
BRS 6	verde	ausente	VC	IV	ereto
BRS 7	verde	ausente	VC	IV	ereto
CEYSVONI	verde claro	ausente	VC	IV	ereto
CICA 8	verde	forte	VC	IV	ereto
DIWANI	verde	ausente	VC	IV	ereto
EL PASO L 144	verde	forte	VC	IV	ereto
ELONI	verde	ausente	VC	IV	ereto
EPAGRI 108	verde	média	VC	IV	ereto
EPAGRI 109	verde	média	VC	IV	ereto
IRGA 416	verde	forte	VC	IV	ereto
IRGA 417	verde	forte	VC	IV	ereto
IRGA 418	verde	forte	VC	IV	ereto
IRGA 419	verde	ausente	VC	IV	ereto
IRGA 420	verde	ausente	VC	IV	ereto
IRGA 421	verde	forte	VC	IV	ereto
IRGA 318-11-6-8-2-A1-2	verde	média	VC	IV	ereto
IRGA 440-49-2-2-5	verde	forte	VC	IV	ereto
IRGA 959-1-2-2F-5-2-4-	verde	forte	VC	IV	ereto
IRGA 959-1-2-2F-5-2-5-A	verde	forte	VC	IV	ereto
IRGA 1567-14-2-3-1	verde claro	ausente	VC	IV	ereto
IRGA 1598-3-2F-1-3-1	verde	ausente	VC	IV	ereto
QUALIMAX 1	verde	média	VC	IV	ereto
<b>Grupo japônica:</b>					
BLUEBELLE	verde claro	ausente	VC	IV	intermediário
COLOMBIA 1	verde escuro	ausente	VC	IV	ereto
CYPRESS	verde	ausente	VC	IV	intermediário
DAWN	verde	ausente	VC	IV	horizontal
DIAMANTE	verde claro	forte	VC	IV	horizontal
EEA 404	verde claro	forte	VC	IV	horizontal
EEA 406	verde claro	média	VC	IV	horizontal
IAS - 12 - 9 FORMOSA	verde	forte	VC	IV	intermediário
INIA TACUARI	verde	ausente	VC	IV	ereto
KOSHIHIKARI	verde	forte	VC	IV	ereto
L 202	verde escuro	ausente	VC	IV	horizontal

<sup>1</sup> VC = verde claro; <sup>2</sup> IV = incolor a verde

TABELA 2.4. Descritores morfológicos do colmo avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.

Genótipos	Comprimento	Espessura	Ângulo dos afilhos	Cor do internódio	Cor de antocianina <sup>1</sup>
<b>Grupo índica:</b>					
BR – IRGA 409	médio	média	ereto	verde claro	A / MF
BR - IRGA 410	médio	média	ereto	verde claro	A / MF
BR – IRGA 412	médio	média	ereto	verde claro	A / MF
BR – IRGA 414	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
BR – IRGA 415	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
BRS 6	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
BRS 7	médio	média	ereto	verde claro	A / MF
CEYSVONI	curto	fina	ereto	verde claro	A / MF
CICA 8	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
DIWANI	médio	média	ereto	verde claro	A / MF
EL PASO L 144	médio	média	ereto	verde claro	A / MF
ELONI	curto	grossa	ereto	verde claro	A / MF
EPAGRI 108	médio	grossa	ereto	verde claro	A / MF
EPAGRI 109	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 416	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 417	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 418	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 419	médio	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 420	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 421	curto	fina	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 318-11-6-8-2-A1-2	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 440-49-2-2-5	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 959-1-2-2F-5-2-4-	médio	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 959-1-2-2F-5-2-5-A	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 1567-14-2-3-1	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
IRGA 1598-3-2F-1-3-1	médio	média	ereto	verde claro	A / MF
QUALIMAX 1	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
<b>Grupo japônica:</b>					
BLUEBELLE	longo	média	ereto	dourado claro	A / MF
COLOMBIA 1	longo	média	ereto	dourado claro	média
CYPRESS	curto	média	ereto	verde claro	A / MF
DAWN	longo	média	ereto	verde claro	fraca
DIAMANTE	longo	média	ereto	verde claro	A / MF
EEA 404	longo	grossa	ereto	verde claro	fraca
EEA 406	longo	média	ereto	verde claro	fraca
IAS - 12 - 9 FORMOSA	longo	fina	ereto	verde claro	A / MF
INIA TACUARI	médio	média	ereto	verde claro	fraca
KOSHIHIKARI	longo	fina	ereto	verde claro	A / MF
L 202	curto	média	ereto	verde claro	A / MF

<sup>1</sup> A / MF = ausente / muito fraca

TABELA 2.5. Descritores morfológicos da panícula avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.

Genótipos	Comprimento	Tipo <sup>1</sup>	Exerção	Degrane	Distribuição das aristas <sup>2</sup>	Comprimento das aristas <sup>3</sup>
<b>Grupo índica:</b>						
BR – IRGA 409	média	I	média	intermediária	SP	Média
BR – IRGA 410	longa	I	média	intermediária	SP	A / MC
BR – IRGA 412	média	I	média	intermediária	SP	A / MC
BR – IRGA 414	longa	I	completa	intermediária	SP	A / MC
BR – IRGA 415	longa	I	média	intermediária	SP	A / MC
BRS 6	longa	I	média	intermediária	SP	A / MC
BRS 7	média	I	média	intermediária	SP	A / MC
CEYSVONI	curta	I	justa	intermediária	SP	A / MC
CICA 8	média	I	justa	intermediária	SP	Curta
DIWANI	média	I	média	intermediária	SP	A / MC
EL PASO L 144	média	I	justa	intermediária	SP	Curta
ELONI	longa	I	justa	intermediária	SP	A / MC
EPAGRI 108	média	I	justa	intermediária	SP	A / MC
EPAGRI 109	média	I	justa	intermediária	SP	A / MC
IRGA 416	média	I	média	intermediária	SP	Curta
IRGA 417	média	I	justa	intermediária	SP	A / MC
IRGA 418	longa	I	média	fácil	SP	A/MC
IRGA 419	média	I	média	intermediária	SP	A / MC
IRGA 420	média	I	média	intermediária	SP	A / MC
IRGA 421	média	I	justa	intermediária	SP	A / MC
IRGA 318-11-6-8-2-A1-2	média	I	justa	intermediária	SP	A / MC
IRGA 440-49-2-2-5	média	I	justa	intermediária	SP	A / MC
IRGA 959-1-2-2F-5-2-4-	curta	C	média	difícil	SP	A / MC
IRGA 959-1-2-2F-5-2-5-A	curta	C	média	difícil	SP	A / MC
IRGA 1567-14-2-3-1	longa	I	justa	intermediária	SP	A / MC
IRGA 1598-3-2F-1-3-1	curta	I	média	intermediária	SP	A / MC
QUALIMAX 1	média	I	média	intermediária	SP	Longa
<b>Grupo japônica:</b>						
BLUEBELLE	média	I	completa	intermediário	SP	A / MC
COLOMBIA 1	média	I	média	intermediária	SP	A / MC
CYPRESS	curta	I	justa	difícil	SP	A / MC
DAWN	curta	I	completa	intermediária	SP	A / MC
DIAMANTE	longa	I	média	intermediária	SP	A / MC
EEA 404	média	I	completa	difícil	SP	A / MC
EEA 406	média	I	completa	difícil	SP	A / MC
IAS - 12 - 9 FORMOSA	curta	C	completa	difícil	SP	A / MC
INIA TACUARI	curta	I	média	intermediária	SP	A / MC
KOSHIHIKARI	curta	C	completa	difícil	SP	A / MC
L 202	curta	I	média	intermediária	SP	A / MC

<sup>1</sup> I = intermediária; C = compacta; <sup>2</sup> SP = somente na ponta; <sup>3</sup> = A / MC = ausente / muito curta.

TABELA 2.6. Descritores morfológicos da espiguetas avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.

Genótipos	Cor do estigma	Pubescência das glumelas <sup>1</sup>	Cor do ápículo-floração	Cor do ápículo-maturação	Cor das glumelas <sup>2</sup>	Cor das glumas estéreis
<b>Grupo indica:</b>						
BR-IRGA 409	branca	F	branca	amarela	P / D	Palha
BR - IRGA 410	branca	M	branca	amarela	P / D	Palha
BR-IRGA 412	branca	A/MFraca	branca	amarela	P / D	palha
BR-IRGA 414	branca	A/MFraca	verde	amarela	P / D	palha
BR-IRGA 415	branca	M	verde	amarela	P / D	palha
BRS 6	branca	A/MFraca	verde	amarela	P / D	palha
BRS 7	branca	A/MFraca	branca	amarela	P / D	palha
CEYSVONI	branca	A/MFraca	verde	amarela	P / D	palha
CICA 8	branca	F	branca	amarela	P / D	palha
DIWANI	branca	A/MFraca	verde	amarela	P / D	palha
EL PASO L 144	branca	M	branca	amarela	P / D	palha
ELONI	vermelha	A/MFraca	vermelho	marrom	P / D	palha
EPAGRI 108	branca	F	branca	amarela	P / D	palha
EPAGRI 109	branca	F	branca	amarela	P / D	palha
IRGA 416	branca	F	verde	amarela	P / D	palha
IRGA 417	branca	M	branca	amarela	P / D	palha
IRGA 418	branca	F	verde	amarela	P / D	palha
IRGA 419	branca	A/MFraca	verde	amarela	P / D	palha
IRGA 420	branca	A/MFraca	branca	amarela	P / D	palha
IRGA 421	branca	F	verde	amarela	P / D	palha
IRGA 318-11-6-8-2-A1-2	branca	F	branca	amarela	P / D	palha
IRGA 440-49-2-2-5	branca	M	verde	amarela	P / D	palha
IRGA 959-1-2-2F-5-2-4-D-1-1-MF	branca	F	branca	marrom	P / D	palha
IRGA 959-1-2-2F-5-2-5-A	branca	F	branca	marrom	P / D	palha
IRGA 1567-14-2-3-1	branca	A/MFraca	verde	amarela	P / D	palha
IRGA 1598-3-2F-1-3-1	branca	A/MFraca	branca	amarela	P / D	palha
QUALIMAX 1	branca	F	branca	amarela	P / D	palha
<b>Grupo japônica:</b>						
BLUEBELLE	branca	A/MFraca	vermelho	marrom	P / D	dourada
COLOMBIA 1	vermelha	A/MFraca	vermelho	marrom	P / D	palha
CYPRESS	branca	A/MFraca	branca	amarela	P / D	palha
DAWN	branca	A/MFraca	verde	branca	P / D	dourada
DIAMANTE	amarelo	MForte	verde	amarela	P / D	palha
EEA 404	branca	MForte	verde	amarela	P / D	palha
EEA 406	branca	MForte	branca	amarela	P / D	palha
IAS - 12 - 9 FORMOSA	branca	F	verde	amarela	P / D	palha
INIA TACUARI	branca	A/MFraca	verde	amarela	P / D	palha
KOSHIHIKARI	branca	MForte	verde	amarela	P / D	palha
L 202	púrpura	A/MFraca	vermelho	marrom	P / D	palha

<sup>1</sup> A/MFraca = ausente ou muito fraca; M = média; F = forte; MF = muito forte;

<sup>2</sup> P / D = palha / dourado

TABELA 2.7. Ciclo cultural e descritores morfológicos do grão, avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.

Genótipos	Ciclo	Peso de 1000 grãos <sup>1</sup> (g)	Comprimento	Forma	Cor
<b>Genótipos do grupo indica:</b>					
BR – IRGA 409	médio	23,07(2)	longo	alongada	pardo clara
BR – IRGA 410	médio	25,83(4)	longo	alongada	parda
BR – IRGA 412	médio	23,02(2)	longo	alongada	pardo clara
BR – IRGA 414	curto	29,24(6)	longo	alongada	pardo clara
BR – IRGA 415	curto	24,74(3)	longo	alongada	parda
BRS 6	curto	22,43(2)	longo	alongada	parda
BRS 7	médio	24,74(3)	longo	alongada	pardo clara
CEYSVONI	médio	26,95(4)	longo	muito alongada	parda
CICA 8	longo	24,45(3)	longo	alongada	parda
DIWANI	médio	30,75(7)	longo	alongada	parda
EL PASO L 144	curto	25,91(4)	longo	alongada	parda
ELONI	longo	26,46(4)	longo	alongada	parda
EPAGRI 108	muito longo	27,47(5)	longo	alongada	pardo clara
EPAGRI 109	muito longo	23,76(2)	longo	alongada	parda clara
IRGA 416	curto	24,04(2)	longo	muito alongada	pardo clara
IRGA 417	curto	26,11(4)	longo	alongada	pardo clara
IRGA 418	curto	24,64(3)	longo	alongada	pardo clara
IRGA 419	curto	24,5(3)	longo	meio alongada	pardo clara
IRGA 420	curto	25,45(3)	longo	alongada	pardo clara
IRGA 421	muito curto	25,16(3)	longo	muito alongada	pardo clara
IRGA 318-11-6-8-2-A1-2	curto	25,4(3)	longo	alongada	parda
IRGA 440-49-2-2-5	curto	24,3(3)	longo	alongada	parda
IRGA 959-1-2-2F-5-2-4-	médio	22,1(1)	longo	alongada	pardo clara
IRGA 959-1-2-2F-5-2-5-A	médio	23,05(2)	longo	alongada	pardo clara
IRGA 1567-14-2-3-1	curto	28,48(5)	longo	alongada	pardo clara
IRGA 1598-3-2F-1-3-1	médio	25,28(3)	longo	alongada	pardo clara
QUALIMAX 1	médio	25,32(3)	longo	alongada	parda
<b>Genótipos do grupo japônica:</b>					
BLUEBELLE	médio	21,48(1)	longo	alongada	pardo clara
COLOMBIA 1	longo	16,43(1)	médio	alongada	parda
CYPRESS	curto	22,32(1)	longo	alongada	parda
DAWN	médio	20,2(1)	longo	alongada	parda
DIAMANTE	curto	29,92(6)	longo	alongada	parda
EEA 404	médio	26,25(4)	longo	meio alongada	pardo clara
EEA 406	médio	27,5(5)	longo	meio alongada	pardo clara
IAS – 12 - 9 FORMOSA	médio	22,88(2)	curto	semi arredondada	pardo clara
INIA TACUARI	curto	20,29(1)	longo	alongada	pardo clara
KOSHIHIKARI	curto	22,29(1)	curto	semi arredondada	parda
L 202	curto	25,33(3)	longo	alongada	parda



<sup>1</sup> Os números entre parênteses correspondem as classes: (1)  $< 22,5$ ; (2) 22,6-24,0; (3) 24,1-25,5; (4) 25,6-27; (5) 27,1-28,5; (6) 28,6-30,0; (7) 30,1-31,5.

TABELA 2.8. Características agrônômicas dos 38 genótipos de arroz irrigado, avaliados na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.

Genótipos	Rendimento de grãos (t h <sup>-1</sup> )	Rendimento de grãos inteiros (%)	Floração 80 % (d.a.e.) <sup>1</sup>
<b>Grupo indica:</b>			
BR-IRGA 409	6,72 b-j <sup>2</sup>	66 a-e	89 h-i
BR –IRGA 410	7,21 a-f	64 a-f	86 k
BR-IRGA 412	6,68 b-j	62 c-g	90 h
BR-IRGA 414	5,62 g-m	63 a-f	76 s
BR-IRGA 415	7,02 a-g	63 a-f	74 t-u
BRS 6	7,21 a-f	62 a-g	75 s-t
BRS 7	6,85 b-i	66 a-c	89 h-i
CEYSVONI	6,54 b-k	56 h-i	98 f
CICA 8	6,96 a-h	64 a-f	104 d
DIWANI	6,78 b-l	54 i	95 g
EL PASO L 144	6,86 b-l	64 a-f	81 n-o
ELONI	6,45 c-k	60 e-h	103 e
EPAGRI 108	5,32 j-m	59 f-h	117 b
EPAGRI 109	2,43 o	61 d-g	119 a
IRGA 416	6,72 b-j	65 a-e	73 v
IRGA 417	7,89 a-c	66 a-d	79 p-r
IRGA 418	7,06 a-g	64 a-f	80 p-q
IRGA 419	7,55 a-f	64 a-f	84 l
IRGA 420	7,82 a-d	62 b-f	83 l
IRGA 421	4,31 m-n	66 a-e	54 w
IRGA 318-11-6-8-2-A1-2	7,73 a-e	67 a-b	79 p-r
IRGA 440-49-2-2-5	8,02 a-b	64 a-f	82 m-n
IRGA 959-1-2-2F-5-2-4-D-1-1-MF	6,17 f-l	65 a-f	88 i-j
IRGA 959-1-2-2F-5-2-5-A-2	5,46 k-m	66 a-e	87 j
IRGA 1567-14-2-3-1	8,38 a	66 a-e	80 o-p
IRGA 1598-3-2F-1-3-1	7,62 a-f	65 a-e	88 i-j
QUALIMAX 1	7,35 a-f	62 c-g	89 h-i
<b>Grupo japônica:</b>			
BLUEBELLE	5,51 h-m	58 g-i	87 j
COLOMBIA 1	4,42 m-n	64 a-f	108 c
CYPRESS	6,54 b-k	68 a	83 l-m
DAWN	3,33 n-o	67 a-c	89 h-i
DIAMANTE	5,10 k-m	54 i	75 s-t
EEA 404	3,15 n-o	64 a-f	89 h-i
EEA 406	4,84 l-m	60 c-h	89 h
IAS - 12 – 9 FORMOSA	5,72 g-m	57 g-i	89 h-j
INIA TACUARI	6,28 e-n	63 a-f	79 q-r
KOSHIHIKARI	6,35 d-k	62 b-f	74 u

<sup>1</sup> d.a.e. = dias após a emergência; <sup>2</sup> Médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem estatisticamente pelo teste de Duncan a 5 %.

TABELA 2.9. Características químicas e físicas dos grãos avaliados em 38 genótipos de arroz irrigado na safra 1999/2000. Cachoeirinha, IRGA/EEA, 2002.

Genótipos	Centro branco	Temperatura de gelatinização	Teor de amilose
<b>Grupo indica:</b>			
BR-IRGA 409	0,1	baixa	intermediária
BR -IRGA 410	0,3	baixa	intermediária
BR-IRGA 412	0,1	baixa	intermediária
BR-IRGA 414	0,1	baixa	intermediária
BR-IRGA 415	0,3	baixa	baixa
BRS 6	0,8	média	alta
BRS 7	0,8	alta	intermediária
CEYSVONI	0,1	baixa	intermediária
CICA 8	0,4	baixa	intermediária
DIWANI	2,0	média	intermediária
EL PASO L 144	0,3	baixa	intermediária
ELONI	0,6	média	intermediária
EPAGRI 108	0,2	baixa/média	intermediária
EPAGRI 109	0,5	baixa/média	intermediária
IRGA 416	0,2	baixa	baixa
IRGA 417	0,2	baixa	intermediária
IRGA 418	0,3	baixa	intermediária
IRGA 419	0,1	baixa	intermediária
IRGA 420	0,1	baixa	alta
IRGA 421	0,1	baixa	intermediária
IRGA 318-11-6-8-2-A1-2	0,4	baixa	intermediária
IRGA 440-49-2-2-5	1,3	baixa	intermediária
IRGA 959-1-2-2F-5-2-4-D-1-1-MF	0,2	média	intermediária
IRGA 959-1-2-2F-5-2-5-A-2	0,5	média	intermediária
IRGA 1567-14-2-3-1	0,1	baixa	baixa
IRGA 1598-3-2F-1-3-1	0,1	baixa	intermediária
QUALIMAX 1	0,2	baixa	intermediária
<b>Grupo japônica:</b>			
BLUEBELLE	0,1	média	intermediária
COLOMBIA 1	0,1	média/alta	baixa
CYPRESS	0,3	média	intermediária
DAWN	0,2	média	intermediária
DIAMANTE	1,0	baixa	baixa
EEA 404	0,1	baixa	baixa
EEA 406	0,2	baixa	baixa
IAS - 12 - 9 FORMOSA	--	baixa	baixa
INIA TACUARI	0,2	alta/média	intermediária
KOSHIHIKARI	0,1	baixa	baixa
L 202	0,7	alta	alta

-- Dado perdido





## **CAPÍTULO III**

### **DIVERGÊNCIA GENÉTICA ENTRE GENÓTIPOS DE ARROZ IRRIGADO ESTIMADA ATRAVÉS DE MARCADORES MOLECULARES RAPD E MICROSSATÉLITES E CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS**

#### **3.1. INTRODUÇÃO**

O arroz é um dos cereais mais cultivados no mundo especialmente na Ásia, onde se constitui a base alimentar da população. Na América Latina, existem programas de melhoramento de arroz irrigado em praticamente todos os países, sendo que no Brasil a produção deste cereal é originária, principalmente, da orizicultura desenvolvida no Rio Grande do Sul (RS) e Santa Catarina (SC). No RS, a média de produtividade é superior a 5,5 t ha<sup>-1</sup> (IRGA, 2002)

De uma maneira geral, os programas de melhoramento têm trabalhado no sentido de obter cultivares mais produtivos, com boa qualidade de grãos e resistentes a estresses bióticos e abióticos. Para atingir estes objetivos é necessário o conhecimento da diversidade genética existente no germoplasma disponível, para que o melhorista possa planejar adequadamente os

cruzamentos para o desenvolvimento de híbridos e cultivares homozigotos (Cox *et al.*, 1985).

Conforme o estudo realizado por Rangel *et al.* (1996), apenas sete linhas parentais são responsáveis por 70 % da base genética dos cultivares mais plantados no Brasil. Isto mostra a necessidade de se aumentar a base genética do arroz cultivado e, assim, aumentar a produtividade, com redução dos riscos de vulnerabilidade genética.

Segundo Messmer *et al.* (1993), o cruzamento entre genitores geneticamente divergentes permite o aumento de heterose em programas de produção de híbridos e maior variabilidade na progênie, comparada àquela originária de genitores aparentados. Conforme estes autores, a informação da similaridade genética dos materiais existentes no programa de melhoramento ajuda a evitar a erosão genética e assegurar ganhos na seleção.

Diferentes métodos têm sido utilizados para estimar diversidade genética para seleção de genitores nos programas de melhoramento. Diversos trabalhos têm sido realizados utilizando o coeficiente de parentesco entre genótipos de espécies como aveia (Souza e Sorrells, 1989), milho (Ajmone-Marsan *et al.*, 1992; Messmer *et al.*, 1993), trigo (Autrique *et al.*, 1996; Bered, 1999) e soja (Manjarrez-Sandoval *et al.*, 1997). Características morfológicas também são utilizadas para estimar variabilidade, conforme trabalhos realizados por Jaradat (1991), Beer *et al.* (1993), Johns *et al.* (1997), Thanh *et al.* (1999), Hemamalini *et al.* (2000) e Thomas *et al.* (2001).

Além desses, os marcadores moleculares têm viabilizado a caracterização genética de grande número de genótipos através de

procedimentos relativamente simples e rápidos (Barbosa Neto e Bered, 1998). Nos últimos anos, os marcadores moleculares têm sido utilizados como forma de avaliar a similaridade genética real entre diferentes genótipos (Lee *et al.*, 1989; Vierling e Nguyen, 1992; Zhu *et al.*, 1998; Fuentes *et al.*, 1999).

A técnica de RAPD (polimorfismo de DNA amplificado ao acaso), baseada na reação de polimerase em cadeia (PCR), foi desenvolvida no início da década de 90 e utiliza oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) de seqüência arbitrária para amplificação de DNA (Williams, 1990). Nos programas de melhoramento, geralmente, as análises de diversidade genética em populações naturais e a caracterização de bancos de germoplasma envolvem um grande número de genótipos. Neste sentido, a técnica RAPD permite a análise genética detalhada através de grande número de marcadores (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Além disto, entre as outras técnicas, é a que apresenta menor custo, menor número de etapas, menos tempo para obter os resultados e é fácil de implementar em programas de melhoramento (Milach, 1998). Por outro lado, é uma técnica pouco consistente de um laboratório para o outro.

Apesar disso, muitas têm sido as aplicações dos marcadores RAPD em melhoramento de plantas. Entre estas, está a construção de mapas genéticos, a seleção assistida de caracteres de interesse agronômico, a determinação da identidade e diversidade genética, a obtenção de “fingerprints” de DNA para registro de cultivares, a estimativa de distâncias genéticas e em genética de populações (Timmerman e McCallum, 1993 apud Cruz e Milach, 1998).

Em arroz, Mackill (1995) realizou um estudo com o objetivo de quantificar a diversidade genética em cultivares modernos e tradicionais, com



ênfase ao grupo japônica tropical e temperado, utilizando a técnica de RAPD. Neste trabalho foi possível obter polimorfismo para a maioria dos genótipos estudados, permitindo evidenciar as relações genéticas (distância e diversidade genética) entre os grupos índica e japônica. Dentro do grupo japônica, foi evidenciado que existe diferenças genéticas entre os subgrupos japônica temperado e tropical, embora não tenha sido possível estabelecer o limite que separa os dois e alguns cultivares do grupo japônica temperado não puderam ser diferenciados com os *primers* utilizados.

Com o objetivo de estudar a diversidade genética entre os principais cultivares de arroz de Cuba, Fuentes *et al.* (1999) utilizaram a análise de RAPD. Os resultados demonstraram a eficiência desta técnica em detectar polimorfismo entre os genótipos estudados, mostrando sua utilidade na caracterização de germoplasma de arroz, mesmo com cultivares aparentados. Da mesma forma, Cao *et al.* (1998), em estudo feito para estimar a divergência genética em trigo dos grupos *spelta* e *macha* com a análise de RAPD, verificaram que a diversidade genética no germoplasma de trigo *macha* foi maior do que no trigo *spelta* e também foi identificada duplicação em 15 % dos 101 genótipos da coleção de germoplasma de trigo *macha* e *spelta* estudados. Outros estudos de diversidade genética com uso de RAPD foram feitos como aqueles realizados por Cao e Oard (1997) em arroz e por Mailer *et al.* (1997) em canola. Esta técnica também tem sido utilizada em estudos de mapeamento em arroz (Subudhi e Huang, 1999).

A técnica de microssatélites também é baseada na reação de PCR e constitui a classe mais polimórfica de marcadores moleculares hoje disponível

(Ferreira e Grattapaglia, 1998), o que a torna uma das melhores opções para uso na caracterização de cultivares e no mapeamento genético, especialmente em germoplasma aparentado e de baixa variabilidade (Milach, 1998). Segundo Ferreira e Grattapaglia (1998), a maior limitação da técnica de microssatélites é o laborioso trabalho necessário para o desenvolvimento prévio de *primers*. Entretanto, atualmente há disponibilidade de muitos *primers* de microssatélites já desenvolvidos para a cultura do arroz, sendo que vários deles têm inclusive sua localização cromossômica conhecida, conforme se verifica no trabalho desenvolvido por Chen *et al.* (1997).

Ao estudarem a diversidade genética de genótipos de arroz de sequeiro, com 14 pares de *primers* de marcadores de microssatélites de arroz, Thanh *et al.* (1999) detectaram 41 alelos entre todos os genótipos estudados. Os resultados obtidos através dos dendogramas desenvolvidos com os dados de 10 características morfológicas e 35 alelos de microssatélites proporcionaram informações úteis para combinação de cruzamentos entre os genótipos e para mapeamento de locos (QTLs) associados à resistência do arroz de sequeiro à seca. Da mesma forma, Garland *et al.* (1999) detectaram heterogeneidade genética entre genótipos de arroz avaliados com a técnica de microssatélites, confirmando a utilidade deste tipo de marcador em estudos de caracterização genética.

De uma maneira geral, os cultivares de arroz lançados nos últimos anos no Brasil são aparentados, desta forma é importante o conhecimento das relações genéticas existentes no germoplasma dos programas de melhoramento de arroz.

Se por um lado o nível de parentesco de genótipos de arroz irrigado é alto (Rangel *et al.*, 1996), por outro, a seleção dentro de genótipos fixos tem sido efetiva no desenvolvimento de novos cultivares. Este é o caso do BR-IRGA 412, selecionado dentro do BR-IRGA 409, BRS 6 selecionado dentro do BR-IRGA 410 e IRGA 421, selecionada dentro da IRGA 416 (Tabela 3.1).

Cabe, então, questionar, se existe variabilidade genética em arroz que não pode ser identificada pelas genealogias, relações de parentesco e por características morfológicas da planta. Neste sentido, o presente trabalho objetivou estimar o grau de similaridade genética entre genótipos de arroz irrigado através de marcadores moleculares dos tipos RAPD e microssatélites, comparar o padrão de agrupamento dos genótipos analisados com marcadores moleculares e morfológicos e identificar marcadores moleculares capazes de distinguir os grupos índica e japônica de arroz.

## **3.2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **3.2.1. Germoplasma utilizado**

Para realização deste estudo foram utilizados 38 genótipos (Tabela 3.1) provenientes do banco de germoplasma do Programa de Melhoramento da Estação Experimental do Arroz do IRGA, constituído por cultivares e linhagens utilizados no programa de cruzamentos desta instituição.

### **3.2.2. Extração do DNA**

Para cada genótipo foram colocadas 10 sementes em placas de petri contendo papel filtro umedecido com água destilada, as quais foram mantidas

em estufa com temperatura controlada (25° C) para germinação. Após cinco dias, foi feito o corte do coleóptilo e da folha para trituração em nitrogênio líquido e posterior extração do DNA, conforme metodologia descrita por Nelson (1993).

### **3.2.3. Análise de RAPD**

A seleção dos *primers* para análise de RAPD foi realizada com cinco genótipos e somente os polimórficos utilizados nos demais genótipos. Foram utilizados 32 *primers*, provenientes da Operon Technologies (Tabela 3.2).

A reação de PCR foi desenvolvida em um termociclador (MJ Research, PTC-100<sup>TM</sup>), o qual foi programado para 1 ciclo de 4 minutos a 94° C (desnaturação), 45 ciclos de 30 segundos a 94° C, 30 segundos a 37° C e 66 segundos a 72° C (anelamento e extensão do DNA), seguido de 1 ciclo de 7 minutos a 72° C. O volume da reação foi de 13 µl, contendo 20 ng de DNA genômico, dNTP mix 0,2 mM, tampão 10 X [tris HCl 75 mM, KCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,001 % BSA], MgCl<sub>2</sub> 2,5 mM, 25 ng do *primer*, uma unidade da enzima Taq DNA polimerase e água ultrapura (milliQ).

A reação de RAPD foi aplicada em gel de agarose 1,6 % em tampão de TBE 1 X e separada por eletroforese a 100 V por 3 horas. A coloração do gel foi feita com brometo de etídio, a visualização e fotografia com luz ultravioleta. A imagem do gel foi captada com uma câmara digital através do sistema Kodak Digital Science<sup>TM</sup>. Apenas os fragmentos de DNA com intensidade forte foram avaliados e o escore dos polimórficos foi realizado conforme a presença (nota 1) ou ausência de fragmentos de DNA (nota 0).

### 3.2.4. Análise de microssatélites

Neste trabalho foram utilizados 13 *primers* selecionados do estudo realizado por Chen *et al* (1997). Para se obter uma amostra representativa do genoma, utilizou-se pelo menos um *primer* por cromossomo. A relação dos marcadores, a localização cromossômica e a seqüência dos *primers* estão apresentados na Tabela 3.3.

A amplificação do DNA foi realizada em termociclador MJ Research PTC-100™, programado para 1 ciclo a 94° C por 5 minutos seguidos por 35 ciclos a 94° C por 1 minuto, 55° C – 61° C (conforme os *primers*) por 1 minuto, 72° C por 2 minutos e 72° C por 5 minutos para o final da extensão. A temperatura de anelamento foi calculada conforme a composição de bases de cada oligonucleotíde iniciador *forward* e *reverse* (Tabela 3.3). O volume final da reação de PCR foi de 13 µl, contendo 50 ng de DNA genômico, 400 µM de dNTP mix, tampão 1 X [tris HCl 75 mM, KCl, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0,001 % BSA], 1,5 mM de MgCl<sub>2</sub>, 0,2 µM de cada *primer* (*forward* e *reverse*) e uma unidade da enzima Taq DNA polimerase.

As bandas foram separadas por eletroforese com gel de poliacrilamida 5 % e a revelação foi feita com nitrato de prata, conforme a metodologia descrita por Promega Corporation (1986).

Todos os alelos receberam um escore quanto à presença (nota 1) e a ausência (nota 0).

### **3.2.5. Comparação de marcadores moleculares com características morfológicas**

Vinte e sete características morfológicas foram utilizadas para avaliação dos 38 genótipos de arroz deste estudo. As características qualitativas incluíram cor da folha, pubescência do limbo foliar, cor da aurícula e da lígula, ângulo da folha bandeira, ângulo dos afilhos, cor do internódio do colmo, coloração de antocianina nos nós do colmo, tipo e exerceção da panícula, degrane dos grãos, presença, distribuição e comprimento das aristas, cor do estigma, pubescência das glumelas, cor do apículo, glumelas e glumas estéreis, forma dos grãos e cor dos grãos descascados. As características quantitativas incluíram ciclo cultural, comprimento e espessura do colmo, comprimento da panícula, peso de 1000 grãos e comprimento dos grãos. A avaliação de todas as características morfológicas foi feita baseada nos descritores mínimos do arroz, conforme formulário disponível no Ministério da Agricultura, Serviço Nacional de Proteção de Cultivares.

Todas as características foram utilizadas para construção da matriz de similaridade com suas respectivas classes. Foi atribuído o valor de 1 para a presença e 0 para a ausência da classe dentro de cada característica.

### **3.2.6. Análise estatística**

Para os marcadores RAPD e microssatélites, a similaridade genética entre cada par de genótipos foi feita pelo coeficiente de Jaccard e para os morfológicos utilizou-se o coeficiente “Simple Matching Similarity” utilizando-se o programa SIMQUAL. O agrupamento dos genótipos para cada marcador foi

realizado com base na matriz de similaridade, através do método UPGMA e a função SAHN, ambos utilizando o pacote estatístico NT-SYS PC, versão 2.10 (Rohlf, 2000).

O teste de significância de Mantel foi utilizado para comparar cada par de matriz de similaridade, obtida através do procedimento descrito anteriormente. Os valores de correlação superiores a 0,5 serão estatisticamente significativos ao nível 0,01 de probabilidade, se o número de unidades observadas excederem a 15 (Tatineni *et al.*, 1996). Além disso, foi calculada a similaridade média das comparações de pares entre todos os materiais e para cada matriz de similaridade. Estas médias foram comparadas entre si pelo teste t.

### **3.3.RESULTADOS E DISCUSSÃO**

#### **3.3.1. Análise com marcadores RAPD**

Neste estudo foram utilizados 32 *primers* de RAPD, os quais geraram 132 fragmentos de amplificação numa amplitude de 300 pares de base (pb) e acima de 2072 pb, dos quais 95 (72 %) foram polimórficos e 37 (28 %) foram monomórficos (Tabela 3.2). O valor médio de fragmentos polimórficas por *primer* foi de 2,97, inferior aos valores obtidos em outros estudos de diversidade genética. Nos trabalhos realizados por Davierwala *et al.* (2000) e Qian *et al.* (2001) foram encontrados, respectivamente, valores de 4 e 9,95 de polimorfismo por *primer*. A possível explicação para essa diferença foi o critério utilizado para avaliação de fragmentos amplificados, que deve ter sido

diferente. Em nosso estudo, fragmentos com padrão fraco de amplificação foram descartados concentrando-se assim, naqueles com maior especificidade de amplificação e menor risco de aleatoriedade. Essas diferenças de polimorfismo podem também estar relacionadas ao nível de divergência entre os genótipos em cada um dos estudos realizados. O *primer* iniciador OPM-08 foi o mais polimórfico, pois foram gerados sete marcadores polimórficos (Tabela 3.2).

Os 95 fragmentos amplificados foram utilizados para calcular a similaridade genética (SG) entre os 38 genótipos. A SG apresentou uma amplitude de 0,15 a 0,90 (Tabela 3.4) e a SG média para todas as comparações de pares, entre todos os materiais, foi de  $0,42 \pm 0,14$ . Alguns autores têm relatado sobre a estreita base genética dos cultivares de arroz (Cuevas-Pérez *et al.*, 1992; Rangel *et al.*, 1996; Fuentes *et al.*, 1999) e em estudo com os mesmos 38 genótipos para caracterização morfológica foi obtida SG média de  $0,76 \pm 0,08$  (Cap.II). Os resultados deste estudo mostraram que a similaridade genética entre os genótipos estudados não é alta, considerando-se que outros trabalhos utilizando marcadores RAPD têm mostrado valores superiores a este, conforme foi evidenciado em arroz (SG média = 0,80) (Ko *et al.*, 1994; Davierwala *et al.*, 2000) e em trigo (SG média = 0,88) (Bered, 1999).

Com base nos dados de RAPD foi desenvolvida a análise de agrupamento usando os valores de similaridade genética e o dendograma foi gerado mostrando as relações genéticas entre os genótipos estudados (Figura 3.1). Foi adotado o índice de 0,50 de similaridade genética para formação dos grupos, considerando-se esta a máxima similaridade entre os genitores a



serem utilizados nos cruzamentos do programa de melhoramento do IRGA. Foi possível identificar seis grupos formados por genótipos do grupo índica e dois grupos por genótipos japônica. A distinção entre os genótipos índica e japônica ocorre com similaridade genética de 0,31, sendo esta separação obtida com os *primers* OPA-16 (900 pb) e OPM-02 (1150 pb).

O grupo 1 contemplou 19 genótipos, envolvendo a maioria das linhagens e cultivares IRGA e os cultivares BRS 6, BRS 7, EPAGRI 108 e EPAGRI 109. De modo geral, esses materiais são derivados de cruzamentos ou seleções do cultivar BR-IRGA 409, ou ainda descendem de ancestrais comuns a este cultivar, como por exemplo a linha IR 665. Os cultivares CEYSVONI, ELONI e DIWANI, todos originários do Suriname, formaram o grupo B. Os cultivares CICA 8, BR-IRGA 415 e IRGA 416 formaram grupos independentes, denominados C, D e E. No grupo F, estão agrupados o cultivar QUALIMAX 1 e a linhagem IRGA 440 (Figura 3.1).

O grupo G foi formado pelos cultivares americanos BLUEBELLE, CYPRESS e DAWN, o cultivar COLOMBIA 1, proveniente da Colômbia, os cultivares EEA 404 e EEA 406, do Brasil, e, o INIA TACUARI, do Uruguai. Os cultivares FORMOSA, DIAMANTE, KOSHIHIKARI e L 202 formaram o grupo H.

O maior coeficiente de similaridade genética (0,90) foi entre os cultivares IRGA 419 e IRGA 420 (grupo A). Apesar de apenas o cultivar ORYZICA 1 ser o genitor comum para os dois cultivares (Tabela 3.1), os outros dois genitores apresentam a mesma origem, resultantes do cruzamento das linhagens IR 930 e IR 665. Ao contrário de um dos genitores, o cultivar IRGA 419 não apresenta pilosidade nas folhas e glumelas, uma possível causa para este fato é que

tenha ocorrido mutação espontânea. O menor índice foi entre os cultivares CYPRESS e EL PASO 144, com apenas 0,15 de similaridade genética.

### **3.3.2. Análise com marcadores microssatélites**

A análise com marcadores microssatélites foi realizada com 13 pares de oligonucleotídeos iniciadores para amplificação do DNA. Todos os pares de oligonucleotídeos iniciadores geraram fragmentos de amplificação polimórficos entre todos os genótipos avaliados. Foram detectados 73 alelos com média de 5,61 alelos por loco, os quais foram suficientes para classificar os materiais estudados. Além disto, este valor foi superior àquele de Thanh *et al.* (1999) que encontraram uma média de 2,9 alelos por loco, utilizando 14 oligonucleotídeos iniciadores em um estudo de diversidade genética com arroz de sequeiro. O loco mais polimórfico foi o RM238, apresentando 10 alelos amplificados e o menos polimórfico foi o loco RM261 com apenas três alelos (Tabela 3.3).

As estimativas de similaridade genética obtidas com os dados de microssatélites estão apresentadas na Tabela 3.5, sendo a SG média de 0,25  $\pm$  0,20.

Os materiais foram agrupados com base nos 73 alelos amplificados e a representação deste agrupamento pode ser observada na Figura 3.2. Foi adotado o mesmo critério do RAPD para formação dos agrupamentos. O coeficiente de similaridade teve uma amplitude de 0,00 a 1,00 (Tabela 3.5), evidenciando-se neste estudo o alto poder de discriminação com microssatélites. Estes resultados concordam com outros que evidenciaram altos níveis de diversidade alélica através de microssatélites (Garland *et*

*al.*,1999; Akagi *et al.*,1997), inclusive superior aos dos marcadores de AFLP e RAPD, conforme estudo realizado por Mackill *et al.* (1996).

A separação entre os genótipos do grupo índica e japônica foi obtida com o loco RM261

O grupo A foi constituído por oito cultivares ( BR-IRGA 409, BR-IRGA 412, IRGA 418, BRS 6, BRS 7, QUALIMAX 1, EL PASO 144, BR-IRGA 414) e uma linhagem (IRGA 440). Observou-se que houve uma relação, com 100 % de similaridade genética (Tabela 3.5),entre os genótipos BR-IRGA 409 e BR-IRGA 412, os quais apresentam a mesma genealogia (Tabela 3.1), e entre o BRS 6 e BRS 7. Embora não se conheça a origem do cultivar BRS 7, estes resultados indicam que possuem alta similaridade genética.

Os cultivares IRGA 416 e IRGA 421 estão representando o grupo B, com 77 % de similaridade, mostrando a proximidade existente entre os dois materiais, conforme a genealogia (Tabela 3.1).

O grupo C foi formado pelas duas linhas irmãs IRGA 417 e IRGA 318. O cultivar CICA 8 formou um grupo independente (D), enquanto o BR-IRGA 410 e o BR-IRGA 415 formaram o grupo E.

No grupo F aparecem os genótipos EPAGRI 108, IRGA 1567, IRGA 419, IRGA 420 e IRGA 1598. Destaca-se neste grupo a total similaridade (100 %) entre os cultivares IRGA 419 e IRGA 420 (Tabela 3.5), apesar de apenas um dos genitores ser comum aos dois cultivares (Tabela 3.1).

O cultivar EPAGRI 109 formou o grupo G e as linhagens descendentes do cruzamento IRGA 959 formaram o grupo H. Os cultivares CEYSVONI, ELONI e DIWANI agruparam-se separadamente (grupos I, J e K).

Cinco cultivares japônica formaram grupos independentes (BLUEBELLE, dos Estados Unidos, L; COLOMBIA 1, da Colômbia, M; FORMOSA, de Taiwan, P; KOSHIHIKARI, do Japão, Q e DIAMANTE, do Chile, R). A formação destes grupos indica que a alta diversidade genética ainda existe entre fontes de países diferentes. Esta relação pode ser atribuída à forte pressão realizada por programas de melhoramento para seleção de genótipos com adaptação local.

Foram agrupados no grupo N os cultivares CYPRESS, L 202, DAWN e INIA TACUARI, todas americanas ou descendentes. Os genótipos EEA 404 e EEA 406 (grupo O), desenvolvidos pelo IRGA, são representantes do tipo tradicional de plantas muito cultivadas no Rio Grande do Sul nos anos 60.

Os menores índices de similaridade (SG = 0,00) foram verificados entre genótipos do grupo japônica com genótipos do grupo índica. Ainda destacam-se os cultivares CEYSVONI e BR-IRGA 410, ambas do grupo índica, que apresentaram apenas similaridade de 0,4 (Tabela 3.5).

Ao longo dos anos, muitos trabalhos têm mostrado a eficiência do uso de marcadores moleculares em estudos de divergência genética (Figdore *et al.*, 1993; Virk *et al.*, 1995; Nagaoka e Ogihara, 1997; Zhu *et al.*, 1998; Xie *et al.*, 2000). Além disso, muitas vezes são encontradas diferenças entre tipos de marcadores moleculares na eficiência em detectar polimorfismo.

### **3.3.3. Comparação entre marcadores RAPD e microssatélites**

Com base nos resultados apresentados anteriormente, observou-se que ambos os marcadores, RAPD e microssatélites apresentaram bom poder de discriminação entre os genótipos, onde os índices de SG médios encontrados

foram de 0,42 e 0,25, respectivamente. Alguns relatos têm sido feitos de que os microssatélites são uma poderosa ferramenta para estudos de diversidade (Akagi *et al.*, 1997; Thanh *et al.*, 1999), inclusive para genótipos aparentados, conforme foi verificado por Garland *et al.*, (1999) em cultivares australianos de arroz. Neste estudo, ficou evidenciado que os marcadores de microssatélites também tiveram maior poder de discriminação, concordando com Davierwala *et al.* (2000), que encontraram resultados superiores com microssatélites comparado aos dos marcadores RAPD e ISSR.

Nos dendogramas obtidos com RAPD e microssatélites (Figuras 3.1 e 3.2) foram formados oito e dezoito grupos, respectivamente, havendo em geral, concordância na disposição dos genótipos entre os dois marcadores. Entretanto, observou-se que com RAPD não foi possível maior separação entre os genótipos indica aparentados, onde houve a formação de um grande grupo (A), porém com microssatélites houve maior discriminação entre estes materiais.

As diferenças evidenciadas nos genótipos do grupo indica entre os dois marcadores serão apresentadas a seguir. Os cultivares IRGA 421 e IRGA 416 formaram o grupo (B) com microssatélites, porém com os marcadores de RAPD agruparam-se em grupos diferentes (A e E), ao contrário do esperado, já que o primeiro cultivar é originário da seleção do segundo. Os genótipos EPAGRI 108 e EPAGRI 109 formaram o grupo B (RAPD). Isto é consequência do parentesco existente entre eles, uma vez que são provenientes do mesmo cruzamento. Por outro lado, foram agrupados separadamente com microssatélites.

Provavelmente as diferenças de estimativas e agrupamentos encontradas para os dois tipos de marcadores moleculares utilizados, decorram da abrangência diferencial do genoma feita pelos marcadores utilizados. Segundo Bohn *et al.* (1999), a precisão das estimativas de similaridade genética, baseada em marcadores moleculares, depende da localização e do número de marcadores utilizados.

Embora os cultivares CEYSVONI, DIWANI e ELONI, os quais são originários do Suriname, tenham se agrupado de forma diferente para os dois marcadores, em ambas situações ficaram próximos.

Nos materiais japônica, a reprodução do agrupamento nos dois dendogramas foi alta, sendo encontradas pequenas diferenças, como ocorreu para os cultivares DIAMANTE, KOSHIHIKARI e CYPRESS.

Através das matrizes de similaridade genética foram calculadas as médias dos coeficientes de similaridade entre todos os genótipos dentro dos grupos índica e japônica (Tabela 3.6). Os resultados mostraram que para os marcadores do tipo RAPD e microssatélites, a divergência genética foi maior para o grupo índica em relação ao japônica. Além disso, os marcadores de microssatélites revelaram menor índice de similaridade. Da mesma forma, outros trabalhos indicaram maior divergência genética para o grupo índica (Zheng *et al.*, 1994; Ghareyazie *et al.*, 1995; Mackill, 1995; Cao e Oard, 1997; Zhu *et al.*, 1998; Sun *et al.*, 2001).

#### **3.3.4. Análise entre os marcadores de RAPD, microssatélites e morfológicos.**

Através dos marcadores moleculares foi possível separar os genótipos indica dos japônica, ao contrário, o uso das características morfológicas da planta não permitiu esta discriminação (Figura 3.3). Esta separação é importante, uma vez que existem características interessantes associadas a genótipos de cada grupo. Exemplo disso, são materiais japônica que são fontes de resistência ao frio (Cruz e Milach, 2001), que é uma característica inserida nos objetivos de programas de melhoramento de arroz (Rosso *et al.*, 2001; Cruz *et al.*, 2001).

As similaridades genéticas médias calculadas para RAPD ( $0,42 \pm 0,14$ ), microssatélites ( $0,25 \pm 0,20$ ) e características morfológicas ( $0,76 \pm 0,081$ ), mostraram que o menor índice para os genótipos analisados foi obtido com microssatélites, seguido por RAPD e por marcadores morfológicos. Essas diferenças de SG média foram significativas ao nível de 5 % pelo teste t. Nos estudos em que são feitas estimativas de similaridade genética, é interessante utilizar-se mais de um tipo de marcador molecular, pois haverá maior cobertura do genoma e, desta forma, poderão ser reduzidos os erros das estimativas, (Davierwala *et al.*, 2000) principalmente se os genótipos forem aparentados.

Para comparar cada par de matrizes de similaridade provenientes do conjunto dos dados, utilizou-se o teste de Mantel (Figuras 3.4, 3.5 e 3.6). Este teste permite correlacionar duas matrizes. Os resultados indicaram que a correspondência entre os dendogramas gerados através de RAPD e de microssatélites ( $r = 0,69$ ) foi maior do que a correlação entre os marcadores morfológicos e microssatélites ( $r = 0,50$ ) ou entre morfológicos e RAPD ( $r = 0,40$ ).

Embora existam relatos de que características morfológicas são eficientes para discriminação de genótipos (Thomas *et al.*, 2001), neste estudo foi mostrada pouca eficiência na identificação de divergência entre os materiais estudados. Este é um aspecto importante na análise do germoplasma do programa de melhoramento, em que se buscam combinações de alelos favoráveis para características de interesse e, assim, aumentar os ganhos genéticos.

Baseado nas características morfológicas, o coeficiente de similaridade encontrado entre o cultivar BRS 7 e a linhagem IRGA 1598 (ambas do grupo índica) foi 0,97 (dados não mostrados). Diante disso, o melhorista seria induzido a não realizar cruzamento entre esses genótipos por serem muito similares. Entretanto, com os marcadores moleculares, principalmente com microssatélites, foi evidenciado que existem diferenças genéticas entre eles (SG=0,44), mostrando que com este cruzamento haveria possibilidade de encontrar-se variabilidade na progênie.

Em ambos exemplos, os genótipos envolvidos pertencem ao mesmo grupo, o que é de grande importância, visto que a alta esterilidade é uma das limitações nos cruzamentos feitos entre materiais de grupos diferentes. Além disso, a variabilidade genética dentro do mesmo grupo pode permitir que genótipos elite, com adaptação e tipo similares, sejam cruzados e origem populações segregantes com maior potencial para desenvolvimento de novos cultivares.



### **3.3.5. Base genética do germoplasma no melhoramento de arroz**

Apesar da expectativa com base em estudos com marcadores morfológicos, conforme foi mostrado neste trabalho, e de coeficiente de parentesco (Rangel *et al.*, 1996) de que a base genética de genótipos de arroz irrigado cultivados no Brasil seria muito estreita, foi possível encontrar variabilidade genética através dos marcadores moleculares do tipo RAPD e microssatélites.

A expectativa para variabilidade dentro de uma base genética estreita tem sido relatada por Rasmusson e Phillips (1997). Segundo esses autores, essa variabilidade é proveniente da “variação de novo”, que ocorre devido às recombinações intragênicas, *crossing over* desigual, elementos transposons, metilação do DNA, paramutação ou ainda por amplificação do gene. Evidências para essa teoria vêm dos ganhos genéticos obtidos em culturas como cevada e centeio, com base genética estreita.

De fato, os resultados deste estudo corroboram essa teoria, visto que o cultivar IRGA 421 foi selecionado dentro do cultivar IRGA 416 e ambos diferenciam-se para as características de ciclo e suscetibilidade a brusone da folha e da panícula (IRGA, 2001).

Este estudo mostrou que, apesar da estreita base genética dos cultivares de arroz irrigado no Brasil, existe variabilidade, a qual tem permitido o desenvolvimento de cultivares competitivos. Apesar disso, é fundamental que os programas de melhoramento de arroz continuem se preocupando em sair dos patamares de rendimento de grãos que a cultura atingiu. Para isso,

contudo, variabilidade mais ampla do que a existente hoje deve ser buscada no arroz irrigado.

### 3.4. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos pode-se concluir que:

- Com os marcadores moleculares de RAPD e microssatélites é possível obter-se boa discriminação entre genótipos de arroz. A maior divergência genética ocorre entre genótipos do grupo índica do que com genótipos do grupo japônica, avaliada tanto com marcadores do tipo RAPD quanto microssatélites;
- Há diferença de agrupamento com os diferentes sistemas de marcadores, sendo que a maior relação genética é entre RAPD e microssatélites do que entre os marcadores moleculares e os marcadores morfológicos.
- Os marcadores de microssatélites identificam menor similaridade genética entre os genótipos estudados em relação aos de RAPD e marcadores morfológicos;
- Neste grupo de genótipos os locos OPA-16 (900 pb) e OPM-02 (1150 pb) de RAPD e o loco RM261 de microssatélites permitem a separação dos genótipos dos grupos índica e japônica.

TABELA 3.1. Genótipos de arroz utilizados no estudo, seu grupo e respectivas genealogias. Cachoeirinha, IRGA / EEA, 2002.

Genótipos	Grupo <sup>1</sup>	Genealogia
BR-IRGA 409	I	IR 930-2 / IR 665-31-2-4
BR-IRGA 410	I	IR 930-53 / IR 665-31-2-4
BR-IRGA 412	I	IR 930-2 / IR 665-31-2-4
BR-IRGA 414	I	IR 930-2 / IR 665-31-7-4
BR-IRGA 415	I	CICA 9 / BR-IRGA 409
BRS 6	I	SELEÇÃO BR-IRGA 410
BRS 7	I	--
CEYSVONI	I	SML 997 / AWINI
CICA 8	I	CICA 4 // IR 665-23-3 / TE TEP
DIWANI	I	WASHABO / IR454-1-17-1-1
EL PASO L 144	I	IR 930-2 / IR 665-31-2-4
ELONI	I	ACORNI // KAPURI / IR 454
EPAGRI 108	I	CT 7347 / IR 21015-72-3-3-3-1
EPAGRI 109	I	CT 7347 / IR 21015-72-3-3-3-1
IRGA 416	I	IR 841-67-1-1 / BR-IRGA 409
IRGA 417	I	NEW REX / IR 19743-25-2-2 // BR-IRGA 409
IRGA 418	I	BR-IRGA 412 / CICA 9 // BR-IRGA 409
IRGA 419	I	ORYZICA 1 / BR-IRGA 409
IRGA 420	I	ORYZICA 1 / BR-IRGA 412
IRGA 421	I	SELEÇÃO IRGA 416
IRGA 318-11-6-8-2-A1-2	I	NEW REX / IR 19743-25-2-2 // BR-IRGA 409
IRGA 440-49-2-2-5	I	P 1356-1-3M-2-1B / BR-IRGA 412
IRGA 959-1-2-2F-5-2-4-D-1-1-MF	I	IRGA 793 / P 1790-5-1M-4-5M-1B-3M-1B
IRGA 959-1-2-2F-5-2-5-A-2	I	IRGA 793 / P 1790-5-1M-4-5M-1B-3M-1B
IRGA 1567-14-2-3-1-	I	IRGA 370-16-2-1-1F / IRGA 416
IRGA 1598-3-2F-1-3-1	I	TEBONNET / P 1390-1-1M-2-1B
QUALIMAX 1	I	--
BLUEBELLE	J	C.I. 9214 // CENTURY PATNA 231 / C.I. 9122
COLOMBIA 1	J	NAPAL / TAKAO – IKU 18
CYPRESS	J	L 202 / LEMONT
DAWN	J	CENTURY PATNA 231 / HO 12-1-1
DIAMANTE	J	AGOSTANO / P 6 / BLUE ROSE // RB 2 / BALILLA
EEA 404	J	ZENITH / MARAVILHA 1
EEA 406	J	ZENITH / MARAVILHA 1
IAS 12-9 FORMOSA	J	--
INIA TACUARI	J	NEW BONNET / NEW REX L 79
KOSHIHIKARI	J	--
L 202	J	IR456-3-2-1-SEL / 7232278 // L 201

<sup>1</sup> I = Índica; J = Japônica; -- = Desconhecida

TABELA 3.2. Porcentagens de marcadores polimórficos e monomórficos obtidas com 32 *primers* de RAPD. UFRGS, 2002.

<b>Primers</b>	<b>Seqüência dos primers</b>	<b>Marcadores polimórficos</b>	<b>Marcadores monomórficos</b>	<b>Total</b>
OPA-02	5'TGCCGAGCTG3'	3	3	6
OPA-07	5'GAAACGGGTG3'	2	4	6
OPA-10	5'GTGATCGCAG3'	3	1	4
OPA-11	5'CAATCGCCGT3'	3	2	5
OPA-15	5'TTCCGAACCC3'	1	1	2
OPA-16	5'AGCCAGCGAA3'	4	1	5
OPA-17	5'GACCGCTTGT3'	4	0	4
OPA-19	5'CAAACGTCCG3'	6	0	6
OPA-20	5'GTTGCGATCC3'	3	1	4
OPC-20	5'ACTTCGCCAC3'	6	1	7
OPD-02	5'GGACCCAACC3'	1	1	2
OPD-12	5'CACCGTATCC3'	3	1	4
OPD-15	5'CATCCGTGCT3'	1	2	3
OPD-19	5'CTGGGGACTT3'	2	3	5
OPE-06	5'AAGACCCCTC3'	2	0	2
OPE-07	5'AGATGCAGCC3'	4	1	5
OPE-09	5'CTTCACCCGA3'	4	0	4
OPE-14	5'TGCGGCTGAG3'	3	1	4
OPE-18	5'GGACTGCAGA3'	1	3	4
OPE-19	5'ACGGCGTATG3'	4	0	4
OPM-02	5'ACAACGCCTC3'	4	1	5
OPM-03	5'GGGGGATGAG3'	3	1	4
OPM-06	5'CTGGGGCAACT3'	3	1	4
OPM-07	5'CCGTGACTCA3'	2	0	2
OPM-08	5'TCTGTTCCCC3'	7	0	7
OPM-10	5'TCTGGCGCAC3'	1	0	1
OPM-11	5'GTCCACTGTG3'	3	0	3
OPM-16	5'GTAACCAGCC3'	3	2	5
OPM-17	5'TCAGTCCGGG3'	5	1	6
OPM-18	5'CACCATCCGT3'	2	3	5
OPM-19	5'CCTTCAGGCA3'	1	1	2
OPM-20	5'AGGTCTTGGG3'	1	1	2
<b>Total</b>		<b>95</b>	<b>37</b>	<b>132</b>
<b>%</b>		<b>71,97</b>	<b>28,03</b>	<b>100</b>

TABELA 3.3. Locus microssatélites utilizados na análise de 38 genótipos de arroz, seqüência dos *primers*, localização cromossômica, temperatura de anelamento e alelos amplificados. UFRGS, 2002.

Locos	Seqüência dos <i>primers</i>	Cromosomos	Temp. de anelamento (°C)	Alelos amplificados
RM81	F5'GAGTGCTTGTGCAAGATCCA3' R5'CTTCTTCACTCATGCAGTTC3'	1,3	59	4
RM212	F5'CCACTTTCAGCTACTACCAG3' R5'CACCCATTTGTCTCTCATTATG3'	1	61	4
RM220	F5'GGAAGGTAAGTGTTCCTCAAC3' R5'GAAATGCTTCCCACATGTCT3'	1	58	5
RM238	F5'GATGGAAAGCACGTGCACTA3' R5'ACAGGCAATCCGTAGACTCG3'	1,6	61	10
RM207	F5'CCATTCGTGAGAAGATCTGA3' R5'CACCTCATCCTCGTAACGCC3'	2	61	4
RM233	F5'CCAAATGAACCTACATGTTG3' R5'GCATTGCAGACAGCTATTGA3'	2	57	6
RM261	F5'CTACTTCTCCCCTTGTGTGCG3' R5'TGTACCATCGCCAAATCTCC3'	4	61	3
RM234	F5'ACAGTATCCAAGGCCCTGG3' R5'CACGTGAGACAAAGACGGAG3'	7	61	4
RM223	F5'GAGTGAGCTTGGGCTGAAAC3' R5'GAGGCAAGTCTTGGCACTG3'	5,8	61	6
RM242	F5'GGCCAACGTGTGTATGTCTC3' R5'TATATGCCAAGACGGATGGG3'	9	61	5
RM239	F5'TACAAAATGCTGGGTACCCC3' R5'ACATATGGGACCCACCTGTC3'	10	61	5
RM206	F5'CCCATGCGTTTAACTATTCT3' R5'CGTTCCATCGATCCGTATGG3'	11	59	8
RM235	F5'AGAAGCTAGGGCTAACGAAC3' R5'TCACCTGGTCAGCCTCTTTC3'	12	61	9

TABELA 3.4. Matriz de similaridade genética de 38 genótipos de arroz obtida pelo coeficiente de Jaccard para os dados dos marcadores RAPD. UFRGS, 2002.



TABELA 3.5. Matriz de similaridade genética de 38 genótipos de arroz obtida pelo com coeficiente de Jaccard para os dados dos marcadores microssatélites. UFRGS, 2002.

TABELA 3.6. Médias dos coeficientes de similaridade entre todos os genótipos dentro dos grupos índica e japônica, para os diferentes marcadores. UFRGS, 2002.

	<b>RAPD</b>	<b>Microssatélites</b>	<b>Morfológico</b>
Índica	0,41	0,24	0,77
Japônica	0,53	0,36	0,70

FIGURA 3.1. Dendograma do agrupamento de 38 genótipos de arroz com marcadores RAPD. UFRGS, 2002.

FIGURA 3.2. Dendograma do agrupamento de 38 genótipos de arroz com marcadores microssatélites. UFRGS, 2002.

FIGURA 3.3. Dendograma do agrupamento de 38 genótipos de arroz para características morfológicas. UFRGS, 2002.

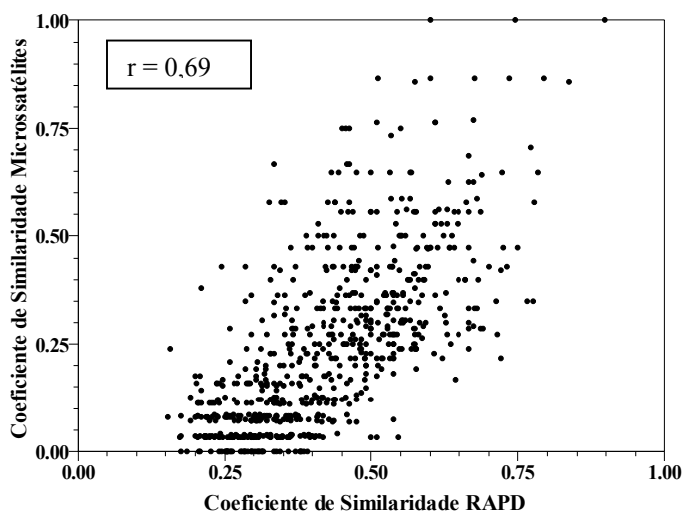


FIGURA 3.4. Correlação entre as matrizes de similaridade RAPD e microsatélite. UFRGS, 2002.

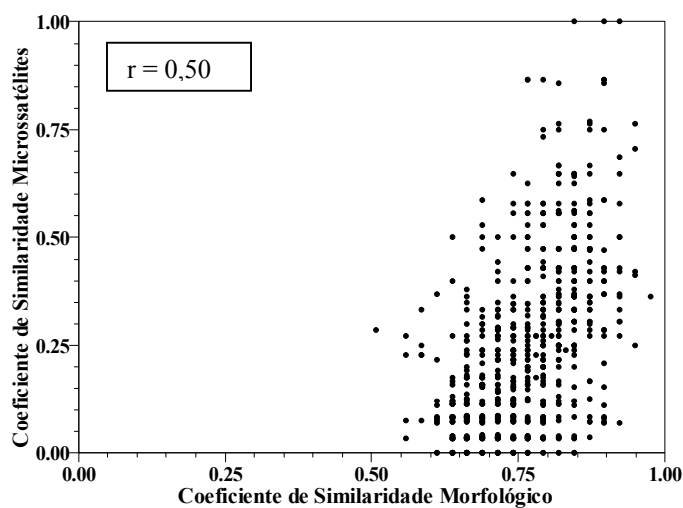


FIGURA 3.5. Correlação entre as matrizes de similaridade morfológica e microsatélites. UFRGS, 2002.

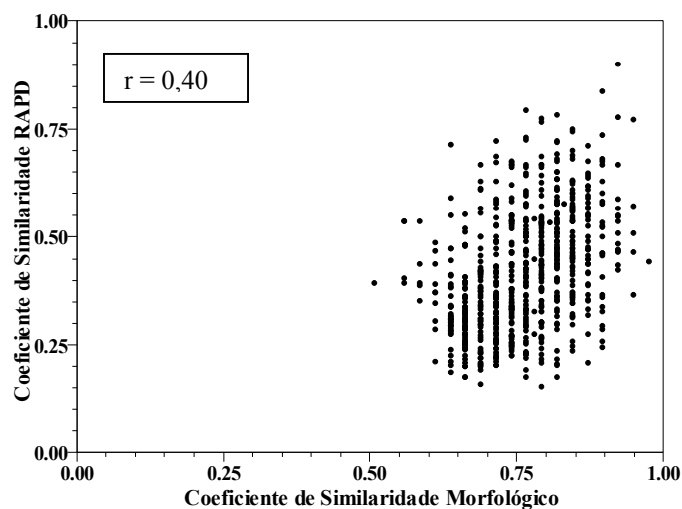


FIGURA 3.6. Correlação entre as matrizes de similaridade morfológica e RAPD. UFRGS, 2002.

## CONCLUSÕES GERAIS

Os genótipos estudados apresentam alta similaridade genética para os descritores morfológicos do arroz, principalmente dentro do grupo indica. As características mais polimórficas são o peso de 1000 grãos e o ciclo e, as monomórficas são a cor da aurícula e da lígula, o ângulo dos afilhos, a distribuição das aristas e a cor das glumelas,

As características que mais contribuem para separar os genótipos dos grupos indica e japônica, são o ângulo da folha bandeira, comprimento do colmo, altura de exerceção e grau de grane da panícula.

As características morfológicas não separam corretamente os genótipos de arroz do grupo indica e japônica.

Os marcadores moleculares do tipo RAPD e microssatélites permitem alta discriminação entre os genótipos, mostrando que existe variabilidade genética neste germoplasma, principalmente no grupo indica. Entre os marcadores utilizados, os microssatélites identificam menor similaridade genética entre os genótipos.

A maior divergência genética ocorreu entre genótipos do grupo indica do que com genótipos do grupo japonico, tanto com marcadores do tipo RAPD quanto do tipo microssatélites.

Há diferença de agrupamento com os diferentes sistemas de marcadores, sendo que a maior relação genética é entre RAPD e microssatélites do que entre os marcadores moleculares e os marcadores morfológicos.

Neste grupo de genótipos os locos OPA-16 (900 pb) e OPM-02 (1150 pb) de RAPD e o loco RM261 de microssatélites permitem a separação dos genótipos dos grupos índica e japônica.

Este estudo mostra que apesar da estreita base genética existente entre a maioria dos genótipos de arroz estudados, ainda se encontra variabilidade genética para ser explorada, na busca de se obter ganhos genéticos nos programas de melhoramento de arroz dessa cultura.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AJMONE-MARSAN, P.; LIVINI, C.; MESSMER, M. M. *et al.* Cluster analysis of RFLP data from related maize inbred lines of the BSSS and LSC heterotic groups and comparison with pedigree data. **Euphytica**, Wageningen, v.60, p. 139-148, 1992.
- AKAGI, H.; YOKOZEKI, Y.; INAGAKI, A. *et al.* Highly polymorphic microsatellites of rice consist of AT repeats, and a classification of closely related cultivars with these microsatellite loci. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, p. 61-67, 1997.
- AUTRIQUE, E.; NACHIT, M. M.; MONNEVEUX, P. *et al.* Genetic diversity in Durum Wheat based on RFLPs, morphophysiological traits, and coefficient of parentage. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 735-742, 1996.
- BARBOSA-NETO, J. F.; BERED, F. Marcadores moleculares e diversidade genética no melhoramento de plantas. In: MILACH, S. C. K. (ed) **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre, 1998.
- BEER, S. C.; GOFFREDA, J.; PHILLIPS, T. D. *et al.* Assessment of genetic variation in *Avena sterilis* using morphological traits, isozymes and RFLPs. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 1386-1393, 1993.
- BERED, F. **Variabilidade genética em trigo hexaplóide estimada através de caracteres morfológicos, coeficiente de parentesco e RAPD**. Porto Alegre, 1999. 105 f. Tese– Programa de Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1999.
- BERED, F.; BARBOSA-NETO, J. F.; CARVALHO, F. I.F. Marcadores moleculares e sua aplicação no melhoramento de plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 27, p. 513-520, 1997.
- BOHN, M.; UTZ, H. F.; MELCHINGER, A. E. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs and SSRs and their use for predicting progeny variance. **Crop Science**, Madison, v. 39, p. 228-237, 1999.

- BRASIL. Decreto nº 2.366, de 05 de novembro de 1997. Regulamenta a Lei nº 9.456, de 25 de abril de 1997, que institui a Lei de Proteção de cultivares, dispõe sobre o Serviço Nacional de Proteção de Cultivares – SNPC, e dá outras providências. **Diário Oficial [da República Federativa do Brasil]**, Brasília-DF, 07 nov.1997, p. 25.333-25.354.
- BRASIL. Ministério da Agricultura, do Abastecimento e da Reforma Agrária. Comissão Técnica de Normas e Padrões. **Normas de identidade, qualidade, embalagem e apresentação do arroz**. Brasília, 1998. 25p.v. 8, n. 20/6.
- CAO, D.; OARD, J. H. Pedigree and RAPD-based DNA analysis of commercial U.S. rice cultivars. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 1630-1635, 1997.
- CAO, W.; HUCL, P.; SCOLES, G. *et al.* Genetic diversity within spelta and macha wheats based on RAPD analysis. **Euphytica**, Wageningen, v. 104, p. 181-189, 1998.
- CENTRO INTERNACIONAL DE AGRICULTURA TROPICAL. **Evaluación de la culinaria y molinera del arroz**. Cali, Colombia, 1989. 73 p.
- CHEN, X.; TEMNYKH, S.; XU, Y. *et al.* Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 95, p. 553-567, 1997.
- COX, T. S.; LOOKHART, G. L.; WALKER, D. E. *et al.* Genetic relationships among hard red winter wheat cultivars as evaluated by pedigree analysis and gliadin polyacrylamide gel electrophoretic patterns. **Crop Science**, Madison, v. 25, p. 1058-1063, 1985.
- CRUZ, M.; PULVER, E.; JENNINGS, P. *et al.* Identificación de materiales genéticos de arroz para tolerancia a temperaturas bajas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2, 2001; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2001. p. 15-17.
- CRUZ, R. P. da; MILACH, S. C. K. Análise de RAPD. In: MILACH, S. C. K. (ed) **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: [Milach]; 1998, p. 107-116,.
- CRUZ, R. P. da; MILACH, S. C. K. Variação fenotípica e molecular entre seis genótipos de arroz usados no estudo da tolerância ao frio. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2, 2001; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2001. p. 49-51.

CUEVAS-PÉREZ, F. E.; GUIMARÃES, E. P.; BERRÍO, L. E. *et al.* Genetic base of irrigated rice in Latin America and the Caribbean, 1971 to 1989. **Crop Science**, Madison, v. 32, p. 1054-1059, 1992.

- DARIO, G. J. A.; DELLA VALLE, F. N.; ARRUDA, I. O. S. F. de. Avaliação da atividade fungicida e fitoestimulante do Pyroquilon aplicado como tratamento de sementes de arroz (*Oryza sativa* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., 1999, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 389-392.
- DAVIERWALA, A. P.; CHOWDARI, K. V.; KUMAR, S. *et al.* Use of three different marker systems to estimate genetic diversity of Indian elite rice varieties. **Genetica**, Dordrecht Netherlands, v. 108, p. 269-284, 2000.
- DISCONZI, M. S.; MACIEL, J. L. N.; SCHEURMANN, K. K. *et al.* Identificação do gene de resistência a brusone *Pi-1* em cultivares de arroz utilizando marcadores microsátélites. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 1, 2000; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: IRGA, 2001. p. 339-340.
- FEDERIZZI, L. C. Estrutura de um programa de melhoramento de plantas e possíveis aplicações de marcadores moleculares: visão do melhorista. In: MILACH, S. C. K. (ed) **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: Milach, 1998, p. 3-16.
- FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3 ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p. (EMBRAP-CENARGEN. Documentos, 20).
- FIGDORE, S. S.; FERREIRA, M. E.; SLOCUM, M. K. *et al.* Association of RFLP markers with trait loci affecting clubroot resistance and morphological characters in *Brassica oleracea* L. **Euphytica**, Wageningen, v.69, p. 33-44, 1993.
- FONSECA, J. R.; BEDENDO, I. P. **Características morfológicas, agronômicas e fenológicas de algumas cultivares de arroz**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAP, 1984. 58p.
- FUENTES, J. L.; ESCOBAR, F.; ALVAREZ, A. *et al.* Analyses of genetic diversity in Cuban rice varieties using isozyme, RAPD and AFLP markers. **Euphytica**, Wageningen, v. 109, p. 107-115, 1999.
- GARLAND, S. H.; LEWIN L.; ABEDINIA M. *et al.* The use of microsatellite polymorphisms for the identification of Australian breeding lines of rice (*Oryza sativa* L.). **Euphytica**, Wageningen, v.108, p. 53-63, 1999.
- GHAREYAZIE, B.; HUANG, N.; SECOND, G. *et al.* Classification of rice germplasm. I. Analysis using AFLP and PCR-based RFLP. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 91, p. 218-227, 1995.

- HEMAMALINI, G. S.; SHASHIDHAR, H. E.; HITTALMANI, S. Molecular marker assisted tagging of morphological and physiological traits under two contrasting moisture regimes at peak vegetative stage in rice (*Oryza sativa* L.). **Euphytica**, Wageningen, v.112, p. 69-78, 2000.
- IRGA. **Arroz irrigado no RS: área, produção e rendimento**. Disponível em: <http://www.irga.rs.gov.br>. Acesso em: 2002
- IRGA. Cultivares. In: ARROZ irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o sul do Brasil. Porto Alegre: IRGA, 2001 p. 55-64.
- IRGA. **Importância do arroz e a pesquisa desenvolvida pelo Irga**. Cachoeirinha: IRGA, 1997. (folder).
- JARADAT, A. A. Phenotypic divergence for morphological and yield-related traits among landrace genotypes of durum wheat from Jordan. **Euphytica**, Wageningen, v. 52, p. 155-164, 1991.
- JOHNS, M. A.; SKROCH, P. W.; NIENHUIS, J. *et al.* Gene pool classification bean landraces from Chile based on RAPD and morphological data. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 605-613, 1997.
- KO, H. L.; COWAN, D. C.; HENRY, R. J. *et al.* Random amplified polymorphic DNA analysis of Australian rice (*Oryza sativa* L.) varieties. **Euphytica**, Wageningen, v. 80, p. 179-189, 1994.
- KUMAR, I.; KHUSH, G. S. Genetic analyses of different amylose levels in rice. **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 1167-1172, 1987.
- LEE, M. DNA markers and plant breeding programs. **Advances in Agronomy**, San Diego, v. 55, p. 265-344, 1995.
- LEE, M.; GODSHALK, E. B.; LAMKEY, K. R. *et al.* Association of restriction fragment length polymorphism among maize inbreds with agronomic performance of their crosses. **Crop Science**, Madison, v. 29, p. 1067-1071, 1989.
- MACKILL, D. J. Classifying japonica rice cultivars with RAPD markers. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 889-894, 1995.
- MACKILL, D. J.; COFFMAN, W. R.; GARRITY, D. P. **Rainfed lowland rice improvement**. Manila: International Rice Research Institute, 1996. 242p.
- MACKILL, D. J.; LEI, X. Genetic variation for traits related to temperate adaptation of rice cultivars. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 1340-1346, 1997.

MACKILL, D. J.; ZHANG, Z.; REDOÑA, E. D. *et al.* Level of polymorphism and genetic mapping of AFLP markers in rice. **Genome**, Ottawa, v. 39, p. 969-977, 1996.

- MAILER, R. J.; WRATTEN, N.; VONARX, M. Genetic diversity amongst Australian canola cultivars determined by randomly amplified polymorphic DNA. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 37, p. 793-800, 1997.
- MANJARREZ-SANDOVAL, P.; CARTER, T. E. Jr.; WEBB, D. M. *et al.* RFLP genetic similarity estimates and coefficient of parentage as genetic variance predictors for soybean yield. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 698-703, 1997.
- McKENZIE, K. S.; RUTGER, J. N. Genetic analysis of amylose content, alkali spreading score, and grain dimensions in rice. **Crop Science**, Madison, v. 23, p. 306-313, 1983.
- MELCHINGER, A. E.; GRANER, A.; SINGH, M. *et al.* Relationships among European barley germplasms: i. Genetic diversity among winter and spring cultivars revealed by RFLPs. **Crop Science**, Madison, v. 34, p. 1191-1199, 1994.
- MESSMER, M. M.; MELCHINGER, A. E.; HERRMANN, R. G. *et al.* Relationships among early european maize inbreds: II. Comparison of pedigree and RFLP data. **Crop Science**, Madison, v. 33, p. 994-950, 1993.
- MILACH, S. C. K. Principais tipos de marcadores moleculares e suas características. In: MILACH, S. C. K. (ed) **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: Milach, 1998, p. 17-28.
- MITRICK, A. J.; SKROCH, P. W.; NIENHUIS, J.; HINRICHSEN, P. *et al.* Gene pool classification of common ben landraces from Chile based on RAPD and morphological data. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 605-613, 1997.
- NAGAOKA, T.; OGIHARA, Y. Applicability of inter-simple sequence repeat polymorphisms in wheat for use as DNA markers in comparison to RFLP and RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 94, p. 597-602, 1997.
- NELSON, J. C. 1993 ITMI wheat mapping workshop: laboratory manual. Ithaca: Cornell University, 1993.
- NUNES, C. D. M.; TERRES, A. L.; FAGUNDES, P. R. R. Melhoramento genético de arroz irrigado na Embrapa de clima temperado, 6: comportamento da brusone nos municípios próximo de Pelotas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., 1999, Pelotas. **Anais...** Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 399-401.
- OKA, H. I.; MORISHIMA, H. Wild progenitors of cultivated rice. In: SCIENCE of the rice plant genetics. Tokyo: 1997. v. 3, p. 88-111.

- PEDROSO, B. A. Cultivares. In: ———. **Arroz Irrigado: Obtenção e Manejo de Cultivares**. 3 ed, Porto Alegre: Sagra, 1989, p. 69-117.
- PROMEGA CORPORATION. **Silver Sequence™ DNA sequencing system technical manual**. Madison: Promega, 1986. 19p.
- QIAN, W.; GE, S.; HONG, D-Y. Genetic variation within and among populations of a wild rice *Oryza granulata* from China detected by RAPD and ISSR markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 102, p. 440-449, 2001.
- RANGEL, P. H. N.; GUIMARÃES, E. P.; NEVES, P. C. F. Base genética das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, p. 349-357, 1996.
- RANGEL, P. H. N.; ZIMMERMANN, F. J. P. Ganhos de produtividade de grãos no melhoramento populacional do arroz de várzea. In: REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DE ARROZ, 6., 1998, Goiânia. [Anais] Perspectivas para a cultura do arroz nos ecossistemas de várzeas e terras altas. Goiânia: EMBRPA-CNPAF, 1998, p. 174-176. (EMBRAPA-CNPAF. Documentos, 85).
- RASMUSSEN, D. C.; PHILLIPS, R. L. Plant breeding progress and genetic diversity from de novo variation and elevated epistasis. **Crop Science**, Madison, v. 37, p. 303-310, 1997.
- ROHLF, F. J. **NTSYS – PC: numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Versão 2.10 m. New York: Exeter Software, 2000. 1 CD.
- ROSSO, A. F. de; LOPES, S. I. G.; CARMONA, P. S. *et al.* Avaliação de genótipos de arroz para a tolerância ao frio na fase de germinação. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2, 2001; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24., 2001, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: Instituto Rio Grandense do Arroz, 2001. p. 83-84.
- RUTGER, J. N.; MACKILL, D. J. Application of Mendelian genetics in rice breeding. In: KHUSH, G. S.; BRAR, D. S.; HARDY, B., ed. **RICE GENETICS**, 4, Los Baños, Philippines, 2001. **Proceedings...** New Delhi: Science Publishers; Los Baños: International Research Institute, 2001. 27-38.
- SAS Institute. **System for Information**. Versão 8.0. Cary, 2000.
- SCHLOSSER, I.; KRANZ, J.; BONMAN, J. M. Morphological classification of traditional Philippine upland rice cultivars in upland nurseries using cluster analysis methods for recommendation, breeding and selection purposes.



**Journal of Agronomy and Crop Science-Zeitschrift Fur Acker Und Pflanzenbau**, Berlin, v. 184, p. 165-171, 2000.

- SOUZA, E.; SORRELLS, M. E. Pedigree analysis of North American oat cultivars released from 1951 to 1985. **Crop Science**, Madison, v. 29, p. 595-601, 1989.
- SUBUDHI, P. K.; HUANG, N. RAPD mapping in a doubled haploid population of rice (*Oryza sativa*). **Hereditas**, London, v. 130, p. 41-49, 1999.
- SUN, C. Q.; WANG, X. K.; LI, Z. C. *et al.* Comparison of the genetic diversity of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) and cultivated rice (*Oryza sativa* L.) using RFLP markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 102, p. 157-162, 2001.
- TATINENI, V.; CANTRELL, R. G.; DAVIS D. D. Genetic diversity in elite cotton germplasm determined by morphological characteristics and RAPDs. **Crop Science**, Madison, v. 36, p. 186-192, 1996.
- THANH, N. D.; ZHENG, H. G.; DONG, N. V. *et al.* Genetic variation in root morphology and microsatellite DNA loci in upland rice (*Oryza sativa* L.) from Vietnam. **Euphytica**, Wageningen, v. 105, p. 43-51, 1999.
- THOMAS, G.; JOSEPH, L.; VARGHESE, G. *et al.* Discrimination between *Oryza malampuzhaensis* Krish. *et* Chand. e *Oryza officinalis* Wall *ex* Watt based on RAPD markers and morphological traits. **Euphytica**, Wageningen, v. 122, p. 181-189, 2001.
- VIERLING, R. A.; NGUYEN, H. T. Use of RAPD markers to determine the genetic diversity of diploid, wheat genotypes. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, vol. 84, p. 835-838, 1992.
- VIRK, P. S.; NEWBURY, H. J.; JACKSON, M. T. The identification of duplicate accessions within a rice germplasm collection using RAPD analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 90, p. 1049-1055, 1995.
- WEEDEN, N. F.; TIMMERMAN, G. M.; LU, J. Identifying and mapping genes of economic significance. **Euphytica**, Wageningen, v. 73, p. 191-198, 1994.
- WILLIAMS, J. G. K. DNA polymorphisms amplified by arbitrary *primers* are useful as genetic markers. **Nucleic Acids Research**, Oxford, vol. 18, p. 6531-6535, 1990.
- XIE, J. H.; ZAPATA-ARIAS, F. J.; SHEN, M. *et al.* Salinity tolerant performance and genetic diversity of four rice varieties. **Euphytica**, Wageningen, v. 116, p. 105-110, 2000.

ZHENG, K.; QIAN, H.; SHEN, B. *et al.* RFLP-based phylogenetic analysis of compatibility varieties in *Oryza sativa* L. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 88, p. 65-69, 1994.

ZHU, J.; GALE, M. D.; QUARRIE, S. *et al.* AFLP markers for the study of rice biodiversity. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 96, p. 602-611, 1998.

## VITA

**Mara Cristina Barbosa Lopes**, filha de Horaci Balhego Barbosa e Adélia Brum Rodrigues, nasceu em 20 de novembro de 1963, em Pelotas, Rio Grande do Sul.

Completo o ensino de primeiro grau no colégio estadual Nossa Senhora de Lourdes e estudou no colégio agrícola Conjunto Agrotécnico Visconde da Graça (C.A.V.G.), onde completou o segundo grau no curso Técnico em Agropecuária, em Pelotas.

No ano de 1984 foi aprovada no concurso realizado pelo Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), onde trabalhou nas atividades de Assistência Técnica no Projeto de Arroz Irrigado, na região do Baixo São Francisco no estado de Sergipe, através do convênio IRGA / CODEVASF. No período de 1988 a 1994 passou a trabalhar na Estação Experimental do Arroz, em Cachoeirinha, em atividades ligadas à pesquisa em melhoramento de arroz irrigado.

Em 1992 ingressou na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul de Porto Alegre, graduando-se como Engenheiro Agrônomo em 3 de outubro de 1998. Durante os anos de 1996 e 1997 foi bolsista de iniciação científica do CNPq, em atividades de pesquisa agrícola do Departamento de Plantas de Lavoura da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, com a orientação do professor Paulo Regis Ferreira da Silva.

Em dezembro de 1998 iniciou a trabalhar na Estação Experimental do Arroz em pesquisa na área de melhoramento de arroz, convênio IRGA / BASF, onde atua até hoje.

Em março de 2000 ingressou no Curso de Mestrado em Fitotecnia do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.