

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

**CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E FENOTÍPICA PARA TOLERÂNCIA AO  
FRIO E CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS EM ARROZ IRRIGADO**

Antonio Folgiarini de Rosso  
Engenheiro Agrônomo, M. Sc./UFPEL

Tese apresentada como um dos requisitos à obtenção  
do grau de Doutor em Fitotecnia  
Área de Concentração Plantas de Lavoura

Porto Alegre (RS), Brasil  
Outubro, 2006

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

ANTONIO FOLGIARINI DE ROSSO  
Engenheiro Agrônomo – UFPEL  
Mestre em Agronomia – UFPEL

**TESE**

Submetida como parte dos requisitos  
para obtenção do Grau de

**DOUTOR EM FITOTECNIA**

Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia

Faculdade de Agronomia

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Porto Alegre (RS) , Brasil

*Dedico este trabalho à minha esposa Rosane Link de Rosso e aos nossos filhos Felipe, Daniel e Willian Link de Rosso pelo amor, carinho, dedicação, compreensão, incentivo e companheirismo.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus pela vida.

Aos meus pais pelo amor, ensinamentos e exemplo de luta na vida.

Aos professores da Universidade Federal do Rio Grande do Sul Luiz Carlos Federizzi, Paulo Régis Ferreira da Silva e Sandra Cristina Kothe Milach e a pesquisadora e colega do Instituto Rio Grandense do Arroz Renata Pereira da Cruz pela orientação, ensinamentos, apoio e amizade em todos os momentos do curso e na elaboração deste trabalho.

Ao Pesquisador da EMBRAPA/CENARGEN Márcio Elias Ferreira e a doutoranda da UNB Andréa Schmidt pelo apoio, incentivo e genotipagem dos genitores e da população com marcadores moleculares.

Aos colegas e amigos Sérgio Iraçu Gindri Lopes e Mara Cristina Barbosa Lopes pela amizade, incentivo, troca de idéias e apoio em várias etapas da realização deste trabalho.

A todos os professores, especialmente aos do Departamento de Plantas de Lavoura, pela amizade e ensinamentos transmitidos ao longo do Curso.

Ao Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) pela liberação para a realização do curso, pelo apoio para execução dos trabalhos de campo e de laboratório e incentivo na formação profissional, principalmente nas pessoas do Diretor Técnico Flávio Jair Schirmann e do Gerente da Divisão de Pesquisa Maurício Miguel Fischer.

Aos colegas da Equipe de Melhoramento Paulo Sérgio Carmona, Oneides Antonio Avozani, João Leodato Nunes Maciel, Dieter Kempf e Gustavo Rodrigo Daltrozo Funck pelo apoio e amizade.

Aos funcionários Paulo Rodrigo de Freitas, Catiane Mirapalhetta e Rita de Cássia Comoreto pelo apoio e participação nas avaliações de laboratório.

Aos estagiários Felipe Klein Ricachenevsky e Débora Todt Petry pela participação e ajuda nas avaliações de laboratório.

Aos funcionários do IRGA Gilmar Neves, Irene Silva, Deroci Rodrigues, Artêmio Soares dos Santos, Dilomar Silveira de Oliveira, Izabel Cristina Panni de Oliveira, Carlos Eduardo Batista Leal, Elias Dias de Oliveira e Manoel Ordi da Costa pela ajuda nos trabalhos de campo e laboratório.

Aos demais colegas da Estação Experimental do Arroz que direta ou indiretamente colaboraram para a realização deste trabalho.

Ao convívio saudável e alegre com os colegas de curso Caren Regina Cavichioli Lamb, Cláudio V. de Medeiros, Gustavo Cantori Hernandez, Itamar C. Nava, Karine G. Pinto, Lisandro Rambo, Luis Marcelo Tisian, Paula Wiethölter, Tatiana Boff e Tatiana de Freitas Terra.

Especialmente à minha esposa Rosane Link de Rosso pelo amor, incentivo, companheirismo, dedicação e paciência durante a realização do curso. Aos meus filhos Felipe, Daniel e Willian por entenderem determinados momentos de ausência.

# CARACTERIZAÇÃO GENÉTICA E FENOTÍPICA PARA TOLERÂNCIA AO FRIO E CARACTERÍSTICAS AGRONÔMICAS EM ARROZ IRRIGADO <sup>1</sup>

Autor: Antonio Folgiarini de Rosso  
Orientador: Luiz Carlos Federizzi

## RESUMO

Temperaturas baixas são um dos principais limitantes à cultura do arroz no estado do Rio Grande do Sul, porém a tolerância ao frio é uma característica difícil de selecionar em condições de campo pela impossibilidade de prever a ocorrência do estresse e de obter coincidência das baixas temperaturas com os períodos críticos para a cultura. Os objetivos deste trabalho foram estudar a divergência genética para tolerância ao frio entre genótipos de arroz irrigado, avaliar o potencial de uma população índica x japônica para fins de melhoramento e estudar a herança da tolerância ao frio em três estádios de desenvolvimento. Para isso, foi realizada avaliação fenotípica de 41 genótipos de arroz irrigado para tolerância ao frio nos estádios de germinação e vegetativo, e análise molecular com marcadores do tipo microssatélites. O estudo da população de 71 linhagens recombinantes F<sub>6:7</sub> e F<sub>6:8</sub> foi realizado em ensaios de campo em duas safras agrícolas (2004/05 e 2005/06) e em dois locais (Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar-RS), onde foram avaliados sete caracteres fenotípicos, e sob condição de temperatura controlada, em Cachoeirinha, avaliada a tolerância ao frio nos estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo. Com base nas análises fenotípica e molecular, os 41 genótipos do banco de germoplasma apresentaram ampla divergência genética, evidenciando que entre os genótipos da subespécie japônica existem boas fontes de tolerância ao frio tanto na germinação como no estágio de plântula. A população de linhagens recombinantes apresentou elevado potencial para fins de melhoramento, com ampla variabilidade genética em todos os caracteres avaliados. Os resultados mostraram uma herança quantitativa para a tolerância ao frio no estágio de germinação e uma herança oligogênica nos estádios vegetativo e reprodutivo, com dois genes independentes em cada um destes estádios.

---

<sup>1</sup> Tese de Doutorado em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (99 p.) Outubro, 2006.

# GENETIC AND PHENOTYPIC CHARACTERIZATION OF COLD TOLERANCE AND AGRONOMIC TRAITS IN IRRIGATED RICE <sup>1</sup>

Author: Antonio Folgiarini de Rosso  
Advisor: Luiz Carlos Federizzi

## ABSTRACT

Cold temperature is one of the main limiting factors for the rice crop in the Rio Grande do Sul State, however cold tolerance is a difficult trait to select for under field conditions due to unpredictability of cold temperature occurrence and its coincidence with critical stages of plant development. The objectives of this work were to study the genetic divergence for cold tolerance among irrigated rice genotypes, to evaluate the potential of an indica x japonica population for cold tolerance breeding and to study the inheritance and heritability of cold tolerance at three stages of development. For this, 41 irrigated rice genotypes were evaluated for cold tolerance at the germination and vegetative stages and analyzed with microsatellites molecular markers. The study of the population of 71 recombinant inbred lines was carried out on field trials conducted at two sites (Cachoeirinha and Santa Vitória do Palmar) during two growing seasons (2004/05 and 2005/06), where seven phenotypic traits were evaluated. Under controlled temperature, in Cachoeirinha, cold tolerance at germination, vegetative and reproductive stages was evaluated. Based on the phenotypic and molecular analyses, the 41 genotypes of the germplasm bank showed wide genetic divergence and evidenced that among the genotypes belonging to the japonica subspecies there are good sources of cold tolerance at the germination and vegetative stages. The population of recombinant inbred lines showed high potential for breeding purposes, with wide genetic variability for all the phenotypic traits evaluated. The results showed quantitative inheritance for cold tolerance at the germination stage and oligogenic inheritance for the vegetative and the reproductive stages, with two independent genes in each of these stages.

---

<sup>1</sup> Doctoral thesis in Agronomy, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (99 p.) October, 2006.



## SUMÁRIO

	<b>Página</b>
INTRODUÇÃO GERAL.....	01
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA GERAL.....	03
Origem e classificação botânica do arroz.....	03
Diferenciação entre as subespécies índica e japônica.....	04
Principais limitações das cultivares de arroz irrigado no Rio Grande do Sul.....	06
Danos causados por temperaturas baixas e genética da tolerância ao frio.....	09
 CAPÍTULO I: Análise da diversidade genética de genitores e caracterização fenotípica de genótipos de arroz irrigado para tolerância ao frio nos estádios de germinação e vegetativo avaliada sob temperatura controlada.....	 16
1.1. Introdução.....	16
1.2. Material e Métodos.....	18
1.2.1. Avaliação no estádio de germinação.....	18
1.2.2. Avaliação no estádio vegetativo.....	18
1.2.3. Análise de diversidade.....	19
1.2.3.1. Extração de DNA.....	19
1.2.3.2. Genotipagem utilizando marcadores moleculares.....	20
1.2.3.3. Análise dos dados.....	22
1.2.3.4. Análise estatística.....	22
1.3. Resultados e Discussão.....	22
1.4. Conclusões.....	30
 CAPÍTULO II: Potencial de uma população índica x japônica de arroz irrigado, para fins de melhoramento.....	 31
2.1. Introdução.....	31
2.2. Material e Métodos.....	33
2.2.1. Obtenção da população de linhagens recombinantes .....	33
2.2.2. Ensaio de campo.....	34
2.2.3. Caracteres avaliados.....	35
2.2.4. Análise estatística.....	36
2.3. Resultados e Discussão.....	42
2.4. Conclusões.....	59
 CAPÍTULO III: Caracterização fenotípica de uma população índica x japônica de arroz irrigado, para tolerância ao frio.....	 61

3.1. Introdução.....	61
3.2. Material e Métodos.....	65
3.2.1. Avaliação no estágio de germinação.....	66
3.2.2. Avaliação no estágio vegetativo.....	67
3.2.3. Avaliação no estágio reprodutivo.....	67
3.2.4. Avaliação no estágio vegetativo a campo.....	68
3.2.5. Análise estatística.....	68
3.3. Resultados e Discussão.....	72
3.4. Conclusões.....	79
DISCUSSÃO GERAL.....	81
CONCLUSÕES GERAIS.....	84
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85
APÊNDICES.....	93
VITA.....	99

## RELAÇÃO DE TABELAS

	<b>Página</b>
1.1. Locos de microssatélites utilizados na análise dos 41 genótipos do banco de germoplasma do IRGA, seqüência dos iniciadores, fluorocromo, cor, tamanho dos alelos (TAM), localização cromossômica (CRM) e seqüência amplificada.....	21
1.2. Porcentagem de redução no crescimento do coleóptilo e de sobrevivência das plântulas de 41 genótipos de arroz irrigado do banco de germoplasma do IRGA, avaliados sob condição de temperatura controlada.....	23
1.3. Matriz de similaridade genética de 41 genótipos do banco de germoplasma do IRGA, obtida pelo coeficiente de Jaccard para os dados de 16 marcadores microssatélite.....	26
2.1. Locais, ambiente, safras e datas de semeadura e emergência das plântulas nos ensaios.....	35
2.2. Esquema da análise de variância individual por ambiente do modelo em blocos ao acaso.....	37
2.3. Esquema da análise de variância conjunta do modelo em blocos ao acaso.....	38
2.4. Resumo das análises de variância para os caracteres rendimento de grãos, ciclo até a floração, estatura de planta, índice de centro branco nos grãos, esterilidade de espiguetas, número de grãos por panícula e teor de amilose nos grãos, referentes aos experimentos realizados em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar na safra 2004/05, em Cachoeirinha e em Santa Vitória do Palmar, no estado do Rio Grande do Sul, na safra 2005/06.....	43
2.5. Valores de qui-quadrado para estatura de planta, índice de centro branco e teor de amilose avaliadas em quatro ambientes.....	53
2.6. Variância aditiva, variância fenotípica e herdabilidade no sentido restrito para as características fenotípicas da população de LR, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, no estado do Rio Grande do Sul, através da análise conjunta dos três ambientes.....	55
2.7. Correlações fenotípicas, ambientais e genotípicas entre rendimento de grãos e demais variáveis avaliadas.....	56

2.8. Estimativa dos ganhos esperados pela seleção direta no rendimento de grãos e esterilidade de espiguetas e indireta nos demais caracteres, e baseada no índice clássico de seleção, expressas em valor (Gs) e em porcentagem da média (Gs %), referentes aos caracteres rendimento de grãos, ciclo até a floração, estatura de planta, esterilidade de espiguetas, número de grãos por panícula, índice de centro branco nos grãos e teor de amilose nos grãos, empregando-se a intensidade de seleção de 14%.....	58
3.1. Esquema da análise de variância dos modelos inteiramente casualizado e em blocos ao acaso.....	70
3.2. Análise de variância para os caracteres redução no comprimento do coleóptilo, sobrevivência de plantas e redução na fertilidade de espiguetas avaliados sob condições controladas e tolerância no estágio vegetativo no campo.....	73
3.3. Estimativas dos parâmetros genéticos de 71 linhagens recombinantes para os caracteres redução no comprimento do coleóptilo, sobrevivência de plantas e redução na fertilidade de espiguetas avaliados sob condições controladas e tolerância no estágio vegetativo no campo.....	73
3.4. Valores de qui-quadrado para os caracteres sobrevivência de plantas e redução na fertilidade de espiguetas avaliados sob condição de temperatura controlada.....	77
3.5. Coeficientes de correlações fenotípicas, genotípicas e ambientais entre os caracteres redução no comprimento do coleóptilo, sobrevivência de plantas e redução na fertilidade de espiguetas, avaliados na população de linhagens recombinantes.....	79

## RELAÇÃO DE FIGURAS

	<b>Página</b>
1.1. Porcentagem de genótipos das subespécies índica e japônica em cada classe de porcentagem de redução no crescimento do coleóptilo.....	24
1.2. Dendrograma de 41 genótipos de arroz irrigado para os dados de 16 marcadores de microssatélites.....	27
2.1. Distribuições de freqüência para Rendimento de grãos dos genótipos IRGA 417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06.....	45
2.2. Relação entre rendimento de grãos e esterilidade de espiguetas de 71 linhagens recombinantes na safra 2004/2005.....	46
2.3. Distribuições de freqüência para estatura dos genótipos IRGA 417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06.....	48
2.4. Distribuições de freqüência para ciclo até a floração dos genótipos IRGA 417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06.....	48
2.5. Distribuições de freqüência para porcentagem de esterilidade dos genótipos IRGA 417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06.....	49
2.6. Distribuições de freqüência para grãos por panícula dos genótipos IRGA 417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safra 2004/05.....	50
2.7. Distribuições de freqüência para índice de centro branco dos genótipos IRGA 417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06.....	51
2.8. Distribuições de freqüência para teor de amilose dos genótipos IRGA	

417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safra 2004/05.....	52
3.1. Distribuições de freqüência para os caracteres redução no comprimento do coleóptilo, sobrevivência de plantas e redução na fertilidade de espiguetas dos genótipos IRGA 417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes.....	75
3.2. Distribuição de freqüência para o caráter tolerância ao frio no estágio vegetativo a campo, (escala 0-9) dos genótipos IRGA 417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes.....	76

## INTRODUÇÃO GERAL

No Brasil, há uma grande área plantada com a cultura do arroz, a qual abrange tanto o sistema de cultivo irrigado, principalmente nos estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina, quanto o de terras altas nos estados do Centro-Oeste. Embora a obtenção de produtividades crescentes nos últimos anos, em ambos sistemas, estas não tem sido suficientes para suprir a demanda por este tipo de alimento.

A cultura do arroz irrigado é de grande importância para a economia do estado do Rio Grande do Sul (RS). Na safra agrícola 2005/06 foram cultivados 1.031.000 ha, onde foram obtidas 6.886.091 t, com rendimento médio de 6.679 kg ha<sup>-1</sup>, representando cerca de 50 % da produção brasileira (IRGA, 2006a). A cadeia produtiva do arroz no RS envolve grande número de produtores (cerca de 12.000), industriais e comerciantes de pequeno, médio e grande porte, dedicados exclusivamente a esta cultura (IRGA, 2006b).

No Estado, a maioria das cultivares utilizadas possui origem comum, proveniente de cruzamentos entre genitores de constituição genética semelhante, tornando o cultivo do arroz potencialmente vulnerável a estresses bióticos e abióticos, além de colocar em risco a estabilidade da produção. Entre os principais limitantes das cultivares utilizadas no RS estão a suscetibilidade à brusone (*Magnaporthe grisea*), a toxidez pelo excesso de ferro solúvel no solo, a sensibilidade a baixas temperaturas nos estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo e a suscetibilidade ao acamamento no sistema de cultivo pré-germinado.

As regiões do Litoral Sul e Campanha do RS, caracterizadas pela dependência de poucas alternativas econômicas, têm no cultivo do arroz um dos seus principais produtos. Considerando-se que nestas regiões são

cultivados anualmente cerca de 345.000 ha, ou em torno de 33% da área cultivada com arroz no Estado e a ocorrência de baixas temperaturas é um dos principais limitantes, evidencia-se a abrangência do problema tanto para o Estado como para a região (IRGA 2006b).

A escolha dos genitores é uma das primeiras etapas de um programa de melhoramento. Nesta etapa, encontra-se uma das principais limitações relacionadas à tolerância ao frio, pois os alelos para este caráter, em geral, estão presentes em genótipos não adaptados, com baixo potencial produtivo, suscetíveis às principais moléstias e com características físicas e de cocção dos grãos indesejáveis para o mercado consumidor brasileiro.

Além disso, a avaliação das fontes de tolerância ao frio e do material segregante é outra limitação, pois a campo, a ocorrência de baixas temperaturas é de difícil previsão, tanto em tempo quanto em intensidade e, em condições controladas os testes muitas vezes não conseguem imitar exatamente as condições naturais.

Por isso, a importância do estudo da variabilidade envolvendo os principais genitores usados como fontes para adaptação, constituídos principalmente de cultivares locais, e fontes para a tolerância ao frio provenientes de introduções, procurando estabelecer grupos similares geneticamente, e desta forma auxiliar na escolha dos mesmos.

Da mesma forma, o estudo de caracteres adaptativos e de qualidade de grãos em uma população desenvolvida a partir do cruzamento entre um genitor adaptado e um genitor com tolerância ao frio, baseado em avaliações de campo e sob condições de temperatura controlada, é de relevância para os programas de melhoramento genético da cultura do arroz.

Este trabalho teve os seguintes objetivos gerais:

- avaliar genitores potenciais para tolerância ao frio nos estádios de germinação e vegetativo e estudar a divergência genética entre os mesmos através de marcadores moleculares (Capítulo I);
- determinar parâmetros genéticos para as características agrônômicas estatura, ciclo, rendimento de grãos, esterilidade de espiguetas, número de grãos por panícula e de qualidade dos grãos, como centro branco e teor de amilose, em uma população de linhagens recombinantes ( $F_{6,7}$ ) desenvolvida a partir do cruzamento IRGA 417 x Quilla 64117 (índica x japônica) (Capítulo II);



- estudar a herança e herdabilidade da tolerância ao frio na população de linhagens recombinantes nos estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo (Capítulo III).

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA GERAL

### Origem e classificação botânica do arroz

O arroz é uma monocotiledônea da família *Poaceae* (*Gramineae*), subfamília *Pooideae*, tribo *Oryzae* e gênero *Oryza*. A adaptação às condições aquáticas ou de inundação parece ter sido o principal fator na evolução de *Oryzae*, uma tribo isolada de gramíneas com cerca de quatorze gêneros (Chandraratna, 1964).

O gênero *Oryza* apresenta 22 espécies (Chang, 1996), entre as quais destacam-se as duas espécies de arroz cultivado, *Oryza sativa* L. (arroz asiático) e *Oryza glaberrima* Steud (arroz africano), as quais pertencem a um grupo de espécies chamado complexo *Oryza sativa*, junto com cinco espécies silvestres, *O. rufipogon*, *O. longistaminata*, *O. barthii*, *O. glumaepatula* e *O. meridionalis*. Este complexo foi primeiramente definido como espécies diplóides tendo o genoma A em comum. Destas, somente *O. rufipogon* produz híbridos F1 férteis com *O. sativa* e, portanto, são consideradas como pertencentes a uma única espécie biológica. As evidências sugerem que *O. rufipogon* é o ancestral de *O. sativa* e *O. barthii* é o ancestral do arroz africano *O. glaberrima* (Morishima, 2001). *O. sativa*, *O. glaberrima* e seus aparentados silvestres são diplóides ( $2n=24$ ), constituídos pelo genoma AA, enquanto sete espécies silvestres são tetraplóides ( $2n=48$ ) (Chang, 1996).

Segundo Morishima (2001), o arroz tem dois pools gênicos primários correspondentes a *O. sativa* e *O. glaberrima*, que contém as linhagens cultivadas e seus aparentados silvestres e daninhos. Dentro do pool gênico primário de *O. sativa*, quatro direções de diferenciação são reconhecidas: (1) diferenciação dos tipos silvestres para os cultivados, (2) diferenciação dos tipos perenes para os anuais dentro das raças silvestres, (3) diferenciação geográfica nas raças silvestres e (4) diferenciação varietal em relação as subespécies índica e japônica. Esta diferenciação em subespécies índica e

japônica é provavelmente decorrente do processo de domesticação da espécie *Oryza sativa*, cuja origem ocorreu na Ásia.

Uma vez que se originou no sudoeste da Ásia, o seu cultivo se dispersou, sendo cultivado tanto em terras baixas e tropicais (Índia e sul da China) como em regiões de clima temperado e terras altas (Coréia e Norte da China) (Oka e Morishima, 1997).

São sugeridas três hipóteses relativas à origem da diferenciação índica – japônica. Na primeira, o arroz da subespécie índica foi desenvolvido do ancestral selvagem no sudoeste da China e o da subespécie japônica se diferenciou mais tarde a partir da subespécie índica (Ting, 1961, apud Oka e Morishima, 1997). A segunda hipótese assume que o arroz selvagem domesticado em terras baixas tornou-se a subespécie índica e aquele domesticado em terras altas tornou-se a subespécie japônica (Wang et al., 1984, apud Oka e Morishima et al., 1997). A terceira hipótese presume que as variedades japônicas se originaram na China a partir de um arroz selvagem da subespécie japônica e as variedades índicas se originaram em algum lugar fora da China, provavelmente na Índia (Chou, 1981, apud Oka e Morishima, 1997).

Esta terceira hipótese, de origem difilética, também foi proposta por Second (1985), apud Oka e Morishima (1997), que investigou variações isoenzimáticas. Apesar disso, essa é a hipótese menos aceita, sendo que a primeira hipótese é suportada pelo fato de que o arroz selvagem comum e as variedades índicas são simpátricas e produzem híbridos. No entanto, o que restringe a maior aceitação desta hipótese é que parece difícil que a subespécie índica produza a subespécie japônica uma vez estabelecida. Portanto, a hipótese mais plausível é a segunda, que sugere que os primeiros domesticados se diferenciaram em respostas às condições do habitat (Morishima, 2001), o que é compatível com a origem monofilética, também sugerida pela primeira hipótese.

### **Diferenciação entre as subespécies índica e japônica**

As subespécies índica e japônica se diferenciam por uma série de características morfológicas, fisiológicas e genéticas. Segundo Morishima, (2001), quando tipos índicas e japônicas típicos foram comparados, muitos genes e caracteres mostraram associação não casualizada com cada um para

claramente separar as duas subespécies. Entre os caracteres morfológicos mais marcantes que definem as duas subespécies destaca-se a forma do grão, sendo que, em geral, as variedades japônicas possuem grãos curtos, largos, espessos, e seção transversal arredondada e as índicas, grãos longos, estreitos e levemente planos (Chandraratna, 1964; Watanabe, 1997).

Além da forma do grão, diferenças em vários caracteres agronômicos são encontradas entre as subespécies índica e japônica. Em geral, ausência de arista, fácil debulha, cor verde claro das plantas, grande número de afilhos, hábito de crescimento mais aberto dos afilhos e sensibilidade a temperaturas baixas são caracteres encontrados em genótipos da subespécie índica. Por outro lado, presença de arista, resistência à debulha, cor verde escuro das plantas, menor número de afilhos, hábito de crescimento ereto dos afilhos e tolerância a temperaturas baixas são caracteres geralmente presentes em genótipos da subespécie japônica (Takahashi, 1984). Raças patogênicas do fungo causador da brusone (*Magnaporthe grisea*) também foram divididas em dois grupos, cada um dos quais tendeu a mostrar patogenicidade específica com cultivares das subespécies índica e japônica. Alguns locos de isoenzimas como *Acp-1*, *Cat-1*, *Pgi-1* e *Pox-2* mostraram diferenças na frequência alélica entre as subespécies índica e japônica. Estas diferenças indicaram que estas subespécies diferem em grande número de genes (Oka e Morishima, 1997).

Cultivares da subespécie índica são utilizadas extensivamente nas áreas tropicais e subtropicais, e as cultivares da subespécie japônica predominam nas regiões temperadas, porém também são utilizadas nos trópicos, principalmente em áreas de alta elevação (altitude) e em arroz de sequeiro ou de terras altas (Glaszmann e Arrau deau, 1986). Esse grupo de cultivares também é considerado como intermediário, pela afinidade com a subespécie índica e freqüentemente referido como javânica (Morinaga, 1954 apud Watanabe, 1997). Entretanto, Glaszmann (1987) classificou as cultivares de arroz em dois grandes grupos, índica e japônica, sendo este último subdividido em tropical e temperado.

Estudo realizado por Mackill (1995), com o objetivo de quantificar a diversidade genética de cultivares de arroz, classificou as cultivares índicas e japônicas em dois grupos separados. O agrupamento foi menos acentuado dentro da subespécie japônica. As japônicas tropicais (incluindo as cultivares

dos Estados Unidos de grão longo) geralmente agrupadas, mas em uma divisão não muito clara, ficaram entre os tipos tropical e temperado.

O avanço na aplicação de técnicas de biologia molecular tem auxiliado no esclarecimento da diferenciação entre as subespécies índica e japônica. Em um trabalho de caracterização fenotípica e molecular de um grupo de cultivares e linhagens locais e de cultivares introduzidas, Lopes (2002a) agrupou os genótipos nas subespécies índica e japônica, com base em apenas dois iniciadores de RAPD e um de microsátélites, mostrando a alta variabilidade a nível molecular entre as duas subespécies.

Embora seja um tema de muita controvérsia, a mais importante distinção entre as subespécies índica e japônica, segundo Chandraratna (1964), é a barreira de esterilidade que os separa. O problema da esterilidade em híbridos índica x japônica é importante para os programas de melhoramento pois, em geral, as cultivares da subespécie japônica são mais tolerantes ao frio e, por isso, são utilizadas como fonte de variabilidade para esta característica. A análise deste problema torna-se relevante pela população que está sendo utilizada no presente trabalho.

A esterilidade é comum em genótipos melhorados de arroz e tem três causas principais: temperaturas extremas, acamamento de plantas e esterilidade híbrida ou incompatibilidade genética. A esterilidade poderia causar uma perda progressiva de indivíduos recombinantes, limitando a transferência de caracteres desejáveis de cultivares da subespécie japônica para cultivares da subespécie índica (Jennings et al., 1979). As causas genéticas da esterilidade têm sido estudadas. Oka (1956), apud Sano (1997) concluiu que a esterilidade híbrida observada no arroz da Ásia foi bem explicada por um conjunto de letais gaméticos duplicados. Diferenças nos cromossomos a nível estrutural provocaria irregularidades meióticas (Kuang, 1951, apud Sano, 1997) e esterilidade do híbrido F1 (Cameron et al., 1957, apud Sano, 1997).

### **Principais limitações das cultivares de arroz irrigado no Rio Grande do Sul**

No Rio Grande do Sul (RS) a maioria das cultivares de arroz irrigado utilizadas tem origem comum e procede de cruzamentos entre genitores com constituição genética semelhante. Essa situação torna o cultivo do arroz

potencialmente vulnerável a estresses bióticos e abióticos, colocando em risco a estabilidade da produção (Carmona et al., 1996).

As principais limitações das cultivares atualmente utilizadas no RS são a suscetibilidade à brusone (*M. grisea*), principal moléstia fúngica, a toxidez causada pelo excesso de ferro solúvel no solo, a sensibilidade a baixas temperaturas nas fases de germinação, plântula e reprodutiva e suscetibilidade ao acamamento no sistema de cultivo pré-germinado. Além destas limitações, há necessidade de se manter os padrões de qualidade de cocção e industrial dos grãos e o alto potencial produtivo.

Nos últimos anos, os programas de melhoramento têm lançado várias cultivares resistentes à brusone, entretanto, o tempo de vida útil da maioria delas é de um ou de poucos anos, devido à quebra da resistência em virtude da alta variabilidade patogênica do fungo *M. grisea* (Ou, 1985). Por isso, como a brusone ocorre de forma epidêmica, principalmente em áreas protegidas de ventos, onde a irrigação é deficiente ou quando ocorre atraso na semeadura, o melhoramento para resistência durável é um dos principais objetivos no melhoramento genético de arroz.

Para desenvolver cultivares resistentes, uma das estratégias tem sido o cruzamento de diferentes fontes de resistência à *M. grisea*, constituídas, em sua maioria, por genótipos tropicais de tipo de planta melhorado procedentes do Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT e International Rice Research Institute - IRRI (Carmona et al., 1996). A mesma estratégia também tem sido utilizada para obtenção de tolerância à toxidez por ferro, sendo a avaliação realizada em viveiros especiais para cada uma destas duas características (Carmona et al., 2001).

Embora a resistência das cultivares à brusone se mantenha por poucos anos, é possível obter bons rendimentos com cultivares que apresentem um nível de resistência intermediária, empregando bom manejo da cultura e, desta forma, estender por vários anos o tempo de utilização das mesmas.

A origem tropical da maioria das cultivares utilizadas no RS confere sensibilidade a temperaturas baixas (Terres et al., 1985b) e, por isso, durante o planejamento dos cruzamentos tem sido buscada a combinação de genitores da subespécie índica, bem adaptados às condições locais, com genótipos da subespécie japônica, introduzidos do CIAT, Chile e Japão, visando gerar

materiais mais tolerantes a temperaturas baixas com potencial de adaptação para as regiões do litoral sul e campanha do Estado (Carmona et al., 1999).

Em relação ao potencial produtivo, observa-se que desde o lançamento das cultivares de porte baixo, tipo moderno ou filipino, com aceitável qualidade de grão, as mesmas elevaram os rendimentos e passaram a predominar nas lavouras do RS. Este predomínio que, na safra 2004/05, chegou a mais de 95% da área (IRGA, 2006b), pode ser justificado pelo seu desempenho, as quais possuem uma combinação de características de planta que possibilitam altos rendimentos como porte baixo, folhas curtas e eretas e alta capacidade de afilhamento. Estas características permitem adubação mais pesada e maior eficiência fotossintética, além de conferir maior plasticidade às plantas. Todo este conjunto de características é modificado quando se faz a introgressão de genes de fontes da subespécie japônica para a subespécie índica, visando a tolerância ao frio. Em geral, as populações apresentam estatura mais elevada, tipo de planta próximo ao da subespécie japônica (porte mais alto, folhas longas e decumbentes e menor capacidade de afilhamento), alta esterilidade e menor qualidade de grãos.

Quanto aos sistemas de cultivo, com o aumento da área semeada no sistema de cultivo pré-germinado, a partir dos anos 90, ficou evidenciada a necessidade de cultivares mais adaptadas ao sistema, principalmente com resistência ao acamamento, pois as cultivares até hoje lançadas no RS foram selecionadas sob o sistema convencional. Com base nisso, o programa de melhoramento do IRGA iniciou, na safra agrícola 2000/01, seleção dentro de populações F2, a partir de cruzamentos entre genitores com maior resistência de colmo, semeadas no sistema de cultivo pré-germinado, ambiente para o qual serão desenvolvidas, com objetivo de aumentar a probabilidade de obter-se cultivares mais adaptadas. Neste aspecto, a identificação de genótipos com tolerância ao frio nos estádios de germinação e de plântula possibilitaria a implantação do sistema no início do período recomendado (início de outubro) em todas as regiões do estado do Rio Grande do Sul. Com as cultivares comerciais disponíveis, em geral, nas regiões do Litoral Sul e Campanha é necessário esperar para semear as lavouras no mês de novembro, quando as temperaturas do solo e da água permitem o crescimento normal das plantas.

## **Danos causados por temperaturas baixas e genética da tolerância ao frio**

O arroz é cultivado desde o norte da China, a uma latitude de 53° N, até o sul da Austrália, a 35° S, e desde o nível do mar até altitudes acima de 2000 metros na Kashmira, entre Índia e Nepal (Yoshida, 1981). Segundo este autor, temperaturas extremas são prejudiciais ao crescimento das plantas e, em consequência, é um dos principais fatores do ambiente onde o ciclo de vida da planta pode completar-se.

Nesta ampla faixa geográfica onde o arroz é cultivado, temperaturas baixas são comuns em um ou mais estádios de desenvolvimento. Os danos mais comuns em decorrência do frio são: falhas na germinação, atraso na emergência de plântulas, redução na estatura de planta, descoloração de folhas, degeneração da ponta da panícula, exerceção incompleta da panícula, atraso na floração, alta esterilidade de espiguetas e maturação irregular de grãos (Yoshida, 1981). Entre estes danos, a alta esterilidade de espiguetas, o atraso na floração e a maturação irregular são os mais comuns em muitos países.

A fase reprodutiva, que compreende a microsporogênese e a floração, é a mais sensível a temperaturas baixas, com efeitos diretos na produtividade. Alvarado (1999) observou que a porcentagem de esterilidade de espiguetas, que normalmente varia entre 10 e 12%, pode aumentar até 60% quando a temperatura durante a floração for inferior a 20°C.

Em estudo de caracterização de um grupo de 117 cultivares usando marcadores RAPD, Mackill et al. (1997) encontraram considerável diversidade dentro das subespécies índica e japônica (tropical e temperado). Neste estudo, o grupo de cultivares da subespécie japônica temperada apresentou maior tolerância ao frio no estágio de plântula (menor clorose nos tratamentos com 9 e 13°C), maior vigor de plântula, menor atraso na floração, maior exerceção de panícula e menor debulha (menor degrane ou queda de grãos) que as cultivares índicas.

No RS, em geral as baixas temperaturas coincidem com o período reprodutivo, o de maior sensibilidade, e sintomas visuais são observados logo após a incidência do frio, como descoloração e degeneração de espiguetas. Se a ocorrência for na fase vegetativa, é observada uma clorose generalizada nas

plantas que, no entanto, podem recuperar-se com a posterior elevação da temperatura, dificultando a avaliação do dano no rendimento de grãos.

Se as temperaturas baixas ocorrerem no período reprodutivo, em geral devido à frentes frias que acontecem com maior probabilidade a partir do mês de março (Steinmetz et al., 1999), elas provocam aumento na esterilidade de espiguetas e, com isso, redução importante no rendimento de grãos. Neste caso, poucos são os registros como os da safra 1982/83, quando numa área de 8.531 ha em lavouras do Litoral Sul do RS, foram relatados prejuízos superiores a 20% na produtividade (Terres et al., 1985b).

As duas cultivares lançadas no RS com maior tolerância a frio na fase reprodutiva, IAS 12-9 Formosa (Galli et al., 1972) e BRS 130 Bojuru (Embrapa, 1997), as quais atualmente são cultivadas em pequenas áreas, possuem grãos curtos, o que de certa maneira restringe o seu uso e comercialização nas colônias japonesas de São Paulo e Rio de Janeiro, não influenciando o mercado de grãos longo fino, preferido do consumidor brasileiro.

A tolerância ao frio é a capacidade que certas cultivares apresentam de suportar a ocorrência de baixas temperaturas, sem redução importante no rendimento de grãos (Terres et al., 1985a). Manifesta-se principalmente na fase de emergência, quando as plântulas toleram temperaturas de solo ao redor de 13°C e apresentam rápida emergência, bom vigor inicial e folhas de coloração verde normal. No período reprodutivo, quando as plantas toleram temperaturas em torno de 15°C, especialmente nas fases de microsporogênese e floração, sem apresentar esterilidade superior a 15%, má exerceção de panícula e duração maior de sete dias entre o início e o fim da floração. As plantas não devem, ainda, mostrar muita variação na estatura, tanto com temperaturas baixas como em condições favoráveis de ambiente.

A capacidade de germinação sob temperatura baixa é controlada por genes dominantes e há possibilidade de ocorrência de segregação transgressiva, dependendo das cultivares genitoras do cruzamento (Sasaki, 1977, apud Takahashi, 1997). Além disso, observou-se que as ações gênicas relevantes foram as aditivas e as de dominância, que os genes dominantes foram acumulados nas cultivares com alta capacidade de germinação e que o número de genes efetivos foi ao redor de cinco.



No estágio vegetativo, a tolerância ao frio que previne a clorose em cultivares japônicas é controlada por um ou dois genes maiores (Kwak et al., 1984).

A esterilidade causada por temperaturas baixas parece estar sob controle poligênico, com os genes efetivos estando localizados nos grupos de ligação 2, 6, 9 e 11 (Sano, 1997). Trabalho semelhante realizado por Shibuya (1973), apud Sano (1997) ao avaliar a esterilidade de espiguetas sob temperaturas baixas, estimou que os genes correspondentes estavam localizados nos grupos de ligação 2 e 11.

Estudos realizados buscando verificar a correlação entre os estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo concluem que a tolerância ao frio em uma fase do ciclo não está necessariamente relacionada com a tolerância em outras (Jennings et al., 1979; Datta et al., 1983).

O grau de exerceção de panícula também é uma característica afetada pelo frio, sendo observada exerceção completa em genótipos tolerantes e incompleta em genótipos sensíveis. A base genética deste caráter é simples e depende do germoplasma estudado. No trabalho conduzido com genótipos indianos, Mahishi et al. (1991) relataram um gene dominante e, em trabalho com genótipos chilenos, Cruz (2001) observou um gene recessivo controlando o caráter.

Algumas práticas de manejo são recomendadas para tentar evitar ou reduzir os efeitos causados pelo frio, principalmente no estágio reprodutivo. Semeadura na época mais favorável, uso de cultivares de diferentes ciclos, uso de cultivares precoces, elevação da lâmina da água de irrigação e aplicação de doses parceladas de nitrogênio são algumas das recomendações.

O planejamento da época de semeadura é uma das medidas importantes para assegurar que as temperaturas baixas não ocorram durante os estádios de maior sensibilidade das plantas, microsporogênese e floração, o que poderia provocar aumento na esterilidade de espiguetas. No RS é importante que a semeadura seja realizada no início do período recomendado (início de outubro) para que os estádios vegetativo e reprodutivo ocorram nos meses de maior disponibilidade de radiação solar correspondentes a dezembro e janeiro e, desta forma, o estágio reprodutivo também se desenvolva em um

período de menor risco de ocorrência de temperaturas prejudiciais (Steinmetz et al., 1999).

A recomendação de uso de cultivares precoces é uma maneira de escape do frio que ocorre no final do ciclo ou, segundo Nishiyama (1997), combinar cultivares de arroz de diferentes ciclos para dispersar os possíveis danos.

Elevar o nível da lâmina de água de irrigação com objetivo de proteger o desenvolvimento da panícula é o principal método de manejo usado na Austrália (Lacy et al., 2000; Oliver, 2004). É baseado no princípio de que quando a temperatura do ar está baixa o suficiente para causar danos às plantas de arroz, a temperatura da água de irrigação é geralmente superior, atuando como efeito tampão em relação ao ar frio e reduzindo a esterilidade (Williams e Angus 1994). Contudo, este método não é totalmente efetivo e não é a solução do problema, principalmente pelo aumento das restrições ao uso e consumo de água pela cultura. A vantagem deste método é que o tratamento requer somente um curto período de tempo. No entanto, é difícil o suprimento de uma lâmina de água de 15 a 20 cm em curto espaço de tempo em uma grande área de cultivo (Nishiyama, 1997).

Outro aspecto importante relaciona-se ao manejo da adubação nitrogenada. Aplicações de altas doses de nitrogênio (N) antes e durante o estágio crítico de desenvolvimento do pólen agrava o efeito do dano pelo frio, aumentando a porcentagem de esterilidade de espiguetas após a exposição ao frio (Heenan, 1984; Williams e Angus, 1994). A razão desta interação não é bem conhecida. Aplicações de N aumentam o crescimento vegetativo e atrasam a floração, o que pode aumentar a sensibilidade ao dano pelo frio, por possibilitar que a panícula imatura atrase seu crescimento e, conseqüentemente, seja exposta ao frio durante o estágio crítico de desenvolvimento do pólen (Heenan 1984). O maior crescimento vegetativo e o aumento da estatura da planta como resultado da aplicação de N pode também reduzir o efeito tampão da elevação do nível da água de irrigação (Heenan 1984), porém o uso de lâmina de água elevada em cultivo com altas doses de N reduz o efeito do frio (Williams e Angus 1994). Portanto, com a incorporação de tolerância ao frio nas cultivares do RS seria possível também aumentar a aplicação de N para incrementar os rendimentos de grãos.

A tolerância ao frio é considerada um dos objetivos principais dos programas de melhoramento do RS devido aos prejuízos que ocorrem quase que anualmente devido às baixas temperaturas durante os períodos críticos da cultura. Apesar disso, a partir do início do uso das cultivares do tipo moderno, de origem tropical, pouco avanço tem sido obtido, devido a menor disponibilidade de fontes de tolerância dentro da subespécie índica e à dificuldade de obtenção de recombinantes em cruzamentos com genótipos da subespécie japônica. Além disso, a falta de métodos adequados de avaliação para identificar genótipos superiores também contribuiu para o pequeno êxito obtido nesta área.

Desde a safra 1993/94, o Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA) iniciou atividades na subestação de Santa Vitória do Palmar, região mais fria do estado do Rio Grande do Sul, visando a avaliação de linhagens, a identificação de fontes de tolerância ao frio e a seleção em gerações segregantes. Entretanto, como as principais fontes de tolerância são da subespécie japônica, de má qualidade de grãos e altamente suscetíveis à brusone, pouco se tem avançado no sentido de obter genótipos que combinem tolerância ao frio e tipo adequado de planta. Além disso, a pouca previsibilidade do período e da intensidade de ocorrência de baixas temperaturas suscita dúvidas se os genótipos selecionados apresentam de fato tolerância ao frio ou se são apenas escapes.

Outra limitação importante no desenvolvimento de genótipos tolerantes ao frio é a carência de métodos que facilitem a identificação de indivíduos recombinantes de interesse após a realização dos cruzamentos. Mejia (1988) realizou trabalho com objetivo de identificar metodologias simples para reconhecimento de genótipos com tolerância a temperaturas baixas no estágio de germinação a partir de semente seca e pré-germinada e no estágio de plântula. Mais recentemente, Cruz (2001) realizou trabalho visando estabelecer metodologia de avaliação sob condições controladas de temperatura e caracterizar a variabilidade do banco de germoplasma do IRGA.

Nos últimos anos, o programa de melhoramento do IRGA vem trabalhando com objetivo de obter genótipos com maior tolerância nos períodos iniciais da fase vegetativa, ou seja, nos estádios de germinação e de plântula, visando possibilitar a antecipação da semeadura nas regiões do Litoral Sul e

Campanha. Isso permitiria que os estádios vegetativo e reprodutivo coincidissem com o período de maior disponibilidade de radiação solar, que ocorre nos meses de dezembro e janeiro. Além disso, possibilitaria que a fase reprodutiva, de maior sensibilidade a temperaturas baixas, coincidisse com períodos com menor risco de ocorrência de temperaturas prejudiciais ao arroz no final de janeiro (Steinmetz et al., 1999).

Nesse processo de desenvolvimento de genótipos tolerantes ao frio, os caracteres estatura de planta, índice de centro branco e teor de amilose também são de grande importância agrônômica, pois além de estarem associados com rendimento de grãos (estatura), determinam a aceitabilidade pelo consumidor, pelo aspecto visual do grão polido (índice de centro branco) ou pela característica de cocção (teor de amilose).

Um dos avanços mais significativos do melhoramento de arroz foi a descoberta da importância e utilidade das cultivares chinesas de porte baixo Dee-geo-woo-gen (DGWG), I-geo-tze (IGT) e Taichung Native 1 (TN1). Todas essas e outras menos conhecidas carregam o mesmo gene recessivo maior (*sd1*) para colmos curtos. Utilizando como fonte principalmente DGWG o gene *sd1* foi transferido para as cultivares tropicais pelo programa do IRRI (International Rice Research Institute). (Jennings et al., 1979; Rutger e Mackill, 2001). O porte baixo, ou semi-anão, tornou-se um dos caracteres mais importantes agronomicamente, por estar associado com a alta resposta à adubação nitrogenada, resistência ao acamamento e ao tipo de planta que se caracteriza por maior interceptação de luz (folhas eretas) e maior índice de colheita e, portanto, contribui para aumentar o potencial de rendimento de grãos (Kikuchi e Futsuhara, 1997). A herdabilidade do porte semi-anão é alta e fácil de identificar, selecionar e recombinar com outros caracteres (Jennings et al., 1979).

Quanto ao aspecto do grão polido, a presença ou o índice de centro branco não é de herança altamente complexa (Jennings et al., 1979). Kamijima (1997) relata distribuição de frequência contínua em plantas de populações  $F_2$ , e que a média de cada  $F_2$  foi mais baixa que a média dos parentais, indicando a participação de vários locos e recessividade parcial na ação gênica da ocorrência de centro branco. Nessas populações  $F_2$  a herdabilidade estimada variou de 0,533 até 0,897. Contudo, a herdabilidade deste caráter é baixa, além

de ser influenciado pela temperatura após a floração, sendo que altas temperaturas aumentam o teor branco e baixas temperaturas diminuem ou eliminam o mesmo (Jennings et al., 1979).

Estudos genéticos mostram que o teor de amilose é controlado por um gene maior, mas também é influenciado pelo efeito de dosagem do gene e por modificadores de menor efeito (McKenzie e Rutger, 1983; Kumar e Khush, 1987). Além disso, o teor de amilose pode sofrer influência ambiental, principalmente pela temperatura durante o período de maturação dos grãos. Um genótipo pode variar até seis pontos percentuais de uma safra para outra, sendo que altas temperaturas reduzem o teor de amilose e baixas aumentam o mesmo (Jennings et al., 1979; Guimarães, 1989; Landers, 1991).

## **CAPÍTULO I**

### **ANÁLISE DA DIVERSIDADE GENÉTICA DE GENITORES E CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE GENÓTIPOS DE ARROZ IRRIGADO PARA TOLERÂNCIA AO FRIO NOS ESTÁDIOS DE GERMINAÇÃO E VEGETATIVO AVALIADA SOB TEMPERATURA CONTROLADA**

#### **1.1. INTRODUÇÃO**

Do ponto de vista genético, o melhoramento e a evolução de plantas silvestres ou cultivadas têm muitas características em comum, requerem variabilidade, algum tipo de seleção e algum grau ou forma de isolamento para preservar as características dos tipos que surgem (Briggs & Knowles, 1977). Portanto, a identificação de fontes de variabilidade, a qual é a base de todo o melhoramento de plantas (Federizzi, 1998), é de fundamental importância para que haja progresso no melhoramento de características agronômicas de interesse.

A seleção de genitores com fontes de alelos para tolerância ao frio é uma das principais etapas de um programa de melhoramento, que vise tanto o desenvolvimento de germoplasma quanto o lançamento de cultivares. O caráter tolerância ao frio é de difícil avaliação a campo, pois nem sempre a ocorrência de baixas temperaturas coincide com as fases de maior sensibilidade das plantas. Por isso, é importante o uso de metodologias de avaliação que, direta ou indiretamente, estejam correlacionadas com tolerância a campo.

Em estudos de caracterização de um grupo de 117 cultivares, usando marcadores RAPD, Mackill et al. (1997) encontraram considerável diversidade dentro das subespécies índica e japônica (tropical e temperado). O grupo de cultivares da subespécie japônica temperada apresentou maior tolerância ao frio no estágio de plântula, maior vigor de plântula, menor atraso na floração,

melhor exerceção de panícula e menor debilidade que as cultivares da subespécie índica.

Em trabalhos similares visando: a) caracterizar a reação ao frio e a variabilidade molecular de genótipos de arroz com marcadores RAPD (Cruz, 2001); b) caracterizar fenotípica e molecularmente genótipos do banco de germoplasma do IRGA com marcadores RAPD e microssatélite (Lopes, 2002a); e c) estudar a divergência genética entre os genitores de uma população de seleção recorrente com marcadores microssatélite (Lopes, 2002b), foi observado elevado polimorfismo molecular entre os genótipos estudados, sendo possível separar claramente os genótipos das subespécies índica e japonesa.

Como os genótipos pertencentes à subespécie índica são menos adaptados a baixas temperaturas, é necessário o cruzamento destas com genótipos da subespécie japonesa, visando melhorar a tolerância ao frio das cultivares índicas.

O germoplasma de origem japonesa, utilizado como fonte de tolerância ao frio, apresenta várias características indesejáveis, como porte mais alto, folhas decumbentes, suscetibilidade ou sensibilidade aos principais estresses bióticos e abióticos e características físicas e químicas dos grãos (grãos curtos ou longos, má aparência após o polimento e pegajosos após o cozimento) não aceitáveis pelo mercado consumidor (Sasaki, 1997; Carmona et al., 1999). Entre as fontes de tolerância ao frio, é importante identificar quais as que possibilitam melhores combinações, tornando menos trabalhoso o processo de transferência dos genes de tolerância e a recuperação completa dos caracteres de importância agrônoma nos genótipos melhorados. Nesse aspecto, a caracterização de germoplasma baseada em métodos moleculares tem tido grande desenvolvimento, revolucionando a velocidade e a qualidade de caracterização de germoplasma em larga escala e oferecendo oportunidades para aumentar o uso de recursos genéticos mantidos em bancos de germoplasma (Ferreira, 2005).

Os objetivos deste trabalho foram: (1) avaliar genitores potenciais para tolerância ao frio nos estágios de germinação e vegetativo e (2) estudar a divergência genética entre os mesmos através de marcadores moleculares.

## 1.2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho compreendeu a avaliação de 41 genótipos do banco de germoplasma do Instituto Rio Grandense do Arroz – IRGA quanto à tolerância ao frio nos estádios de germinação e vegetativo sob condição de temperatura controlada. Os trabalhos foram realizados na Estação Experimental do Arroz, em Cachoeirinha, conforme metodologias descritas por Mejia (1988) e Cruz (2001). A genotipagem foi realizada utilizando dezesseis marcadores microssatélites marcados com fluorocromos, através de painéis (sistemas multiplex) desenvolvidos por Beló (2001) e Pessoa Filho (2004), no Centro Nacional de Recursos Genéticos - CENARGEN, da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), em Brasília.

### 1.2.1. Avaliação no estágio de germinação

Neste experimento, as sementes dos genótipos foram colocadas em papel germinador plissado, dispendo-se em cada dobra do papel dez sementes, tomando-se o cuidado de colocá-las com o lado onde se encontra o embrião voltado para cima. A seguir, o papel germinador foi umedecido com solução do fungicida Triadimenol (Baytan SC<sup>®</sup>) na concentração de 1% para evitar contaminação. O papel germinador plissado foi mantido em uma bandeja com tampa durante todo o período dentro da BOD e a temperatura utilizada foi de 13°C por 20 dias. Após este período, as sementes foram avaliadas quanto ao comprimento do coleóptilo, que corresponde ao estágio de crescimento S0 (S0 a S3) (Counce et al., 2000). O experimento foi conduzido no delineamento completamente casualizado com duas repetições, sendo a média das dez sementes em cada dobra do papel considerada uma repetição. Ao mesmo tempo, outras 20 sementes de cada genótipo, com duas repetições de dez sementes, foram colocadas para germinar sob temperatura de 28°C (controle) e, após sete dias, os coleóptilos foram medidos. A tolerância ao frio neste estágio foi calculada pela porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pela germinação à baixa temperatura em relação à germinação na temperatura de 28°C (controle).

### 1.2.2. Avaliação no estágio vegetativo



Inicialmente os genótipos foram colocados para germinação sob temperatura de 28°C. As sementes foram colocadas em papel germinador plissado umedecido com solução fungicida (Triadimenol 1%) para evitar contaminação. Após 5 a 6 dias em câmara de germinação, quando as plântulas atingiram cerca de 3 a 4 cm, as mesmas foram transplantadas para bandejas de células alveoladas contendo solo, sendo colocada uma planta por célula. O experimento foi conduzido no delineamento de blocos casualizados, com duas repetições, sendo cada parcela composta por cinco plantas. Após o transplante, as bandejas contendo os genótipos foram mantidas em casa de vegetação com temperatura de 28°C até que as plantas atingissem o estágio de crescimento V3 (Counce et al., 2000). Neste estágio, os genótipos foram levados para câmara de crescimento e submetidos à temperatura de 10°C por 10 dias no escuro. Após este período, as plantas foram colocadas novamente em casa de vegetação à 28°C por sete dias e, a seguir, avaliou-se a sua porcentagem de sobrevivência, através da contagem do número de plantas que sobreviveram.

### 1.2.3. Análise de diversidade genética

#### 1.2.3.1. Extração de DNA

Cerca de 150 mg de folhas de, pelo menos três indivíduos de cada acesso, foram utilizadas para extração de DNA baseada no protocolo CTAB (Ferreira e Grattapaglia, 1998). As folhas foram acondicionadas em tubos de eppendorf de 1,5 mL entre as “beads” para trituração em máquina, com adição de 700 µL de tampão de extração pré-aquecido (2% acetyldimethyl tiethylammonium bromide – CTAB, 1,4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCL pH = 8,0, 1% polyvinylpyrrolidone, 1% 2-mercaptoethanol). A solução foi incubada por 40 min a 60°C com agitação ocasional. Então, em cada amostra foram adicionados 600 µL de clorofórmio: álcool isoamílico (24:1), utilizando em seguida a centrifugação a 11.000 rpm durante 10 min. A fase aquosa foi transferida para um novo tubo, sendo o DNA precipitado com 600 µL de isopropanol frio. A solução foi incubada a -20 °C durante 30 min e feita uma centrifugação a 11.000 rpm durante 15 min. Foram obtidos “pellet” de DNA, descartando-se o sobrenadante. O “pellet” foi lavado num processo de duas etapas utilizando 1 mL de etanol frio a 70 %. O processo de secagem do

“pellet” foi feito durante a noite em temperatura ambiente. O “pellet” foi então eluído com 50 µL de tampão TE (10 mM Tris-HCl, pH = 8,0, 1 mM EDTA) contendo RNase (10 µg/mL) e mantido à temperatura ambiente por 3 h para ocorrer a eluição. A concentração de DNA foi estimada em eletroforese de gel de agarose 1% utilizando 200 ng de λ DNA (GibcoBRL) como padrão. O DNA foi diluído em tampão TE para a concentração final de 2 ng/µL. O resultado da quantificação foi de 200 ng de DNA/µL de cada amostra.

#### 1.2.3.2. Genotipagem utilizando marcadores moleculares

Três painéis múltiplos compostos de dezesseis marcadores microssatélites marcados com fluorocromos, desenvolvidos por Beló (2001) e Pessoa Filho (2004), foram utilizados neste estudo (Tabela 1.1). Amplificações simultâneas por PCR foram realizadas num volume final de 15 µL contendo 6 ng de DNA genômico, 0,4 mM de cada dNTP, 0,2 % µg/µL BSA, 3 mM MgCl<sub>2</sub>, e 2 U Taq DNA Polimerase (Phoneutria-Brazil). Para o painel múltiplo A, composto de cinco marcadores, as concentrações dos iniciadores foram 0,2 µM (OS19 e RM248) e 0,13 µM (RM252, RM224 e OG44); para o painel múltiplo B, composto de quatro marcadores, as concentrações dos “primers” foram 0,13 µM (OG81), 0,2 µM (OG106), 0,23 µM (OG61) e 0,1 µM (RM263) e para o painel C, composto de quatro marcadores, as concentrações dos “primers” foram 0,13 µM (RM335, RM420, RM259 e RM475). A eletroforese do loco RM 7504 foi realizada individualmente e a dos locos RM235 e RM247 em sistema duplex. Para esses três locos, as reações foram preparadas com um volume total de 6 µL. As reações foram realizadas em um termociclador GeneAmp 9600 (Perkin-Elmer) utilizando o seguinte programa de amplificação: (i) um “hot start” de 94°C durante 5 min, (ii) 30 ciclos de amplificação distribuídos em 1 min a 94°C, 1 min a 52°C e 2 min a 72°C e (iii) uma etapa de extensão final de 7 min a 72°C. Uma alíquota de 3 µL de produto amplificado foi misturada com 3 µL de tampão de carregamento (98% formamida, 10 mM EDTA-blue dextran) e 2 µL de um padrão de tamanho conhecido (Brondani e Grattapaglia, 2001), seguido de desnaturação a 95°C durante 5 min. Um total de 1,5 µL da amostra foi carregado em géis de poliacrilamida “Long Ranger” a 4 % em tampão TBE 1X durante 2,5 horas com potência constante de 30 W num seqüenciador automático de DNA ABI Prism 377 (Applied Biosystems).

TABELA 1.1. Locos de microssatélites utilizados na análise dos 41 genótipos do banco de germoplasma do IRGA, seqüência dos iniciadores, fluorocromo, cor, tamanho dos alelos (TAM), localização cromossômica (CRM) e seqüência amplificada. UFRGS, 2006.

Loco	Seqüência dos iniciadores <sup>1</sup>	Fluoro-cromo	Cor	TAM (pb) <sup>2</sup>	CRM	Seqüência
RM252	F5'TTCGCTGACGTGATAGGTTG3' R5'ATGACTTGATCCCGAGAACG3'	TET	Verde	194-274	4	(ag)n
RM224	F5'ATCGATCGATCTTCACGAGG3' R5'TGCTATAAAAGGCATTCCGGG3'	TET	Verde	124-162	11	(aag)8(ag)13g(ag)
OG44	F5'ACACCAGCTCAGCTCATC3' R5'TGTCCAGGTAGTACAAGCTC3'	6-FAM	Azul	152-172	3	(aag)8(ag)22(gt)(gc)6
RM248	F5'TCCTTGTAATCTGGTCCC3' R5'GTAGCCTAGCATGGTGCATG3'	6-FAM	Azul	72-108	7	(ag)n
OS19	F5'GCTACAAATAGCCACCCACACC3' R5'CAACACAAGCAGAGAAGTGAAGC3'	HEX	Amarelo	174-198	6	(ag)n
OG106	F5'GGCCGTGTCACCATCTTCTCTA3' R5'GGGGATCTGACATGGCATATGA3'	TET	Verde	178-254	9	(ag)27
OG81	F5'GTGCAATGGACCATGGACCACCGATCT3' R5'GGCAACCGGAGATTATGGAT3'	6-FAM	Azul	71-89	1	(ag)n
RM263	F5'CCCAGGCTAGCTCATGAACC3' R5'GCTACGTTTGAGCTACCACG3'	6-FAM	Azul	147-195	2	(ag)n
OG61	F5'GCATGCTGATGACTGAAGG3' R5'GAAACGAACGGATGGACA3'	HEX	Amarelo	96-154	5	(ag)18
RM335	F5'GTACACACCCACATCGAGAAG3' R5'GCTCTATGCGAGTATCCATGG3'	6-FAM	Azul	104-156	4	(ct)25
RM420	F5'GGACAGAATGTGAAGACAGTCG3' R5'ACTAATCCACCAACGCATCC3'	6-FAM	Azul	183-201	7	(aaat)7
RM259	F5'TGGAGTTTGAGAGGAGGG3' R5'CTTGTTCATGGTGCCATGT3'	NED	Amarelo	155-176	1	(ct)17
RM475	F5'CCTCACGATTTTCTCCAAC3' R5'ACGGTGGGATTAGACTGTGC3'	NED	Amarelo	345-387	3	(attg)30
RM7504	F5'GGCTCTGTTTCTGAATTCGG3' R5'ACGTGGCAGCTTGAGAGC3'	-	-	226-252	-	(tatc)11
RM235	F5'AGAAGCTAGGGCTAACGAAC3' R5'TCACCTGGTCAGCCTCTTTC3'	-	-	86-134	12	(ct)24
RM247	F5'TAGTGCCGATCGATGTAACG3' R5'CATATGGTTTTGACAAAGCG3'	-	-	135-167	-	(ct)16

<sup>1</sup>F = forward; R = reverse; - dado não disponível; <sup>2</sup>Tamanho esperado do alelo, em pares de bases, de acordo com Pessoa Filho (2004). Fontes: Chen et al., 1997; Brondani et al., 2001.

### 1.2.3.3. Análise dos dados

A determinação do tamanho dos fragmentos microssatélites foi realizada utilizando o programa GeneScan versão 3.1.2. (Applied Biosystems). Os tamanhos dos alelos amplificados foram determinados utilizando o programa Genotyper versão 2.5.2 (Applied Biosystems) baseado nos tamanhos dos fragmentos padrão internos em cada pista do gel. A chamada dos alelos foi realizada por arredondamento dos valores atribuídos aos genótipos para valores próximos do número de pares de bases inteiro para resultar numa estimativa de par de bases para cada alelo. Como a maioria dos locos utilizados neste estudo possui repetições dinucleotídicas, algumas vezes o processo de chamada resultou em valores intermediários para os alelos indicados. Uma correção foi efetuada de tal forma que todos os valores seguissem o tamanho esperado para locos com motivo dinucleotídeo. Para esse fim, o fragmento alélico mais freqüente de cada loco foi considerado como referência para os valores esperados dos outros alelos no loco marcador.

#### 1.2.3.4. Análise estatística

A similaridade genética entre cada par de genótipos, com base nos marcadores microssatélites, foi feita pelo coeficiente de Jaccard utilizando-se o módulo SIMQUAL do pacote estatístico NT-SYS PC (Rohlf, 2000). O dendrograma dos genótipos foi realizado com base na matriz de similaridade com os coeficientes de Jaccard, através do critério de análise UPGMA (*Unweighthed Pair-Group Method, Arithmetic Average*) e da função de SAHN, ambos utilizando também o programa NT-SYS PC.

### 1.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tolerância ao frio no estágio de germinação foi avaliada pela porcentagem de redução no crescimento do coleóptilo dos genótipos germinados à baixa temperatura em relação ao controle (Tabela 1.2). Genótipos com menor porcentagem de redução no crescimento são os mais tolerantes ao frio, sendo portanto de interesse para uso em cruzamentos. Houve ampla variação para tolerância ao frio no período de germinação, desde 9,8% de redução do coleóptilo no genótipo tolerante Akitakomachi até 79,8%

TABELA 1.2. Porcentagem de redução no crescimento do coleóptilo e de sobrevivência das plântulas de 41 genótipos de arroz irrigado do banco de germoplasma do IRGA, avaliados sob condição de temperatura controlada. UFRGS, 2006.

Genótipo	Redução comp. coleóptilo (%)	Sobrevivência (%)
<b>a. Subespécie japônica</b>		
AKITAKOMACHI	9,8	100
CT6748-F2-CA-47	9,9	100
ALAN	12,4	100
CALORO	13,3	100
QUILLA 66304	18,4	100
MERCURY	22,2	100
CT6743-5-8-3	24,6	100
EEA 406	25,0	100
EEA 406 (Baixo e liso)	25,0	100
EEA 401	25,5	100
CINIA 900	26,8	100
CT6742-10-10-1-M-M-M	27,6	100
BLUEBELLE	29,5	100
DAWN	30,1	100
EEA 304	31,6	100
MARAVILHA	33,0	100
CYPRESS	34,9	100
EEA 404	36,3	100
EEA 301	37,8	100
QUILLA 64117	38,1	100
DIAMANTE	40,1	100
CINIA 789	40,8	100
EEA 201	40,8	100
EEA 405	43,1	100
EL PASO 227	45,0	100
INIA TACUARI	51,6	100
CINIA 937	52,1	100
CT10693-C1-4-1F-1-1	73,5	100
<b>Média</b>	<b>32,1</b>	<b>100</b>
<b>b. Subespécie índica</b>		
CICA 4	42,8	0
BRS TAIM	51,8	0
CICA 7	54,7	20
BR-IRGA 409	57,1	0
IRGA 417	62,1	0
BR-IRGA 410	62,3	0
EL PASO L 144	62,6	0
METICA 1	65,9	0
CT8008-3-5-6P-1	66,3	0
CT10992-3-4-1T-3P-2P-3	75,7	100
CICA 8	76,2	20
CT12249-3-4-1P-1P	76,5	0
CT8008-3-3-9P-1	79,8	0
<b>Média</b>	<b>64,1</b>	<b>10,8</b>

no genótipo sensível CT8008-3-39P-1, com média geral de 42,3%. Os genótipos avaliados se distribuíram de forma contínua ao longo dessa faixa mas, de forma geral, aqueles pertencentes à subespécie japônica se concentraram nas classes de menor porcentagem de redução no crescimento do coleóptilo, com média de 32,1%. Por outro lado, os genótipos da subespécie índica se situaram nas classes de maior porcentagem de redução, com média de 64,1%, mostrando portanto o dobro de redução no comprimento do coleóptilo em relação aos genótipos da subespécie japônica (Figura 1.1).

A tolerância ao frio no estágio de plântula, avaliada pela porcentagem de sobrevivência, separou os genótipos em dois grupos distintos, tolerantes e sensíveis, sendo portanto um teste eficiente para avaliação da tolerância ao frio neste estágio (Tabela 1.2). Todos os genótipos da subespécie japônica mostraram 100 % de sobrevivência. Entre genótipos da subespécie índica, a maioria apresentou zero % de sobrevivência, com exceção das cultivares CICA 7 e CICA 8 (20%) e da linhagem CT10992-3-41T-3P-2P-3 (100 %), a qual

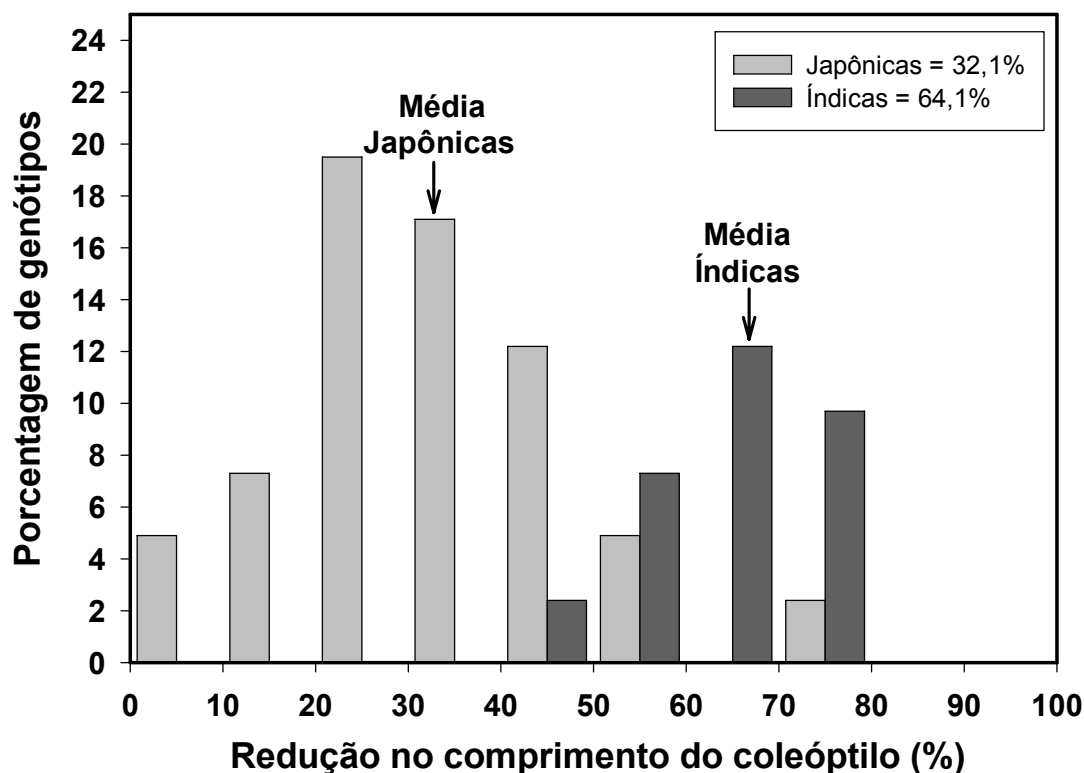


FIGURA 1.1. Porcentagem de genótipos de arroz irrigado das subespécies índica e japônica em cada classe de porcentagem de redução no crescimento do coleóptilo, avaliados sob condição de temperatura controlada. UFRGS, 2006.

embora tenha maior proporção de genitores da subespécie índica, também possui na genealogia as cultivares japônicas Lemont e IRAT 121 (CIAT, 1995).

Em trabalhos similares, Cruz (2001), Lopes (2002a) e Lopes (2002b) conseguiram separar claramente os genótipos das subespécies índica e japônica. Por sua vez, Mackill et al. (1997) encontraram grande diversidade dentro das subespécies índica e japônica (tropical e temperado) sendo que o grupo de cultivares da subespécie japônica temperada apresentou maior tolerância ao frio no estágio de plântula que as cultivares da subespécie índica.

Com os dados relativos a 16 marcadores microssatélites foi obtida uma matriz de similaridade (Tabela 1.3), a partir da qual foi realizada a análise de agrupamento dos genótipos (Figura 1.2).

A análise com marcadores microssatélites foi realizada com 16 pares de iniciadores, que amplificaram um total de 114 alelos, com média de 7,12 alelos por loco. Todos os iniciadores foram polimórficos nos genótipos estudados, sendo que o loco de microssatélite OG106 foi o mais polimórfico com 18 alelos e os menos polimórficos foram os locos RM 252 e RM 420 com quatro alelos cada. Em estudos anteriores, Lopes (2002a), Lopes (2002b) e Ni et al. (2002) encontraram, em média 5,6, 5,7 e 6,8 alelos por loco, respectivamente.

O loco RM 247 foi o que apresentou a maior capacidade de separação entre os genótipos das subespécies índica e japônica, sendo que o alelo 135 pb foi característico dos genótipos da subespécie índica e os demais alelos estavam presentes nos genótipos da subespécie japônica. Os locos OG81 e RM235 também contribuíram para separação entre os genótipos das duas subespécies.

As estimativas de similaridade genética (SG), calculada com os dados dos marcadores microssatélites, através do coeficiente de Jaccard, mostram que a média geral foi de 0,17 (Tabela 1.3). Entre os genótipos da subespécie japônica a média foi de 0,25, entre os da subespécie índica de 0,31 e entre os genótipos de ambas subespécies a média foi de somente 0,04. A amplitude de variação de similaridade genética foi de 0,00 a 1,00. As cultivares mais próximas EEA 304 e EEA 406 apresentaram similaridade de 100% (SG = 1,00).

Os genótipos foram agrupados com base nos dados dos coeficientes de similaridade genética da Tabela 1.3 e através do critério de análise UPGMA,





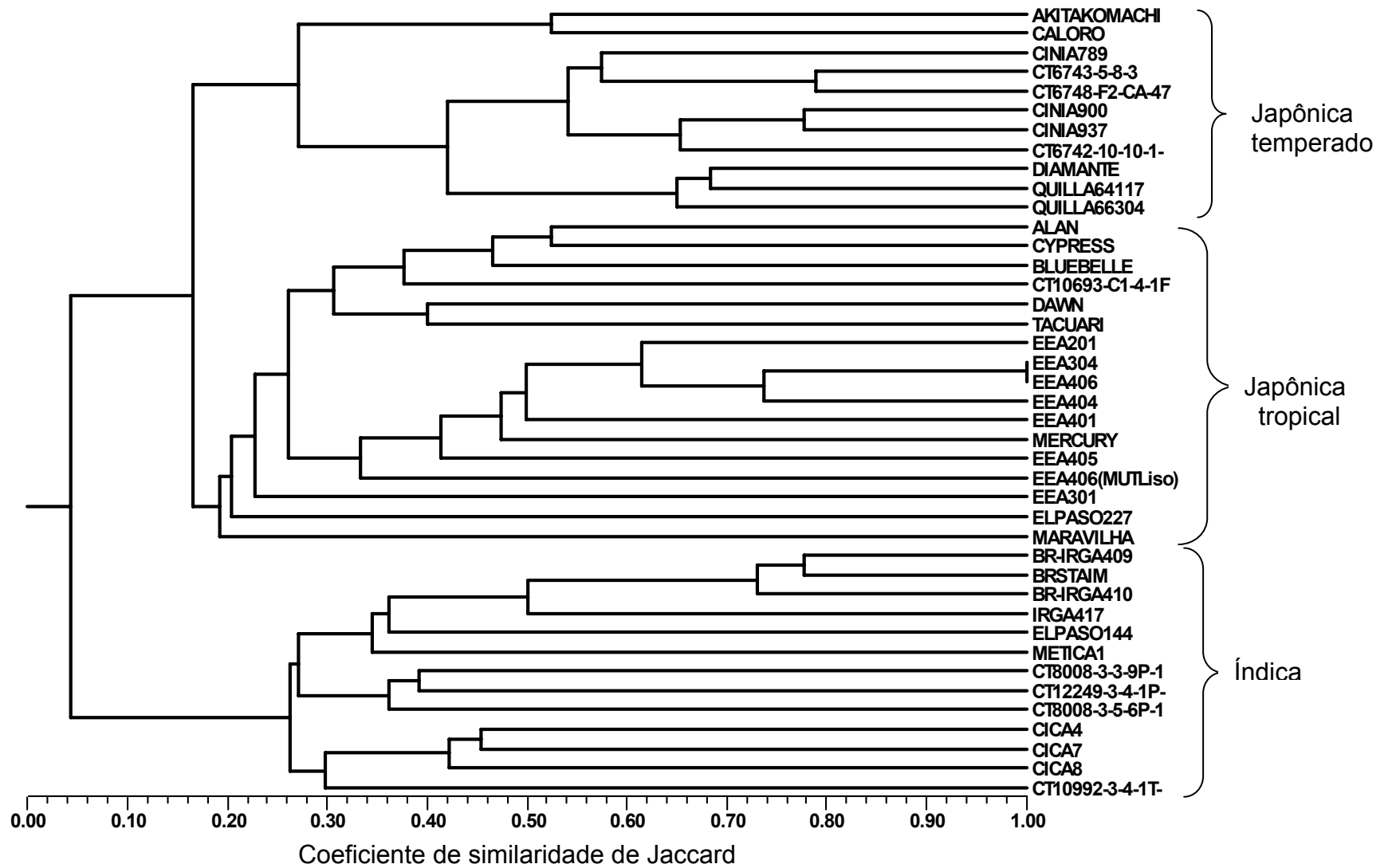


FIGURA 1.2. Dendrograma de 41 genótipos de arroz irrigado para os dados de 16 marcadores de microssatélites. UFRGS, 2006.

formando o dendrograma apresentado na Figura 1.2. Usou-se a média de similaridade genética como critério de separação dos grupos, obtendo-se três grupos claramente destacados.

O primeiro grupo foi formado por 13 genótipos pertencentes à subespécie índica, incluindo as cultivares BR-IRGA 409, BRS TAIM, BR-IRGA 410, IRGA 417 e EL PASO L 144, que atualmente estão entre as mais cultivadas no estado do Rio Grande do Sul (IRGA, 2006b). A cultivar Metica 1 é cultivada na Região Centro-Oeste do Brasil e as demais cultivares ou linhagens são provenientes do Centro de Agricultura Tropical (CIAT) da Colômbia. Dentro deste grupo, os genótipos mais próximos foram BR-IRGA 409 e BRS TAIM (SG = 0,78) e BR-IRGA 410 e BRS TAIM (SG = 0,78), embora a origem da cultivar BRS TAIM seja desconhecida, a similaridade desta com BR-IRGA 409 (SG = 0,68) foi anteriormente observada por Lopes (2002a). A proximidade entre BR-IRGA 409 e BR-IRGA 410 (SG = 0,68) pode ser devido aos genitores dos cruzamentos, pois um dos genitores é comum aos dois e os outros são duas linhagens irmãs. A cultivar IRGA 417 é originária de um cruzamento triplo (NEW REX / IR 19743-25-2-2 // BR-IRGA 409) que inclui a cultivar BR-IRGA 409 no último cruzamento, o que explica a similaridade de 0,45 em relação a BR-IRGA 409.

O segundo grupo foi formado por cultivares e linhagens japônicas desenvolvidas pelos programas de melhoramento do IRGA (EEA's), Estados Unidos (Mercury, Dawn, Bluebelle, Cypress e Alan), Uruguai (El Paso 227 e Tacuari), Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão - CNPAF/EMBRAPA (Maravilha) e CIAT (CT10693-C1-4-1F). A maior similaridade obtida (1,00) entre as cultivares EEA 304 e EEA 406 pode ser atribuída à origem de ambas, pois foram obtidas do mesmo cruzamento realizado na Estação Experimental do Arroz em Cachoeirinha entre as cultivares Zenith e Maravilha I, sendo que a cultivar EEA 304 foi lançada em 1963 e EEA 406 em 1966 (Pedroso, 1989).

O terceiro grupo, também com genótipos da subespécie japônica, foi formado por cultivares e linhagens do programa de melhoramento do Instituto de Investigaciones Agropecuarias – INIA (Chile), de linhagens CT (CIAT) e de cultivares japonesas. A similaridade neste grupo em grande parte é devido à presença da cultivar DIAMANTE como genitor da maioria dos cruzamentos que deram origem a estes genótipos, com exceção de Akitakomachi e Caloro, que

engloba cultivares da subespécie japônica de grãos curtos, sendo que a primeira é atualmente cultivada comercialmente no Japão e Caloro é uma seleção de arroz Japonês realizada na Louisiana (Estados Unidos) e introduzida no Rio Grande do Sul em 1938 (Pedroso, 1989).

O propósito da análise molecular é identificar entre os genótipos tolerantes ao frio, aqueles que geneticamente sejam mais próximos (menos contrastantes geneticamente) aos genótipos da subespécie índica adaptados, o que facilitaria a transferência dos genes de tolerância ao frio para estes.

No processo de escolha de genitores, em geral, a preferência é por genótipos do segundo grupo (subespécie japônica tropical), que inclui cultivares americanas (Alan e Cypress), do Uruguai (Inia Tacuari e El Paso 227), uma linhagem do CIAT (CT10693-C1-4-1F) e uma cultivar Brasileira de sequeiro (Maravilha). Estas já possuem, além da tolerância ao frio em um em dois estádios, vários caracteres desejáveis, como estatura baixa de planta, bom potencial produtivo, grãos longo-fino e características de cocção requeridas pelo mercado consumidor brasileiro. Neste mesmo grupo, alguns genótipos apresentam porte de planta intermediário, como as cultivares americanas Bluebelle e Dawn, ou alto como as cultivares EEA's, ou grãos de tamanho médio como a cultivar americana Mercury, sendo mais difícil a obtenção de recombinantes de interesse.

Dentro do terceiro grupo (subespécie japônica temperado), as cultivares Akitakomachi e Caloro, embora estejam entre as mais tolerantes ao frio, possuem várias características indesejáveis, como colmos fracos, folhas decumbentes, grãos curtos e amilose baixa. Os demais genótipos deste grupo possuem características de planta e grãos mais próximo do desejável, sendo, portanto, preferenciais na inclusão em cruzamentos visando a transferência da tolerância ao frio para genótipos da subespécie índica adaptados.

Considerando-se até 30% de redução no comprimento do coleóptilo como tolerante ao frio no estágio de germinação, tem-se que dos genótipos estudados, 14 são boas fontes de tolerância ao frio, tanto na germinação como no estágio de plântula (Tabela 1.2).

Destes genótipos, QUILLA 64117, QUILLA 66304 e DIAMANTE foram estudados por Cruz (2001), sendo identificados como boas fontes de tolerância ao frio. A população resultante do cruzamento entre QUILLA 64117 (tolerante)

e IRGA 417 (sensível) foi indicada como a mais adequada para mapeamento da tolerância ao frio.

Por isso considera-se que esse grupo é composto por fontes importantes de alelos para uso em cruzamentos para melhoramento da tolerância ao frio de genótipos de arroz irrigado adaptados ao estado do Rio Grande do Sul.

#### 1.4. CONCLUSÕES

Com base na avaliação da tolerância ao frio no estágio de germinação, 14 genótipos da subespécie japônica são genitores potenciais para transferência da tolerância ao frio para genótipos adaptados da subespécie índica.

Há ampla divergência genética entre os genótipos estudados, com divisão clara entre as subespécies índica e japônica.

## CAPÍTULO II

### POTENCIAL DE UMA POPULAÇÃO ÍNDICA X JAPÔNICA DE ARROZ IRRIGADO (*Oryza sativa* L.) PARA FINS DE MELHORAMENTO

#### 2.1. INTRODUÇÃO

A identificação de genótipos superiores é uma das principais atividades em um programa de melhoramento, e que abrange tanto a identificação dos melhores genitores para inclusão em cruzamentos, como a seleção em populações segregantes e a utilização dos indivíduos selecionados no programa.

Para que haja seleção, primeiramente é necessário a geração de variabilidade genética para os caracteres de interesse, o que é obtido pelo cruzamento entre genitores divergentes. No caso dos cruzamentos intersubespecíficos, ou seja, aqueles envolvendo uma cultivar índica e outra japônica, a variabilidade gerada é maior ainda devido às diferenças genéticas, morfológicas, fisiológicas e de evolução entre estas duas subespécies de *Oryza sativa* L. (Chang, 1996; Morishima, 2001).

Não há dificuldade em cruzar as diferentes subespécies, entretanto, os híbridos entre elas mostram graus variáveis de esterilidade (Oka e Morishima, 1997). A esterilidade híbrida inerente a este tipo de cruzamento faz com que as linhagens apresentem porcentagem de espiguetas estéreis maior que o esperado, podendo causar distorção na segregação e, assim, dificultar estudos de mapeamento, bem como gerar linhagens com menor potencial de rendimento. A esterilidade poderia causar perda progressiva de recombinantes, limitando a transferência de caracteres desejáveis de cultivares japônicas para índicas ou das índicas para as japônicas (Jennings et al., 1979). Em um estudo com a população de seleção recorrente CNA 11, os resultados mostraram que à medida que se aumentava a intensidade de seleção, aumentava a frequência

de alelos da subespécie índica e reduzem os alelos da subespécie japonesa (Lopes, 2002b). A predominância dos segregantes da subespécie índica poderia ser reflexo de sua maior capacidade competitiva (Jennings et al., 1979).

Este comportamento também pode ser explicado pela existência de mecanismos internos de diferenciação que, embora não sejam bem conhecidos, têm sido apontados como a provável causa. Primeiramente, em híbridos entre as subespécies índica e japonesa, os genes derivados do parental índica tendem a aumentar a sua frequência. Estas mudanças na frequência de genes poderia ser causada pela seleção gamética devido a genes de esterilidade no  $F_1$ , a seleção de indivíduos devido à esterilidade e fraqueza da  $F_2$  e a competição entre plantas adjacentes. Em segundo lugar, combinações de genes parentais tendem a aumentar em relação aos recombinantes em populações híbridas. Isto é possivelmente porque genótipos semelhantes aos parentais têm taxa reprodutiva mais alta que os derivados de recombinações (Oka & Morishima, 1997).

Nos ambientes do Sul do Brasil há predominância de genótipos da subespécie índica, os quais são mais produtivos, adaptados, com maior resistência ou tolerância aos principais estresses bióticos e abióticos e com características de grãos requeridas pelo mercado consumidor, porém são sensíveis ao frio. Assim, os cruzamentos índica x japonesa têm sido utilizados pelos programas de melhoramento de arroz do RS, principalmente como forma de incorporar a tolerância ao frio dos genótipos japonesa em genótipos índica adaptados.

As fontes de tolerância ao frio, que são principalmente da subespécie japonesa, apresentam a maioria das características não desejáveis, como porte mais alto, folhas decumbentes, suscetíveis ou sensíveis aos principais estresses bióticos e abióticos e com características físicas e químicas dos grãos (grãos curtos ou longos, má aparência após o polimento e pegajosos após o cozimento) não aceitáveis (Sasaki, 1997; Carmona et al., 1999).

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi estudar a herança e a herdabilidade de características agrônomicas e de qualidade dos grãos em uma população de linhagens recombinantes obtida a partir de um cruzamento

índica x japônica (IRGA 417/Quilla 64117) e, desta forma, avaliar o potencial genético da referida população para fins de melhoramento.

## 2.2. MATERIAL E MÉTODOS

A população usada neste estudo é originária do cruzamento entre a cultivar IRGA 417 (índica) e a linhagem Quilla 64117 (japônica) que, pelo grau de polimorfismo e pela divergência genética entre os genitores, mostrou-se a mais indicada para o mapeamento da tolerância ao frio em arroz (Cruz, 2001).

A cultivar IRGA 417 (genitor sensível ao frio) possui grãos longo fino e é largamente utilizada no estado do Rio Grande do Sul, sendo lançada pelo programa de melhoramento genético do Instituto Rio Grandense do Arroz no ano de 1995. Esta cultivar é proveniente do cruzamento triplo NEW REX / IR 19743-25-2-2 // BR-IRGA 409. Quilla 64117 (genitor tolerante ao frio) é uma linhagem de grãos longos, do programa de melhoramento genético do Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) do Chile, sendo obtida pelo cruzamento entre as cultivares DELTA e ORO.

### 2.2.1. Obtenção da população de linhagens recombinantes

A população de linhagens recombinantes foi obtida pelo método do descendente de uma única semente ou SSD (Single Seed Descent), sem nenhum tipo de seleção durante o processo. Uma panícula foi colhida de cada planta individual na geração  $F_2$  e uma semente de cada panícula, escolhida ao acaso, foi semeada em vasos para obter as plantas  $F_3$ . Este procedimento foi continuado nas gerações seguintes até serem obtidas as sementes  $F_6$ . As plantas foram cultivadas em casa de vegetação na Estação Experimental do Arroz, em Cachoeirinha (latitude  $29^\circ$  S), de setembro de 2002 a janeiro de 2003, de agosto a dezembro de 2003 e de janeiro a maio de 2004 para obtenção de sementes das gerações  $F_3$ ,  $F_4$  e  $F_5$ , respectivamente.

As sementes  $F_6$ , obtidas de uma única planta de cada vaso, foram multiplicadas em Penedo/AL (latitude  $10^\circ$  S), de junho a outubro de 2004, onde foi semeada uma linha de sementes de cada planta  $F_6$  (linhagem). Por ocasião da maturação, foi colhida toda a linha para obtenção de semente  $F_{6:7}$  suficiente para os ensaios de campo.

### 2.2.2. Ensaio de campo

Das 128 linhagens cultivadas em Penedo/AL na geração F<sub>6</sub>, somente 71 foram incluídas nos ensaios. A exclusão das demais linhagens foi por apresentarem alta porcentagem de esterilidade ou por estarem segregando para alguns caracteres fenotípicos como estatura ou ciclo. As 71 linhagens recombinantes, juntamente com os genótipos parentais (IRGA 417 e Quilla 64117), foram avaliadas em ensaios de campo conduzidos na Estação Experimental do Instituto Rio Grandense do Arroz, em Cachoeirinha, e na Subestação de Santa Vitória do Palmar, nas safras 2004/05 e 2005/06.

As parcelas experimentais foram constituídas de seis linhas espaçadas de 0,20 m e com 3 m de comprimento distribuindo-se as sementes com auxílio de uma semeadora mecanizada. A área útil constou das quatro linhas centrais com 2,50 m de comprimento, totalizando 2,0 m<sup>2</sup>. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso. Na safra 2004/05, devido à pouca disponibilidade de sementes para instalação dos ensaios com repetições nos dois locais, considerou-se o local como repetição e, na safra 2005/06, o mesmo delineamento foi utilizado com três repetições em cada local. As datas de semeadura e de emergência das plântulas encontram-se na Tabela 2.1.

Para a análise dos resultados serão considerados três ambientes:

Ambiente 1 (A1) - Ensaio de Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar na safra 2004/05, considerando o local como repetição;

Ambiente 2 (A2) - Ensaio de Cachoeirinha na safra 2005/06;

Ambiente 3 (A3) - Ensaio de Santa Vitória do Palmar na safra 2005/06.

Em ambos os locais, a semeadura foi realizada no final da época recomendada para aumentar a probabilidade de ocorrência de estresse com temperaturas baixas na fase reprodutiva das plantas.

A adubação de base foi composta de 300 kg ha<sup>-1</sup> da fórmula 05-20-30 (N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O), em ambos locais nas duas safras. A adubação nitrogenada de cobertura foi aplicada antes do início da irrigação, na dose de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N.

Adicionalmente, em Santa Vitória do Palmar foi realizada uma segunda aplicação de nitrogênio aos 40 dias após a emergência do arroz (D.A.E.), na dose de 60 kg ha<sup>-1</sup> de N, totalizando 120 kg ha<sup>-1</sup> de N.



TABELA 2.1. Locais no estado do Rio Grande do Sul, ambiente, safras e datas de semeadura e de emergência das plântulas nos ensaios de campo.

Local	Ambiente	Safra	Semeadura	Emergência
Cachoeirinha	A1	2004/05	21/11/2004	29/11/2004
Santa Vitória do Palmar	A1	2004/05	23/11/2004	30/11/2004
Cachoeirinha	A2	2005/06	28/11/2005	08/12/2005
Santa Vitória do Palmar	A3	2005/06	10/11/2005	18/11/2005

O controle de plantas invasoras foi realizado com aplicação dos herbicidas quinclorac (375 g i. a. ha<sup>-1</sup>), propanil (1,26 kg i. a. ha<sup>-1</sup>) e pyrazosulfuron (20 g i. a. ha<sup>-1</sup>), no estágio de duas a três folhas. O início da irrigação foi aos 17 e 10 dias após a emergência (D.A.E.) em Cachoeirinha e aos 14 e 25 D.A.E. em Santa Vitória do Palmar, nas safras 2004/05 e 2005/06, respectivamente. As demais práticas de cultivo seguiram as recomendações da pesquisa (EPAGRI, 2003).

### 2.2.3. Caracteres avaliados

Foram avaliados sete caracteres fenotípicos a campo e em laboratório, empregando-se a metodologia descrita abaixo:

**Rendimento de grãos (REND; kg ha<sup>-1</sup>)** – colheita da área útil de cada parcela (2,0 m<sup>2</sup>). Após a colheita, o arroz foi trilhado, limpo e seco até os grãos atingirem 13 % de umidade;

**Duração do período da emergência à 80 % da floração (FLR80; dias)** – leitura direta no campo quando 80 % das plantas na parcela estavam no estágio de antese;

**Estatura de planta (ESTAT; cm)** – medição de 10 plantas ao acaso dentro da área útil da parcela, considerando a distância vertical do nível do solo ao ápice da panícula;

**Número de grãos por panícula (GRPAN)** – determinado em 10 panículas coletadas ao acaso dentro da área útil da parcela, na fase de maturação;

**Esterilidade de espiguetas (STESP; %)** – na mesma amostra de avaliação do número de grãos por panícula contou-se também o número de espiguetas estéreis e a porcentagem foi calculada pela fórmula: esterilidade (%) =  $[\text{n}^\circ \text{ espiguetas estéreis} / (\text{n}^\circ \text{ espiguetas estéreis} + \text{n}^\circ \text{ de grãos cheios})] \times 100$ ;

**Índice de centro branco dos grãos (CBGR)** – determinado nas amostras de grãos inteiros após o beneficiamento, com notas de 0 a 5, conforme metodologia descrita pelo CIAT (1989);

**Teor de amilose (AMYGR; %)** – determinado utilizando-se metodologia descrita pelo CIAT (1989);

#### 2.2.4. Análise estatística

Foram realizadas análises de variância para os dois locais (Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar), sendo que na primeira safra o local foi considerado como repetição e na segunda safra a análise foi individual por local, considerando os efeitos das linhagens como aleatórios e os efeitos de locais como fixos. A análise de variância foi feita para cada uma das características e o modelo estatístico adotado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + \epsilon_{ij},$$

Em que:

$Y_{ij}$  = valor da característica da i-ésima LR no j-ésimo bloco;

$\mu$  = média geral;

$G_i$  = efeito da i-ésima LR ( $i=1,2,\dots,g$ );

$B_j$  = efeito do j-ésimo bloco ( $j=1,2,\dots,r$ );

$\epsilon_{ij}$ , = erro aleatório,  $\epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$ .

O esquema da análise de variância, com as respectivas esperanças dos quadrados médios, é apresentado na Tabela 2.2.

Com base na análise de variância dos dois locais determinaram-se os seguintes parâmetros genéticos:

**Variância do erro ( $\sigma_e^2$ )** – corresponde ao quadrado médio do erro ( $QM_e$ ) da Tabela 2.2.

TABELA 2.2. Esquema da análise de variância individual por ambiente do modelo em blocos ao acaso. UFRGS, 2006.

Fonte de Variação	GL	QM	E(QM)	F
Blocos	r-1	QM <sub>b</sub>	$\sigma^2_e + g\sigma^2_r$	
Genótipos	g-1	QM <sub>g</sub>	$\sigma^2_e + r\sigma^2_g$	QM <sub>g</sub> / QM <sub>e</sub>
Erro	(r-1)(g-1)	QM <sub>e</sub>	$\sigma^2_e$	
Total	gr-1			

**Variância fenotípica ( $\sigma^2_p$ )** – calculada com base na fórmula abaixo:

$$\sigma^2_p = \sigma^2_e + \sigma^2_g$$

Sendo:

$\sigma^2_e$  = variância do erro

$\sigma^2_g$  = variância genotípica

**Variância genotípica ( $\sigma^2_g$ )** – calculada com base na esperança do quadrado médio de genótipos (QM<sub>g</sub>) conforme fórmula abaixo:

$$E(QM_g) = \sigma^2_e + r \cdot \sigma^2_g$$

$$\sigma^2_g = (QM_g - QM_e) / r$$

**Herdabilidade ( $h^2$ )** – a análise da variância conjunta (Tabela 2.3) foi usada para a partição da variância total em componentes genéticos e ambientais. A estimativa da herdabilidade no sentido restrito foi calculada pela fórmula abaixo:

$$h^2_r = \sigma^2_g / (\sigma^2_g + \sigma^2_e / r)$$

Onde:

$\sigma^2_g$  = variância genotípica;

$\sigma^2_e$  = variância do erro;

r = número de repetições.

Da mesma maneira, a variância genotípica ( $\sigma^2_g$ ) foi calculada com base nos componentes da variância (quadrado médio esperado), conforme a fórmula:  $\sigma^2_g = (QM_g - QM_{ga}) / ar$ , e a variância ambiental ( $\sigma^2_e$ ) foi estimada usando o quadrado médio do erro (QM<sub>e</sub>).

TABELA 2.3. Esquema da análise de variância conjunta do modelo em blocos ao acaso. UFRGS, 2006.

Fonte de Variação	GL	QM	E(QM)	F
Blocos/Ambientes	a(r-1)	QM <sub>b</sub>	$\sigma_e^2 + g\sigma_r^2$	QM <sub>b</sub> /QM <sub>e</sub>
Ambientes	a-1	QM <sub>a</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_{ga}^2 + g\sigma_r^2 + gr\sigma_a^2$	QM <sub>a</sub> /QM <sub>e</sub>
Genótipos	g-1	QM <sub>g</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_{ga}^2 + ar\sigma_g^2$	QM <sub>g</sub> /QM <sub>e</sub>
Genótipos x ambientes	(a-1)(g-1)	QM <sub>ga</sub>	$\sigma_e^2 + r\sigma_{ga}^2$	QM <sub>ga</sub> /QM <sub>e</sub>
Erro	a(r-1)(g-1)	QM <sub>e</sub>	$\sigma_e^2$	
Total	agr-1			

A herança das características fenotípicas foi analisada através das distribuições de freqüência na população de LR e pelo teste do Qui-quadrado.

As classes intermediárias de menor freqüência do histograma, em cada um dos caracteres analisados, foram utilizadas como ponto de corte para a determinação do número de genes envolvidos. Assim sendo, em Cachoeirinha, linhagens com estatura inferior a 105 e 110 cm nas safras 2004/05 e 2005/06, respectivamente, foram consideradas de estatura baixa. Em Santa Vitória, linhagens com estatura inferior a 90 e 95 cm nas safras 2004/05 e 2005/06, respectivamente, foram consideradas de estatura baixa. As linhagens que atingiram estatura igual ou superior aos valores citados foram consideradas de porte alto. Em relação ao índice de centro branco, linhagens com valores fenotípicos abaixo de 1,4 foram classificados como baixo e valores iguais ou superiores a este como alto índice de centro branco. Teores de amilose abaixo de 25 % em Cachoeirinha e abaixo de 26 % em Santa Vitória do Palmar foram considerados como baixo, e acima, como alto teor de amilose.

O valor do teste do Qui-quadrado foi obtido pela fórmula:

$$\chi^2 = \sum [(F_o - F_e)^2 / F_e]$$

Onde:

F<sub>o</sub> = freqüência observada para cada classe;

F<sub>e</sub> = freqüência esperada para cada classe, com base na proporção mendeliana.

As proporções mendelianas testadas foram as de 3:1 e 15:1 utilizando-se o valor tabelado de  $\chi^2$  de 3,84, com um grau de liberdade e ao nível de 5% de significância.

**Correlações fenotípicas ( $r_f$ ) genotípicas ( $r_g$ ) e ambientais ( $r_a$ ) entre dois caracteres** – Os coeficientes de correlação entre dois caracteres X e Y foram calculados conforme descrito por Cruz e Regazzi (1997), com auxílio das análises individuais de X e Y e da análise da soma dos valores de X e Y. Os produtos médios (covariâncias) associados a cada fonte de variação foram estimados pelas fórmulas:

$$COV_{(X,Y)} = [ V_{(X+Y)} - V_{(X)} - V_{(Y)} ] / 2$$

Onde:

$COV_{(X,Y)}$  = Covariância entre os caracteres X e Y;

$V_{(X+Y)}$  = variância da soma dos caracteres X e Y;

$V_{(X)}$  = variância do caráter X;

$V_{(Y)}$  = variância do caráter Y.

Os produtos médios associados aos tratamentos e aos resíduos são obtidos por meio das fórmulas:

$$PMT_{XY} = (QMT_{X+Y} - QMT_X - QMT_Y)/2$$

$$PMR_{XY} = (QMR_{X+Y} - QMR_X - QMR_Y)/2$$

Onde:

$PMT_{XY}$  = produto médio associado aos caracteres X e Y;

$PMR_{XY}$  = produto médio associado ao resíduo entre X e Y.

Com base nos resultados dos produtos médios ou covariâncias acima se calculou os coeficientes de correlação por meio das seguintes fórmulas:

Correlação fenotípica ( $r_f$ ):

$$r_f = PMT_{XY} / [QMT_X \cdot QMT_Y]^{1/2}$$

Correlação ambiental ( $r_a$ ):

$$r_f = PMR_{XY} / [QMR_X \cdot QMR_Y]^{1/2}$$

Correlação genotípica ( $r_g$ ):

$$r_g = \sigma_{gxy} / [\sigma_{gx}^2 \cdot \sigma_{gy}^2]^{1/2}$$

Sendo:

$$\sigma_{gxy} = [PMT_{XY} - PMR_{XY}] / r$$

$$\sigma_{gx}^2 = [QMT_X - QMR_X] / r$$

$$\sigma_{gy}^2 = [QMT_Y - QMR_Y] / r$$

em que:

$\sigma_{gxy}$  = estimador da covariância genotípica entre os caracteres X e Y ;

$\sigma_{gx}^2$  e  $\sigma_{gy}^2$  = estimadores das variâncias genotípicas dos caracteres X e Y, respectivamente.

**Ganho esperado de seleção (Gs)** – o ganho genético esperado foi calculado tanto para seleção direta quanto para indireta. A seleção direta foi realizada diretamente no caráter de interesse e a indireta quantificando-se o ganho genético alcançado no caráter de interesse ou principal através da seleção no caráter secundário.

**Seleção direta no caráter (Gsd)** – o ganho esperado pela seleção direta depende do diferencial de seleção e da herdabilidade do caráter principal (X), conforme a seguinte fórmula:

$$Gsd_X = ds_X \cdot h^2_X$$

Onde:

$Gsd_X$  = ganho esperado pela seleção direta no caráter principal (X);

$ds_X$  = diferencial de seleção no caráter principal (X);

$ds_X = X_{LR(S)} - X_{LR(O)}$  (média das linhagens selecionadas menos a média original das linhagens);

$h^2_X$  = herdabilidade do caráter principal (X).

**Seleção indireta no caráter (Gsi)** – o ganho esperado pela seleção indireta é calculado pela seguinte fórmula:

$$Gsi_{X(Y)} = ds_{X(Y)} \cdot h^2_X$$

Onde:

$Gsi_{X(Y)}$  = ganho esperado no caráter principal (X) quando a seleção é praticada no caráter secundário (Y);

$ds_{X(Y)}$  = diferencial de seleção indireto no caráter principal (X), que é obtido em função da média do caráter daqueles indivíduos cuja superioridade foi evidenciada com base no outro caráter (Y) sobre o qual se pratica a seleção direta.

O ganho por seleção também pode ser expresso em porcentagem sobre a média original das linhagens:

$$Gs (\%) = [(ds \cdot h^2) / x_{LR(O)}] \cdot 100$$

**Ganhos esperados pela seleção através do índice clássico de Smith (1936) e Hazel (1943)** - caracteriza-se por combinar as informações de mais de um carácter em apenas um índice (número) para cada família, neste caso, praticando-se a seleção sobre os valores do índice e avaliando-se as respostas indiretas esperadas nos caracteres originais.

$$I = b_1 * C_1 + b_2 * C_2 + \dots + b_n * C_n$$

Onde:

$b_n$  = coeficiente de regressão múltipla do n-ésimo carácter;

$C_n$  = fenótipo do n-ésimo carácter.

Na fórmula acima, os valores de  $b$  são calculados de maneira a maximizar a correlação entre o valor do índice e o valor genético agregado da família, sendo este último definido pela fórmula:

$$H = e_1 * g_1 + e_2 * g_2 + \dots + e_n * g_n$$

Onde:

$e_n$  = valor econômico relativo do carácter;

$g_n$  = valor genético do carácter

Os  $b$ 's foram calculados por:

$$b = F^{-1} \cdot G \cdot W$$

Sendo:

$b$  = vetor dos coeficientes de regressão múltipla;

$F^{-1}$  = inversa da matriz de variâncias e covariâncias fenotípicas entre os caracteres;

$G$  = matriz de variâncias e covariâncias genotípicas entre os caracteres;

$W$  = vetor de valores relativos dos caracteres.

O esquema abaixo demonstra a forma do cálculo matricial:

$$\begin{pmatrix} b_1 \\ b_2 \\ \vdots \\ \vdots \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sigma_{F(1)}^2 & \sigma_{F(1;2)} & \dots & \sigma_{F(1;n)} \\ \sigma_{F(2;1)} & \sigma_{F(2)}^2 & \dots & \sigma_{F(2;n)} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \end{pmatrix}^{-1} \cdot \begin{pmatrix} \sigma_{g(1)}^2 & \sigma_{g(1;2)} & \dots & \sigma_{g(1;n)} \\ \sigma_{g(2;1)} & \sigma_{g(2)}^2 & \dots & \sigma_{g(2;n)} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \vdots & \vdots & \vdots & \vdots \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} W_1 \\ W_2 \\ \vdots \\ \vdots \end{pmatrix}$$

$$\begin{matrix} \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ b_n & \sigma_{F(n;1)} & \sigma_{F(n;2)} & \dots & \sigma_{F(n)}^2 & \sigma_{g(n;1)} & \sigma_{g(n;2)} & \dots & \sigma_{g(n)}^2 & W_n \end{matrix}$$

Onde:

$\sigma_{P(n)}^2$  = variância fenotípica do caráter  $C_n$ ;

$\sigma_{P(1;2)}$  = covariância fenotípica entre os caracteres  $C_1$  e  $C_2$ ;

$\sigma_{g(n)}^2$  = variância genotípica do caráter  $C_n$ ;

$\sigma_{g(1;2)}$  = covariância genotípica entre os caracteres  $C_1$  e  $C_2$ .

Os pesos ou valores relativos adotados neste trabalho para construção do índice foram: REND (10), FLR80 (1), ESTAT (1), STESP (5), GRPAN (1), CBGR (1) e AMYGR (1). Estes pesos foram estabelecidos segundo o critério de importância relativa de cada caráter, com base na experiência em pesquisa com arroz irrigado.

Todas as análises de variância foram realizadas no programa estatístico Statistical Analysis System (SAS Institute, 2000), pelo procedimento GLM (Modelos Lineares Generalizados). Os ganhos esperados pela seleção e pelo índice clássico foram calculados pelo programa GENES (Cruz, 2006).

### 2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para os sete caracteres houve diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ) entre as linhagens recombinantes (Tabela 2.4). Como considerou-se o local como repetição no primeiro ano do experimento (Ambiente 1), de maneira geral seria esperado maior variação nos dados, o que foi confirmado pelo efeito de blocos, que foi significativo para todos os caracteres, com exceção do índice de centro branco, e pelos coeficientes de variação experimental, os quais foram superiores aos outros dois ambientes, Cachoeirinha (A2) e Santa Vitória (A3) na safra 2005/06, para todos os caracteres (Tabela 2.4).

Esta variação esperada justifica-se, pois Cachoeirinha (latitude 29° S) é um local considerado mais favorável ao cultivo de arroz irrigado em relação à Santa Vitória do Palmar (latitude 33° S), principalmente por apresentar médias



TABELA 2.4. Resumo das análises de variância para os caracteres rendimento de grãos (REND), ciclo até a floração (FLR80), estatura de planta (ESTAT), esterilidade de espiguetas (STESP), número de grãos por panícula (GRPAN), índice de centro branco nos grãos (CBGR) e teor de amilose nos grãos (AMYGR), referentes aos experimentos realizados em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar na safra 2004/05 (Ambiente 1), em Cachoeirinha (Ambiente 2) e em Santa Vitória do Palmar (Ambiente 3), no estado do Rio Grande do Sul na safra 2005/06. UFRGS, 2006.

Fontes de variação	Quadrados médios e significância pelo teste F <sup>1</sup>							
	Ambiente 1							
	GL	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CBGR	AMYGR
LR	70	4794813**	103,57**	518,06**	218,76**	1409,62**	0,6336**	30,173**
Bloco	1	78416860**	1625,20**	6411,95**	6701,85**	6227,02**	0,0106 <sup>ns</sup>	116,735**
Erro	70	1279441	8,37	17,72	56,04	288,37	0,1260	1,332
CV <sub>EXP</sub> (%)		21,5	3,6	4,9	22,3	15,6	67,2	5,1
R <sup>2</sup>		0,83	0,94	0,97	0,85	0,84	0,84	0,96
Ambiente 2								
LR	70	4025259**	199,65**	839,16**	-	-	0,3915**	-
Bloco	2	1250562 <sup>ns</sup>	27,01**	62,72**	-	-	0,0599*	-
Erro	212	550526	3,24	8,47	-	-	0,0137	-
CV <sub>EXP</sub> (%)		15,9	2,4	3,0	-	-	38,6	-
R <sup>2</sup>		0,82	0,97	0,98	-	-	0,94	-
Ambiente 3								
LR	70	7177793**	71,35**	620,46**	312,70**	2042,80**	0,6554**	-
Bloco	2	2510763*	31,92**	77,49**	142,18*	88,07 <sup>ns</sup>	0,0243 <sup>ns</sup>	-
Erro	212	574882	5,21	13,81	41,67	276,28	0,0596	-
CV <sub>EXP</sub> (%)		16,9	2,5	4,5	15,8	15,6	54,2	-
R <sup>2</sup>		0,87	0,90	0,96	0,79	0,79	0,85	-

<sup>1</sup> \*\*, \* = significativo a 1% e 5%, respectivamente; <sup>ns</sup> = não significativo.

de temperaturas mais altas e pela menor probabilidade de ocorrência de frentes frias durante o período de cultivo. Por isso, Santa Vitória do Palmar é um dos locais mais adequados para avaliação e seleção para tolerância ao frio no Estado do RS.

Na safra 2004/05, os rendimentos de grãos foram mais elevados (Apêndice 1). Já na safra 2005/06 em Cachoeirinha (A2), a ocorrência de brusone (*Magnaporthe grisea*) e panícula ereta (bico de papagaio – desordem fisiológica associada, entre outros fatores, a decomposição anaeróbica de matéria orgânica incorporada ao solo antes da irrigação, Groth et al., 1991), principalmente nas duas primeiras repetições, que pode ser observado pela significância no QM de blocos, reduziu os rendimentos e também influenciou o ciclo até o florescimento e impossibilitou a avaliação da esterilidade de espiguetas (dados não mostrados).

Neste estudo, a duração do período da emergência a floração dos genótipos, em geral, foi mais longo em Santa Vitória do Palmar (Apêndices 1 e 2) nas duas safras, provavelmente devido à ocorrência de temperaturas médias mais baixas durante o estágio vegetativo.

O fator local também influenciou a estatura dos genótipos, pois tanto as linhagens como os genitores apresentaram estaturas médias mais baixas em Santa Vitória do Palmar (A3) do que em Cachoeirinha (A2) (Apêndice 2).

Em relação à esterilidade de espiguetas houve diferenças significativas entre linhagens nos diferentes ambientes e foi também significativo o efeito de blocos (Tabela 2.4), com as linhagens apresentando médias de esterilidade altas nos ambientes A1 e A3, 33,6% e 40,9%, respectivamente (Apêndices 1 e 2).

O número de grãos por panícula é um dos componentes do rendimento que apresentou diferença significativa entre linhagens em dois dos ambientes analisados (A1 e A3) (Tabela 2.4).

Em relação às propriedades físico-químicas dos grãos índice de centro branco e teor de amilose, em geral, os ambientes apresentaram resultados muito similares. Embora sendo características controladas geneticamente, são também afetadas pelo ambiente. Em Santa Vitória do Palmar, onde as temperaturas máximas no estágio de maturação não são tão elevadas quanto

em Cachoeirinha, proporciona condições para redução do índice de centro branco e para elevação do conteúdo de amilose.

A distribuição de freqüência das linhagens para rendimento de grãos nos dois locais mostrou uma distribuição contínua deste caráter (Figura 2.1). Enquanto os genitores IRGA 417 e Quilla 64117 apresentaram médias de 9070 e 7335 kg ha<sup>-1</sup> no ambiente 1, 7204 e 4379 kg ha<sup>-1</sup> no ambiente 2 e 6961 e 6011 kg ha<sup>-1</sup> no ambiente 3, as médias das linhagens foram 5270, 4664 e 4465 kg ha<sup>-1</sup> nos ambientes 1, 2 e 3, respectivamente.

Poucas linhagens apresentaram rendimentos acima do parental IRGA 417. Em Santa Vitória do Palmar (A3), três linhagens produziram acima de 7000 kg ha<sup>-1</sup>, e houve repetição de sete entre as dez mais produtivas do ambiente A1, demonstrando certa estabilidade. O ciclo, a estatura, a esterilidade e o teor de amilose da linhagem mais produtiva no ambiente A3 foram semelhantes ao IRGA 417 (dados não apresentados); o número de grãos por panícula foi maior na linhagem, porém o índice de centro branco

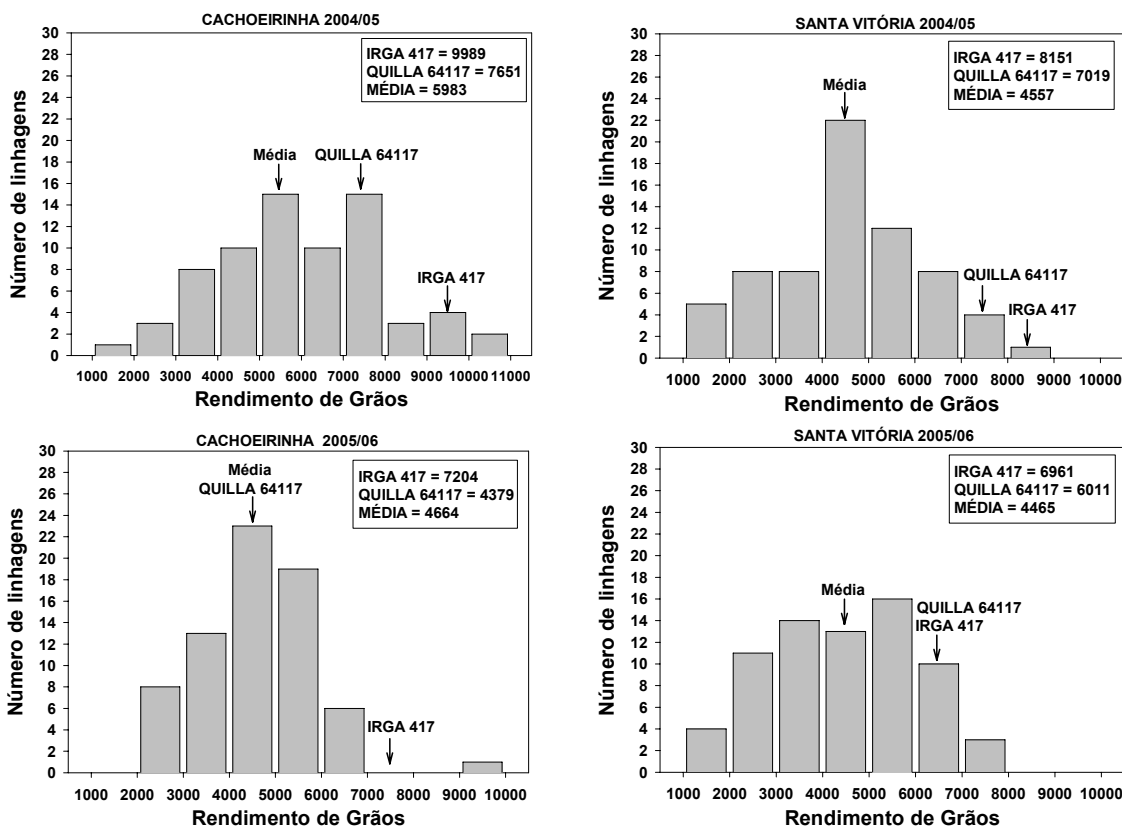


Figura 2.1. Distribuições de freqüência para rendimento de grãos (kg ha<sup>-1</sup>) dos genótipos IRGA 417, QUILLA 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06. UFRGS, 2006.

também foi maior, o que é indesejável. Esta linhagem também foi a segunda em rendimento em Cachoeirinha 2004/05 (dados não mostrados), porém não repetiu o mesmo comportamento em Cachoeirinha 2005/06, pois apresentou sensibilidade intermediária à bico de papagaio, que provavelmente influenciou no rendimento de grãos.

Embora poucas linhagens tenham apresentado rendimentos de grãos semelhantes ou superiores ao parental mais adaptado, deve ser levado em consideração que os dados são provenientes de 71 linhagens. Provavelmente, aumentando o número de linhagens aumentariam as possibilidades de obtenção de linhagens promissoras. Além disso, a maior porcentagem de esterilidade das linhagens também pode ter contribuído para reduzir os rendimentos das mesmas, em relação aos parentais (Figura 2.2 e Tabela 2.7).

Como a população é proveniente de um cruzamento entre genitores muito divergentes (subespécies índica e japônica), provavelmente o menor rendimento das linhagens em relação aos genitores é devido à recombinação ou rearranjo de genes, gerando linhagens com comportamento médio inferior aos genitores, principalmente em relação ao mais adaptado (IRGA 417). Nos

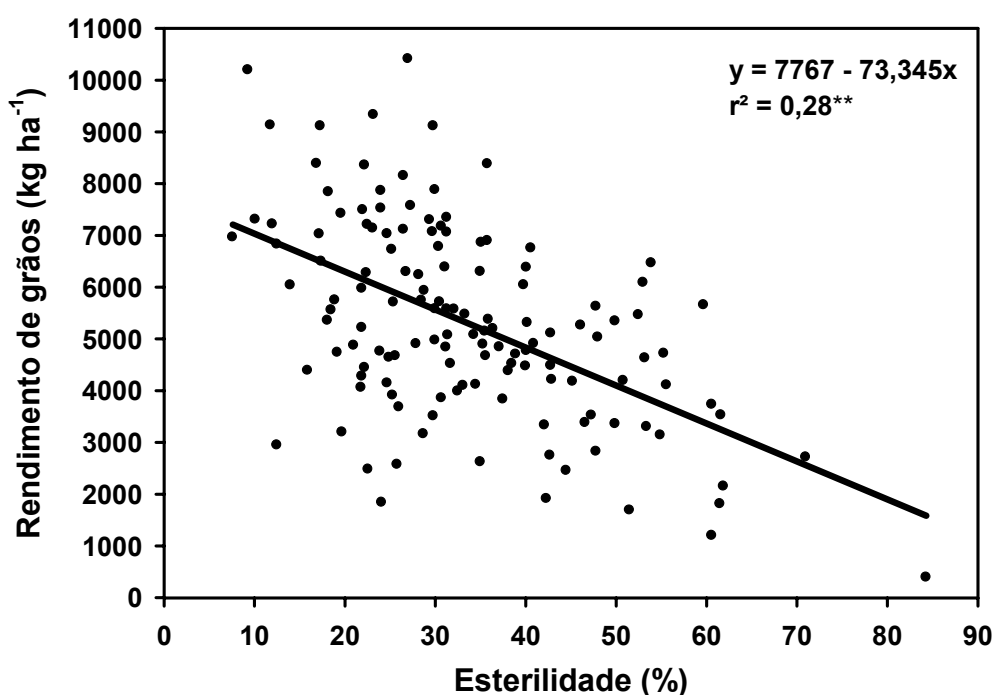


Figura 2.2. Relação entre rendimento de grãos e esterilidade de espiguetas de 71 linhagens recombinantes na safra 2004/2005. UFRGS, 2006.

parentais, a combinação de genes favoráveis para adaptação e, conseqüentemente maior produtividade, podem estar acumulados e, ao recombinarem-se, os genes ou bloco de genes são quebrados ou perdidos, resultando em linhagens com menor rendimento de grãos.

A estatura de planta é outra característica importante, pois está associada principalmente à resistência ao acamamento, ao grau de resposta à aplicação de nitrogênio e ao alto potencial de rendimento. As linhagens que apresentaram médias de estatura de plantas inferiores a 105 e a 110 cm em Cachoeirinha e a 90 e a 95 cm em Santa Vitória do Palmar nas safras 2004/05 (A1) e 2005/06 (A2 e A3), respectivamente, foram consideradas de estatura baixa. Este caráter mostrou distribuição de frequência bimodal nos três ambientes (Figura 2.3), e o teste de qui-quadrado para a relação de 3:1 de plantas baixas para altas não foi significativo em todos os experimentos (Tabela 2.5), demonstrando que, nesta população, a estatura provavelmente é controlada por dois genes independentes.

Estas informações são importantes pois, em geral, as fontes de tolerância ao frio, como neste estudo, são provenientes de genótipos de estatura alta. Em conseqüência, para o melhoramento de genótipos da subespécie indica que, por serem poucos genes envolvidos, torna-se fácil a seleção fenotípica à campo (alta herdabilidade), sendo grande a possibilidade de desenvolver genótipos de porte baixo tolerantes ao frio.

O ciclo das linhagens, outra característica muitas vezes associada ao rendimento de grãos, mostrou uma distribuição contínua (Figura 2.4). Embora os genitores sejam de ciclo precoce, houve linhagens recombinantes que apresentaram ciclo tanto inferior quanto superior aos parentais. Isto indica que os dois genitores da população possuem genes tanto para precocidade quanto para ciclo mais longo e, em conseqüência, é possível a seleção de linhagens com as características desejadas com ampla variação de ciclo.

As distribuições de frequência das linhagens para o caráter esterilidade de espiguetas (Figura 2.5) mostram que houve grande influência do ambiente nos genótipos avaliados, pois tanto as linhagens quanto os genitores apresentaram esterilidade superior em Santa Vitória do Palmar do que em Cachoeirinha. Provavelmente parte desta esterilidade seja devida a causas genéticas ligadas ao cruzamento índica x japônica. No ambiente desfavorável

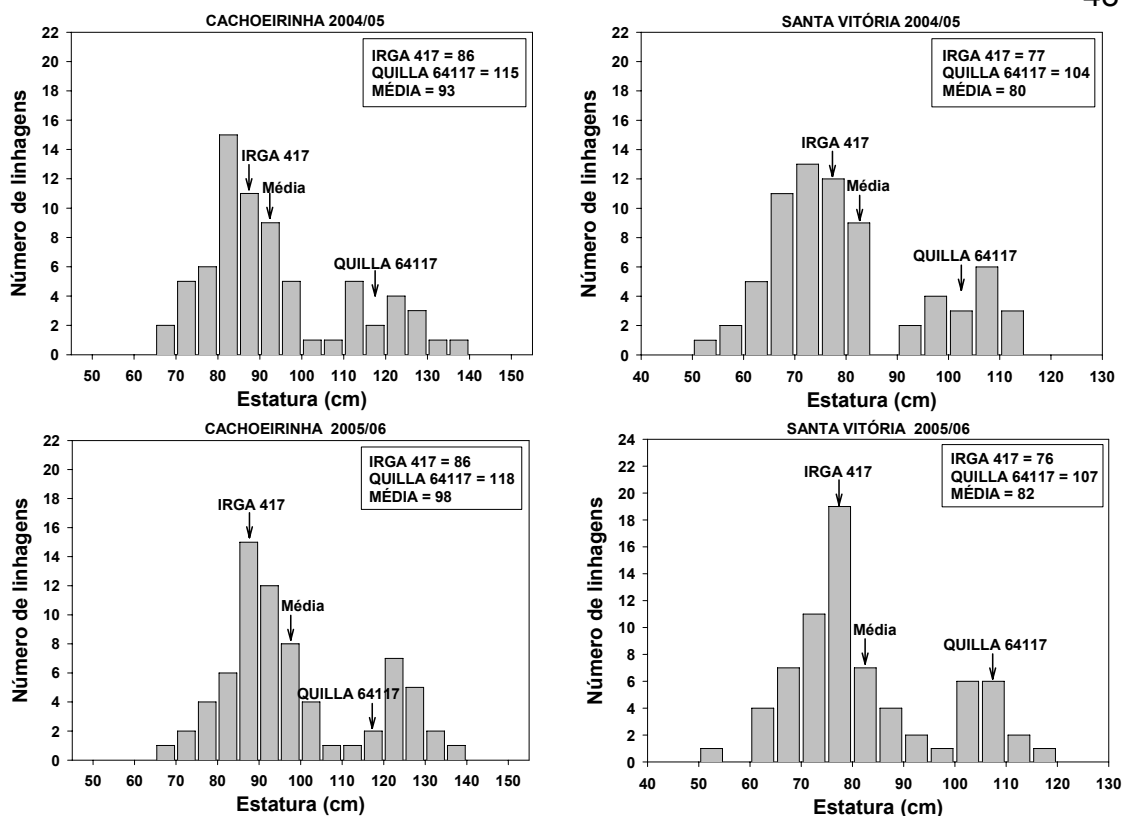


Figura 2.3. Distribuições de freqüência para estatura (cm) dos genótipos IRGA 417, QUILLA 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06. UFRGS, 2006.

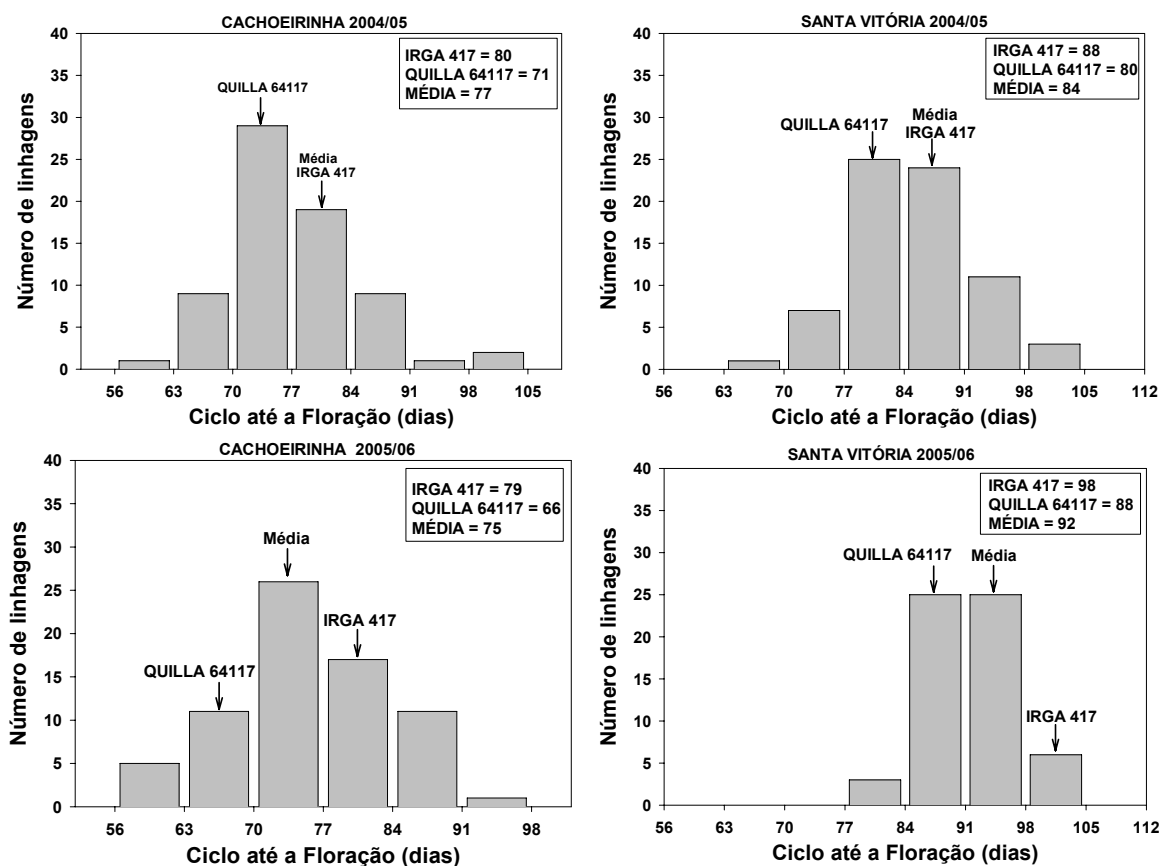


Figura 2.4. Distribuições de freqüência para duração do período da emergência a floração (dias) dos genótipos IRGA 417, QUILLA 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06. UFRGS, 2006.

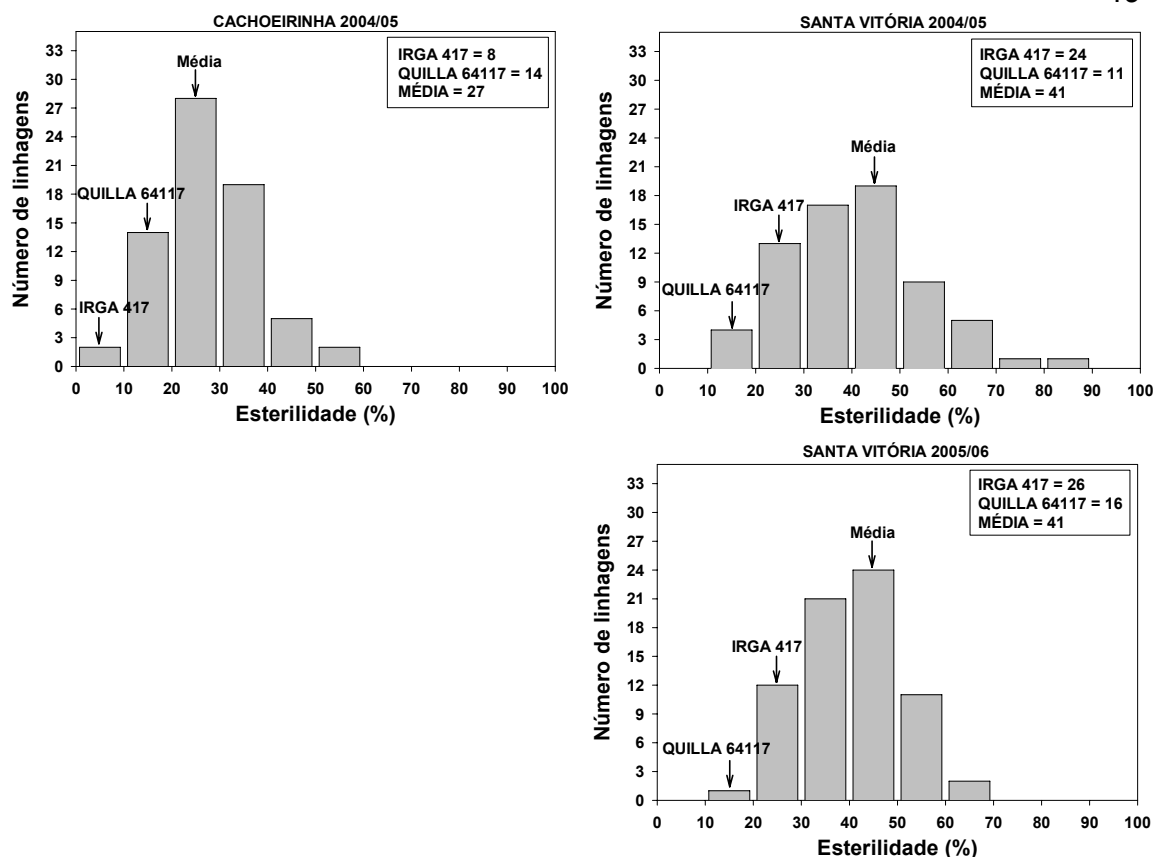


Figura 2.5. Distribuições de freqüência para porcentagem de esterilidade dos genótipos IRGA 417, QUILLA 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06. UFRGS, 2006.

(Santa Vitória do Palmar), a esterilidade das linhagens foi alta (41%) e igual nas duas safras (A1 e A3). Neste local, o genitor sensível ao frio, IRGA 417, também mostrou esterilidade mais alta (24% em A1 e 26% em A3), enquanto o genitor tolerante apresentou esterilidade de 10 e 16% nos ambientes A1 e A3, respectivamente. Como as linhagens mostraram esterilidade de 27% no ambiente favorável, a média de 41% no ambiente desfavorável pode ser atribuída em parte a causas ligadas ao tipo de cruzamento e, em parte, à sensibilidade ao frio que pode ter ocorrido durante o estágio reprodutivo das linhagens.

Em relação ao componente de rendimento número de grãos por panícula, a distribuição de freqüência mostrou distribuição contínua do caráter (Figura 2.6). Embora Quilla 64117 tenha apresentado menor número de grãos por panícula (entre 77 e 97) que IRGA 417 (entre 113 e 123) e as linhagens com valores médios inferiores ao IRGA 417 (entre 101 e 116), houve linhagens recombinantes com cerca de 200 grãos por panícula. Isto indica segregação

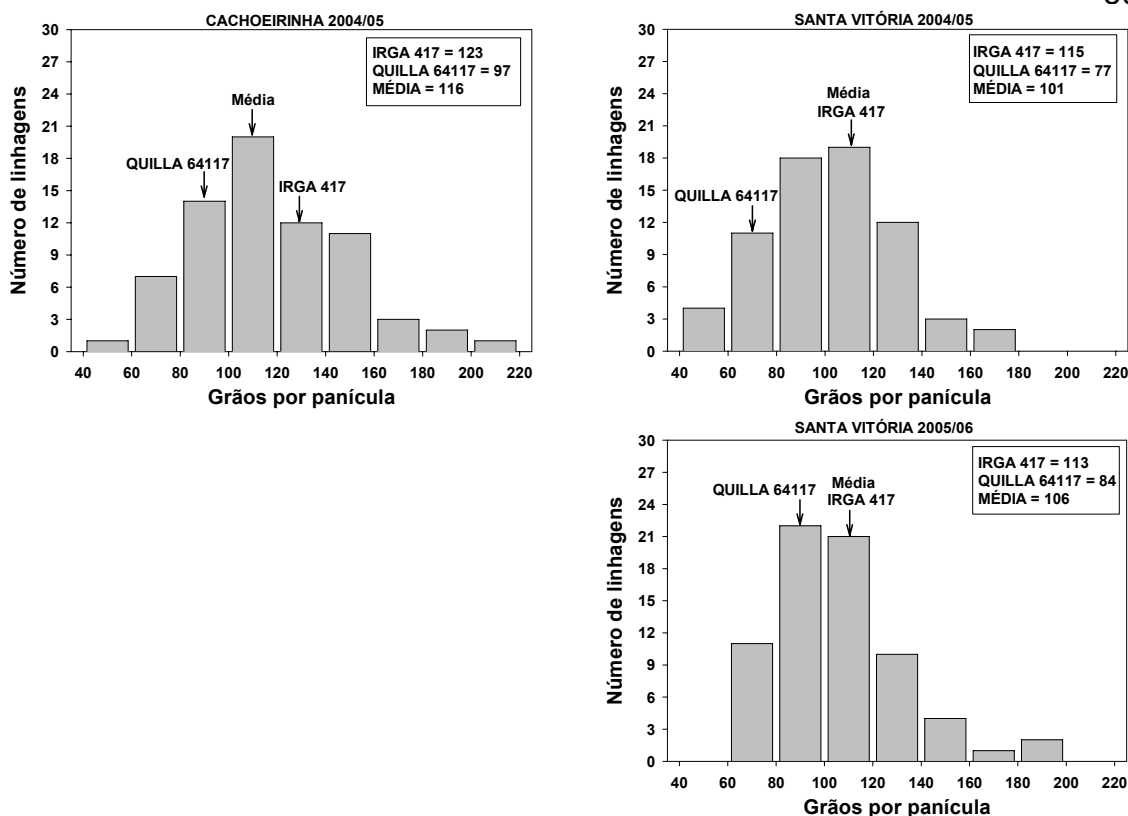


Figura 2.6. Distribuições de freqüência para grãos por panícula dos genótipos IRGA 417, QUILLA 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safra 2004/05. UFRGS, 2006.

transgressiva para este caráter e que, provavelmente, ambos genitores possuem genes para maior número de grãos por panícula. Por esse resultado, pode-se especular que, para esse cruzamento, é possível tentar combinar tolerância ao frio com maior número de grãos por panícula, na busca de genótipos com maior rendimento.

Quanto ao caráter índice de centro branco (Figura 2.7) os genitores são altamente divergentes, sendo que o genitor adaptado IRGA 417 apresentou valores baixos em Cachoeirinha (A1 e A2) e em Santa Vitória do Palmar (A1 e A3) e Quilla 64117 valores altos nestes mesmos ambientes. A média das linhagens foi baixa para este caráter e se situou dentro de valores considerados aceitáveis. De uma maneira geral, embora as diferenças tenham sido pequenas, em Cachoeirinha os parentais mostraram valores mais altos que em Santa Vitória do Palmar. Estes resultados estão de acordo com o que ocorre quando um mesmo genótipo é avaliado em ambientes distintos, principalmente em relação à temperatura após a floração. Segundo Jennings et al. (1979) temperaturas altas aumentam e temperaturas amenas diminuem ou eliminam o centro branco.



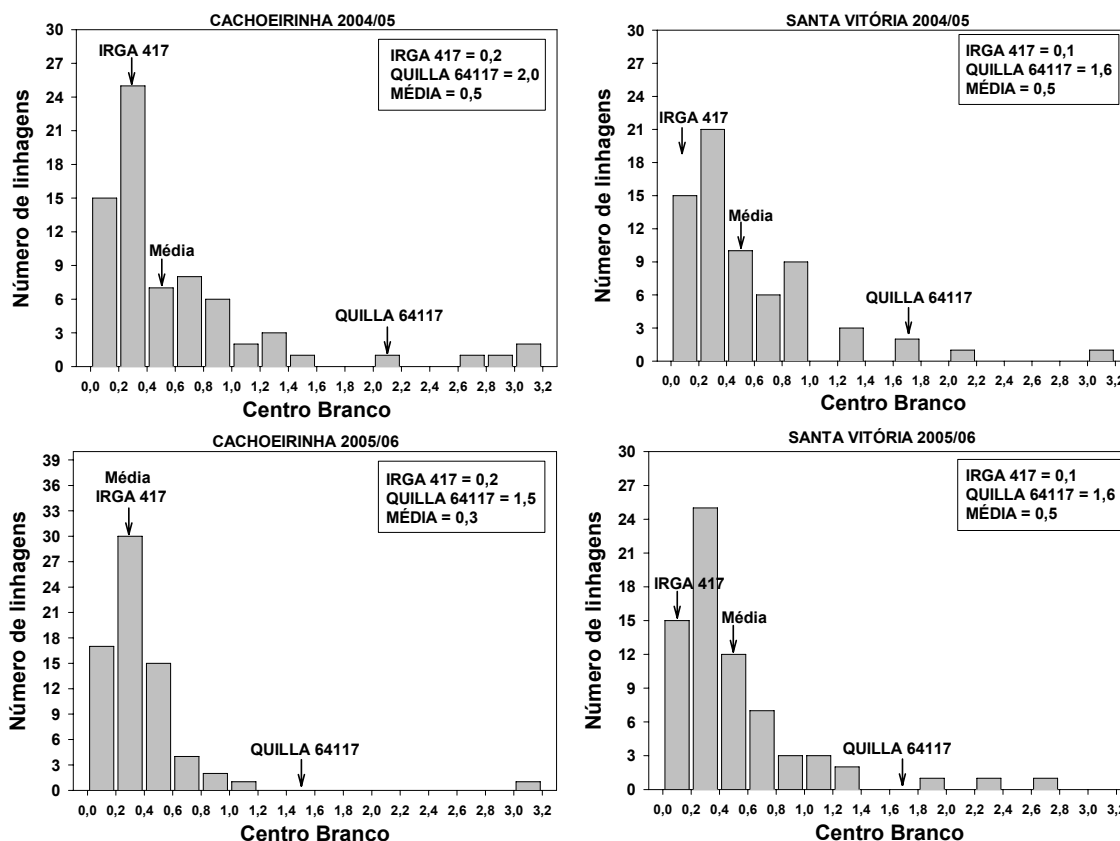


Figura 2.7. Distribuições de freqüência para índice de centro branco dos genótipos IRGA 417, QUILLA 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safras 2004/05 e 2005/06. UFRGS, 2006.

As distribuições de freqüência do centro branco foi contínua, com as linhagens agrupando-se nas classes em torno do genitor com menor índice de centro branco (IRGA 417) (Figura 2.7). As linhagens mostraram maior acúmulo de alelos provenientes do parental com menor centro branco, o que é de grande importância para os programas de melhoramento, pois mesmo em cruzamentos que envolvam genitores com má aparência de grão, é possível a seleção de linhagens com bom aspecto nas primeiras gerações segregantes. Para estimar o número de genes envolvidos neste caráter, considerou-se os valores inferiores a 1,4 como baixo e valores iguais ou superiores a este como alto índice de centro branco, em ambos locais e safras (Tabela 2.5). Com base nestes valores testou-se a proporção mendeliana de 15:1 pelo teste do qui-quadrado e, em todos os ambientes, quatro genes independentes foram responsáveis pelo controle genético do índice de centro branco. Estes resultados estão de acordo com Kamijima (1997), que indicam a participação de vários locos na ocorrência de centro branco.

Em relação ao teor de amilose houve distribuição de freqüência bimodal (Figura 2.8), com maior número de linhagens apresentando distribuição em torno do genitor com amilose baixa (Quilla 64117) e menor número de linhagens apresentando distribuição em torno do genitor com amilose alta (IRGA 417). Embora as diferenças sejam pequenas, tanto os genitores quanto a média das linhagens foi 1% mais alta em Santa Vitória do Palmar em relação à Cachoeirinha. Essa variação no teor de amilose devido à influência ambiental está de acordo com trabalhos anteriores (Guimarães, 1989; Landers, 1991), segundo os quais o teor de amilose pode variar até seis pontos porcentuais devido à influência ambiental, sendo a temperatura um dos fatores mais importantes, quando altas reduzem o teor de amilose e quando baixas aumentam o mesmo.

O teste de qui-quadrado utilizado para analisar a proporção mendeliana de 3:1 indicou que dois genes independentes estão determinando o teor de amilose (Tabela 2.5). Resultados anteriores mostram que este caráter é controlado por um gene maior, mas também é influenciado pelo efeito de dosagem do gene e por modificadores de menor efeito (McKenzie e Rutger, 1983; Kumar e Khush, 1987).

Como os caracteres índice de centro branco e teor de amilose nos grãos são governados por poucos genes, não é problema a recuperação de linhas com centro branco e teor de amilose adequados, mesmo em cruzamento divergente como o deste estudo. No entanto, deve-se também levar em consideração a influência do ambiente quando se pretende selecionar para

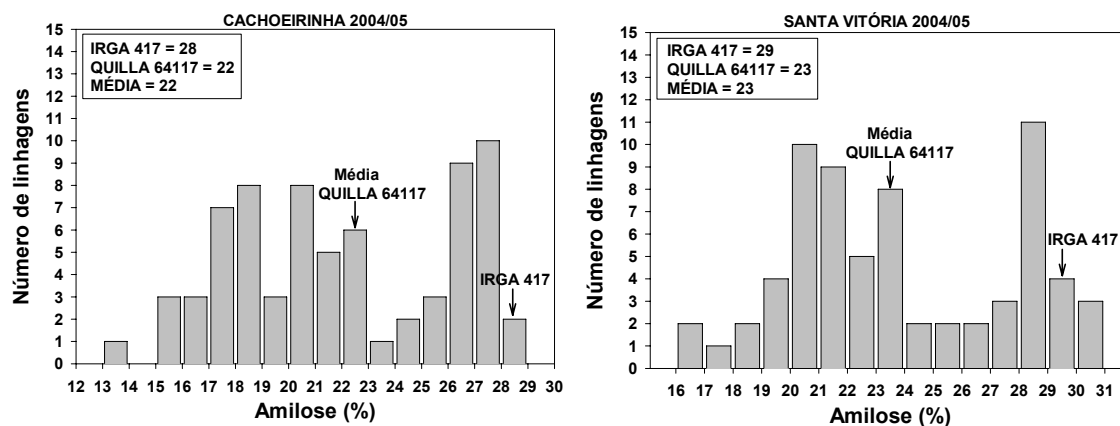


Figura 2.8. Distribuições de freqüência para teor de amilose dos genótipos IRGA 417, QUILLA 64117 e população de linhagens recombinantes, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, safra 2004/05. UFRGS, 2006.

TABELA 2.5. Valores de qui-quadrado para estatura de planta, índice de centro branco e teor de amilose avaliados em quatro ambientes do estado do Rio Grande do Sul. UFRGS, 2006.

ESTATURA DE PLANTA																																
Ambiente	Fenótipo	Observado	Esperado	Proporção	$\chi^2$	P																										
Cachoeirinha 2004/05	Baixa	54	53,25	3:1	0,042	0,837																										
	Alta	17	17,75				Cachoeirinha 2005/06	Baixa	53	53,25	3:1	0,005	0,945	Alta	18	17,75	Santa Vitória 2004/05	Baixa	53	53,25	3:1	0,005	0,945	Alta	18	17,75	Santa Vitória 2005/06	Baixa	55	53,25	3:1	0,230
Cachoeirinha 2005/06	Baixa	53	53,25	3:1	0,005	0,945																										
	Alta	18	17,75				Santa Vitória 2004/05	Baixa	53	53,25	3:1	0,005	0,945	Alta	18	17,75	Santa Vitória 2005/06	Baixa	55	53,25	3:1	0,230	0,631	Alta	16	17,75						
Santa Vitória 2004/05	Baixa	53	53,25	3:1	0,005	0,945																										
	Alta	18	17,75				Santa Vitória 2005/06	Baixa	55	53,25	3:1	0,230	0,631	Alta	16	17,75																
Santa Vitória 2005/06	Baixa	55	53,25	3:1	0,230	0,631																										
	Alta	16	17,75																													

ÍNDICE DE CENTRO BRANCO																																
Ambiente	Fenótipo	Observado	Esperado	Proporção	$\chi^2$	P																										
Cachoeirinha 2004/05	Baixo	66	66,6	15:1	0,076	0,783																										
	Alto	5	4,4				Cachoeirinha 2005/06	Baixo	67	65,6	15:1	0,461	0,497	Alto	3	4,4	Santa Vitória 2004/05	Baixo	64	63,75	15:1	0,016	0,900	Alto	4	4,25	Santa Vitória 2005/06	Baixo	67	65,6	15:1	0,461
Cachoeirinha 2005/06	Baixo	67	65,6	15:1	0,461	0,497																										
	Alto	3	4,4				Santa Vitória 2004/05	Baixo	64	63,75	15:1	0,016	0,900	Alto	4	4,25	Santa Vitória 2005/06	Baixo	67	65,6	15:1	0,461	0,497	Alto	3	4,4						
Santa Vitória 2004/05	Baixo	64	63,75	15:1	0,016	0,900																										
	Alto	4	4,25				Santa Vitória 2005/06	Baixo	67	65,6	15:1	0,461	0,497	Alto	3	4,4																
Santa Vitória 2005/06	Baixo	67	65,6	15:1	0,461	0,497																										
	Alto	3	4,4																													

TEOR DE AMILOSE NOS GRÃOS												
Ambiente	Fenótipo	Observado	Esperado	Proporção	$\chi^2$	P						
Cachoeirinha 2004/05	Alto	24	17,75	3:1	2,934	0,087						
	Baixo	47	53,25				Santa Vitória 2004/05	Alto	23	17	3:1	2,823
Santa Vitória 2004/05	Alto	23	17	3:1	2,823	0,092						
	Baixo	45	51									

$$\chi^2_{.05}(1) = 3,84$$

tolerância ao frio em Santa Vitória do Palmar. Como os genótipos estão sendo selecionados numa condição em que tanto o índice de centro branco pode reduzir quanto o teor de amilose pode aumentar, o critério de seleção tem que ser mais rigoroso, pois se pode correr o risco de uma cultivar selecionada em Santa Vitória não ser aceita para cultivo nas demais regiões por má aparência de grão (índice de centro branco mais alto) ou por problema de cocção (pegajosidade) devido à redução no teor de amilose.

De maneira geral os valores de herdabilidade, calculados a partir da análise conjunta dos três ambientes, foram altos para os caracteres avaliados (Tabela 2.6). Maiores herdabilidades foram obtidas para os caracteres estatura de planta, teor de amilose, florescimento e índice de centro branco. Os resultados deste trabalho, assim como de anteriores sobre estatura de planta (Jennings et al., 1979) e teor de amilose (McKenzie e Rutger, 1983; Kumar e Khush, 1987; Amano, 1997; Li et al., 2003) indicam que estes caracteres são controlados por poucos genes, o que explicaria a alta herdabilidade obtida. Em relação ao índice de centro branco, a herdabilidade obtida (0,59) foi semelhante a observada por Kamijima (1997), entre 0,53 e 0,89. Neste trabalho, dois genes independentes foram responsáveis pelos caracteres estatura e teor de amilose e quatro genes pelo índice de centro branco (Tabela 2.5). Isto significa que, durante o processo de seleção destes caracteres, a maior parte da variabilidade fenotípica observada é decorrente de efeitos genéticos, sendo portanto eficiente a seleção.

A herdabilidade alta para ciclo até o florescimento também foi em função da variância genética representar a maior parte da variância fenotípica. O ciclo precoce, por sua vez, é uma das alternativas para as regiões com maior probabilidade de ocorrência de baixas temperaturas no período reprodutivo, como forma de escape ao frio nas semeaduras tardias. Em trabalho para determinar se havia uma relação entre duração do ciclo e tolerância ao frio, Farrel et al. (2005) concluíram que estes caracteres são independentes e a tolerância poderia ser melhorada em cultivares com diferentes ciclos.

O rendimento de grãos, a esterilidade de espiguetas e o número de grãos por panícula apresentaram herdabilidades intermediárias, provavelmente por serem caracteres quantitativos e muito influenciados pelo ambiente.

TABELA 2.6. Variância aditiva (VA), variância fenotípica (VP) e herdabilidade no sentido restrito ( $h^2_r$ ) para as características fenotípicas da população de LR, em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar, no estado do Rio Grande do Sul, através da análise conjunta dos três ambientes. UFRGS, 2006.

<b>Característica</b>	<b>VA</b>	<b>VP</b>	<b><math>h^2_r</math></b>
Rendimento de grãos	576836,2	1295430	0,45
Florescimento	22,43401	27,51178	0,82
Estatuta de planta	120,1418	131,9465	0,91
Esterilidade de espiguetas	36,15394	82,90687	0,44
Grãos por panícula	273,2685	546,0828	0,50
Índice de centro branco	0,08215	0,13839	0,59
Teor de amilose	7,357775	8,690085	0,85

Pela importância do rendimento de grãos e pela possibilidade de haver características associadas geneticamente que auxiliem no processo de seleção, determinou-se as correlações fenotípicas, ambientais e genotípicas entre este e as demais características avaliadas (Tabela 2.7). Para estimativa dos coeficientes de correlação entre o rendimento de grãos e as demais características foram utilizados os dados do Ambiente 1, considerando que neste ambiente não houve nenhum fator biótico ou abiótico que tenha prejudicado as avaliações previstas.

Não houve correlação entre rendimento de grãos e as variáveis duração do período da emergência ao florescimento e teor de amilose. Linhagens que possuem ciclo mais longo em geral ficam mais expostas à ocorrência de baixas temperaturas no final do ciclo, no estágio reprodutivo, aumentando a esterilidade e diminuindo os rendimentos.

Entre rendimento de grãos e os caracteres estatura de planta e índice de centro branco houve somente correlação ambiental. No caso de estatura de planta que, em trabalho anterior com população índica x japônica (Lopes, 2002b), mostrou correlação negativa, neste estudo, embora negativa, não foi significativa. A correlação ambiental foi provavelmente pelas linhagens em geral terem apresentado menor crescimento vegetativo em Santa Vitória do

TABELA 2.7. Correlações fenotípicas, ambientais e genotípicas entre rendimento de grãos e demais variáveis avaliadas. UFRGS, 2006.

Caracteres	Correlações		
	Fenotípicas	Ambientais	Genotípicas
Ciclo até a floração (FLR80)	0,085 <sup>ns</sup>	0,059 <sup>ns</sup>	0,093 <sup>ns</sup>
Estatura de planta (ESTAT)	-0,051 <sup>ns</sup>	0,279*	-0,088 <sup>ns</sup>
Esterilidade de espiguetas (STESP)	-0,439**	-0,376**	-0,461**
Número de grãos por panícula (GRPAN)	0,362**	0,283*	0,387**
Índice de centro branco nos grãos(CBGR)	0,120 <sup>ns</sup>	0,375**	0,044 <sup>ns</sup>
Teor de amilose nos grãos (AMYGR)	0,128 <sup>ns</sup>	0,070 <sup>ns</sup>	0,143 <sup>ns</sup>

$t_{(0,01;70)} = 0,302$ ;  $t_{(0,05;70)} = 0,232$

Palmar em relação à Cachoeirinha (Figura 2.3), o que na média representou redução de 13 cm, resultando com isso em menores rendimentos.

Quanto ao índice de centro branco, a correlação ambiental pode ter sido devido a esta característica ser influenciada principalmente por temperaturas mais elevadas. Em Cachoeirinha, onde os rendimentos foram mais elevados, também o índice de centro branco foi mais alto devido às temperaturas médias superiores às de Santa Vitória do Palmar, confirmando observações de Jennings et al. (1979).

As variáveis esterilidade de espiguetas e número de grãos por panícula apresentaram correlações genéticas significativas com rendimento de grãos, significando que há genes envolvidos entre cada um dos caracteres e rendimento de grãos. Estes dois componentes foram correlacionados de maneira distinta, sendo a esterilidade correlacionada de maneira negativa e o número de grãos por panícula de forma positiva, indicando que a seleção em um destes dois caracteres pode melhorar o rendimento de grãos. A esterilidade de espiguetas é um dos fatores mais importantes no processo de seleção para tolerância ao frio, principalmente para avaliação no estágio reprodutivo. Embora tenha sido mais alta devido ao cruzamento índica x japônica, a esterilidade foi um dos fatores que mais afetou o rendimento de grãos.

Com base nestes resultados, a seleção indireta para rendimento de grãos poderia ser realizada através dos caracteres esterilidade de espiguetas e número de grãos por panícula, que apresentaram correlações genotípicas

significativas. Contudo, no campo o critério de seleção pela esterilidade de espiguetas é de mais fácil visualização pela correlação com o estresse de frio (Yoshida, 1981) ou pela impossibilidade de medir o rendimento de plantas individuais no momento da seleção (Rangel et al., 2000).

Em relação à estimativa dos ganhos esperados pela seleção direta no rendimento de grãos e na esterilidade de espiguetas e indireta nos demais caracteres, e baseada no índice clássico de seleção, empregando-se a intensidade de seleção de 14 % (seleção das 10 melhores linhagens), os resultados encontram-se na Tabela 2.8. O ganho estimado para rendimento de grãos com seleção direta das 10 melhores linhagens foi de 1011 kg ha<sup>-1</sup> (19,2 %) em relação à média original. Neste caso, a média das 10 linhagens selecionadas, que foi de 7718 kg ha<sup>-1</sup>, é superior à média do genitor Quilla 64117 (7335 kg ha<sup>-1</sup>). Isto mostra que foram obtidas linhagens com potencial produtivo similar aos genitores da população, principalmente em relação ao genitor adaptado IRGA 417 (9070 kg ha<sup>-1</sup>). Em relação aos demais caracteres, os ganhos mais significativos foram para esterilidade de espiguetas (-10,0 %). O índice de centro branco não foi incluído no ganho de seleção, pois houve aumento de 10,7 %, e o desejável é reduzir o mesmo.

Estimando-se os ganhos esperados pela seleção direta para esterilidade de espiguetas e indireta para as demais características, obteve-se o maior ganho para este caráter (-19,8 %) (Tabela 2.8). Além disso, houveram ganhos principalmente para estatura de planta (-7,4 %) e índice de centro branco (-12,2 %). Embora o ganho total (124,6 %) tenha sido superior ao obtido pela seleção direta para rendimento de grãos, os ganhos em rendimento foram pequenos (33,3 %), em relação à seleção direta para rendimento de grãos. Isto evidencia a importância do rendimento de grãos que, em muitas situações, os genótipos embora mostrem esterilidade acima do normal, apresentam rendimentos de grãos que compensam a maior esterilidade.

A seleção através do índice clássico, em que se atribuiu maiores pesos para rendimento de grãos (10) e esterilidade de espiguetas (5), mantendo-se o índice (1) para os demais caracteres, os ganhos para rendimento de grãos foram muito similares aos ganhos através da seleção direta para rendimento e o ganho total foi 10,0 % superior. A redução na estatura de planta (-4,7 %) foi

TABELA 2.8. Estimativa dos ganhos esperados pela seleção direta no rendimento de grãos e na esterilidade de espiguetas e indireta nos demais caracteres, e baseada no índice clássico de seleção, expressas em valor (Gs) e em porcentagem da média (Gs %), referentes aos caracteres rendimento de grãos (REND; kg ha<sup>-1</sup>), ciclo até a floração (FLR80; dias), estatura de planta (ESTAT; cm), esterilidade de espiguetas (STESP; %), número de grãos por panícula (GRPAN), índice de centro branco nos grãos (CBGR) e teor de amilose nos grãos (AMYGR; %), empregando-se a intensidade de seleção de 14%. UFRGS, 2006.

Característica	Seleção direta para REND		Seleção direta para STESP		Seleção através do índice clássico	
	Gs	GS %	Gs	GS %	Gs	GS %
REND	1011,4	19,2	336,3	6,4	996,5	19,0
FLR80	-0,149	-0,2	-1,335	-1,7	0,221	0,3
ESTAT	-3,849	-4,4	-6,442	-7,4	-4,111	-4,7
STESP	-3,353	-10,0	-6,612	-19,8	-2,647	-7,9
GRPAN	6,859	6,3	-3,595	-3,3	9,450	8,7
CBGR <sup>3</sup>	(0,059)	(10,7)	-0,068	-12,2	(0,044)	(7,9)
AMYGR	0,383	1,7	0,298	1,3	1,229	5,4
<b> Ganho Total </b>	<b>1026,0</b>	<b>41,8</b>	<b>354,7</b>	<b>52,1</b>	<b>1014,1</b>	<b>46,0</b>
ES <sup>1</sup> <sub>(REND)</sub>	-	(100)	-	33,3	-	99,0
ES <sup>2</sup> <sub>(Ganho total)</sub>	-	(100)	-	124,6	-	110,0

<sup>1</sup> Eficiência da seleção para o caráter REND comparado com o GS (%) obtido com a seleção direta para REND; <sup>2</sup> Eficiência da seleção para ganho total comparado com o GS total (%) obtido com a seleção direta para REND; <sup>3</sup> Caráter não incluído no ganho de seleção quando houve aumento, pois o desejável é reduzir o mesmo.

semelhante e a redução na esterilidade de espiguetas (-7,9 %) foi um pouco menor que pela seleção direta para rendimento. Os ganhos mais importantes pelo índice de seleção clássico em relação à seleção direta para rendimento foram para os caracteres número de grãos por panícula, que passou de 6,3 % para 8,7 % e teor de amilose que aumentou de 1,7 % para 5,4 %, mostrando a vantagem deste método. Como na seleção direta, houve aumento do índice de centro branco, e assim, este caráter não foi incluído no ganho de seleção.

Comparando-se as 10 linhagens selecionadas através da seleção direta para rendimento e pelo índice clássico, verificou-se que nove foram as mesmas e que nas primeiras quatro não houve mudança na ordem das linhagens selecionadas. Pela seleção direta para esterilidade de espiguetas apenas duas foram comuns aos outros dois tipos de seleção, entre elas a que foi a mais produtiva no experimento.



De uma maneira geral, as mudanças das médias das características como resultado do processo de seleção estão de acordo com o desejável pelo melhorista, ou seja, buscar plantas que apresentem principalmente maior rendimento de grãos e menores estatura de planta e esterilidade de espiguetas. Estes resultados são semelhantes aos obtidos por Rangel et al. (1998) e por Lopes (2002b) em estudos realizados em populações índica x japônica.

Embora a população testada tenha sido obtida sem nenhum tipo de seleção, as linhagens mostraram a propensão de acumular os caracteres do genitor da subespécie índica (IRGA 417), como estatura, número de grãos por panícula e índice de centro branco nos grãos, assim como tipo de grão longo-fino (dados não mostrados). Conduzida de forma diferente, através de seleção, em estudo na população de seleção recorrente CNA 11, Lopes (2002b) observou que à medida que aumentava a intensidade de seleção aumentava a frequência de alelos da subespécie índica e reduzia a dos alelos da subespécie japônica.

Por este estudo, realizado em uma população de linhagens provenientes de um cruzamento entre genitores das subespécies índica e japônica, com ampla divergência genética, mesmo com um número pequeno de linhagens, pode-se inferir que apesar da alta porcentagem de esterilidade, é fácil recuperar linhagens com características governadas por poucos genes e de alta herdabilidade (menor influência do ambiente) como estatura de planta, ciclo, índice de centro branco e teor de amilose.

Em relação à questão do cruzamento índica x japônica, as indicações são de que é possível obter linhagens recombinantes com características desejáveis de tolerância ao frio da subespécie japônica e com características de planta e grão da subespécie índica, que atendam ao mercado consumidor.

#### 2.4. CONCLUSÕES

A população de linhagens recombinantes apresenta alta variabilidade genética para todos os caracteres avaliados, o que possibilita seleção de linhagens com características requeridas pelo mercado, a partir de genitores divergentes (cruzamento índica x japônica).

Os caracteres estatura de planta, índice de centro branco e teor de amilose apresentam altos valores de herdabilidade e estão sob controle de poucos genes, facilitando a seleção e a obtenção de progressos nestas características.

## CAPÍTULO III

### **CARACTERIZAÇÃO FENOTÍPICA DE UMA POPULAÇÃO ÍNDICA X JAPÔNICA DE ARROZ IRRIGADO (*Oryza sativa* L.) PARA TOLERÂNCIA AO FRIO**

#### 3.1. INTRODUÇÃO

O arroz é cultivado desde o norte da China, a uma latitude de 53° N, até o sul da Austrália, a 35° S, desde o nível do mar até altitudes acima de 2000 metros na Kashmira, entre Índia e Nepal. Temperaturas extremas prejudicam o crescimento das plantas e, em consequência, determinam o ambiente onde o ciclo de vida da planta pode se completar (Yoshida, 1981). Em relação ao frio, para o arroz, os danos mais comuns são: falhas na germinação, atraso na emergência de plântulas, redução na estatura de planta, descoloração de folhas, degeneração e exerceção incompleta da panícula, atraso na floração, alta esterilidade de espiguetas e maturação irregular (Yoshida, 1981).

Embora difíceis de serem estimados, os prejuízos causados pelo frio ocorrem de maneira cíclica a cada três ou quatro anos (Nishiyama, 1995; Oliver, 2004; Cruz, 2006). A porcentagem de esterilidade de espiguetas, que normalmente varia entre 10 e 12%, pode aumentar até 60% quando a temperatura durante a floração for inferior a 20°C (Alvarado, 1999) e temperaturas noturnas menores de 18°C são um dos fatores ambientais mais prejudiciais, podendo causar perdas de 5 a 25 % no rendimento de grãos (Oliver, 2004).

A tolerância ao frio é a capacidade que apresentam certas cultivares de suportar a ocorrência de baixas temperaturas, sem redução importante no rendimento de grãos. Manifesta-se principalmente na fase de emergência, quando as plântulas toleram temperaturas de solo ao redor de 13°C e apresentam rápida emergência, bom vigor inicial e folhas de coloração verde normal; no período reprodutivo, quando as plantas toleram temperaturas em

torno de 15°C, especialmente nas fases de microsporogênese e floração, sem apresentar esterilidade superior a 15%, sem apresentar má exerceção de panícula e duração maior de 7 dias entre o início e o fim da floração. As plantas não devem, ainda, mostrar muita variação na estatura, tanto com temperaturas baixas como em condições de ambiente favorável (Terres et al., 1985a).

Estudos realizados com o objetivo de entender a herança da capacidade de germinação sob baixa temperatura relatam que cerca de cinco genes estariam envolvidos no controle do caráter. Foram observadas ações gênicas aditivas e de dominância e que os genes dominantes foram acumulados nas cultivares com alta capacidade de germinação (Sasaki, 1977, apud Takahashi, 1997). Estes resultados são corroborados por estudos recentes com mapeamento de características quantitativas, em que foram identificados cinco QTLs controlando a germinabilidade à baixa temperatura em arroz (Miura et al., 2001, 2004). Em outro trabalho realizado por Hou et al. (2004) visando mapear QTLs para germinabilidade à baixa temperatura, foram detectados quatro QTLs, sendo três pela primeira vez e um estaria muito próximo ao identificado por Miura et al. (2001). Entretanto, recentemente foi identificado um gene maior de grande efeito para germinabilidade à baixa temperatura em arroz, o que poderá contribuir muito para o melhoramento e a manipulação desta característica nos programas de melhoramento (Fujino, 2004).

A tolerância ao frio durante o estágio vegetativo também é importante, especialmente em semeaduras de arroz no início do período recomendado, para garantir a obtenção de estande uniforme e estabelecimento rápido da cultura. Kwak et al. (1984) relataram que a tolerância ao frio que previne a clorose de cultivares japônicas é controlada por um ou dois genes maiores. Nagamine & Nakagahra (1991) realizaram cruzamentos recíprocos entre cultivares tolerantes e sensíveis ao frio no estágio de plântula e observaram que as plantas F1 foram todas tolerantes e, nas populações F2, foi observada relação de segregação monogênica de 3:1. Em estudo realizado por Andaya e Mackill (2003a), foi concluído que um QTL no cromossomo 12 em arroz foi responsável por aproximadamente 40 % da variação fenotípica para tolerância ao frio no estágio vegetativo. Todos estes trabalhos demonstram que um ou poucos genes estariam envolvidos no controle genético da tolerância neste estágio.

A esterilidade causada por baixas temperaturas parece estar sob controle poligênico, sendo os genes efetivos localizados nos grupos de ligação 2, 6, 9 e 11 (Sano, 1997). Trabalho semelhante realizado por Shibuya (1973), apud Sano (1997), avaliando a esterilidade de espiguetas sob baixas temperaturas, estimou que os genes correspondentes estavam localizados nos grupos de ligação 2 e 11.

Até recentemente, conhecia-se pouco sobre os locos que controlam a tolerância ao frio no estágio reprodutivo, por ser um caráter de herança quantitativa. Contudo, o desenvolvimento de mapas moleculares possibilitou a análise de QTLs, sendo que vários destes QTLs para tolerância ao frio neste estágio têm sido identificados (Saito et al., 2001, 2004; Andaya & Mackill, 2003b).

Buscando mapear a tolerância ao frio no estágio reprodutivo, Saito et al. (2001) concluíram que havia no mínimo dois QTLs para tolerância ao frio, no cromossomo 4, denominados *Ctb-1* e *Ctb-2*. Além disso, os resultados indicaram que ambos estavam associados com maior tamanho de antera, provavelmente pela maior produção de pólen. Posteriormente, Saito et al. (2004) realizaram o mapeamento físico do QTL *Ctb-1* e confirmaram a associação de *Ctb-1* com tamanho de antera, o qual seria um dos principais fatores para tolerância ao frio no estágio reprodutivo.

Em trabalho realizado com objetivo de entender o mecanismo molecular da esterilidade induzida pelo frio em arroz, foi determinado que a baixa temperatura no estágio de micrósporo jovem causou acúmulo de sacarose nas anteras e reduziu a deposição de amido no grão de pólen maduro. A interrupção do metabolismo e do transporte de açúcar durante a ocorrência do frio poderia causar a redução na viabilidade do pólen (Oliver, 2004).

O grau de exerceção de panícula também é uma característica afetada pelo frio, sendo observada exerceção completa em genótipos tolerantes e incompleta em genótipos sensíveis. A base genética deste caráter é simples e depende do germoplasma estudado. Em estudo conduzido com genótipos indianos, Mahishi et al. (1991) relataram um gene dominante e, em trabalho com genótipos chilenos, Cruz (2001) identificou um gene recessivo controlando o caráter.

No estado do Rio Grande do Sul, a introdução do caráter tolerância ao frio nas cultivares de arroz está relacionada principalmente à origem tropical (índica) das cultivares utilizadas e à localização geográfica (região temperada), que combina genótipos sensíveis com ocorrência de baixas temperaturas nos estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo da cultura. As regiões mais afetadas por baixas temperaturas são a Campanha e o Litoral Sul do Estado, que juntas representam mais de 33 % da área do RS, significando em torno de 345.000 ha (IRGA, 2006b).

Em uma estratégia de curto prazo, a obtenção de genótipos com maior tolerância ao frio nos estádios de germinação e de plântula possibilitaria a antecipação da semeadura e, com isso, as fases vegetativa e reprodutiva ocorreriam durante o período de maior disponibilidade de radiação solar dos meses de dezembro e janeiro nas regiões do Litoral Sul e Campanha. Desta maneira, o estágio reprodutivo também se desenvolveria em um período de menor risco de ocorrência de temperaturas prejudiciais nessas regiões (Steinmetz et al., 1999)

A estratégia de desenvolver genótipos com maior vigor ou tolerância nos estádios de germinação e plântula no RS é semelhante ao objetivo atual no Japão, o qual é considerado de alta prioridade, visando o estabelecimento da semeadura direta para reduzir os custos de produção (Miura et al., 2004) e também na China, visando a adaptação à semeadura direta (Hou et al., 2004; Zhang et al., 2005). Dentro deste objetivo são reconhecidas três características necessárias para o estabelecimento deste sistema de semeadura: germinabilidade à baixa temperatura, longevidade de sementes e rápido crescimento do coleóptilo.

A menor disponibilidade de fontes de tolerância dentro da subespécie índica, a dificuldade de obtenção de recombinantes com fontes da subespécie japônica e a falta de métodos de avaliação adequados para identificar genótipos superiores têm contribuído para o pequeno êxito obtido nesta área. Neste aspecto, trabalhos tem sido desenvolvidos visando estabelecer metodologia de avaliação sob condições controladas (Mejia, 1988; Cruz, 2001).

Com relação à identificação de fontes, em um trabalho visando caracterizar um grupo de 117 cultivares usando marcadores RAPD, foi encontrada considerável diversidade dentro das subespécies índica e japônica

(tropical e temperado) sendo que o grupo de cultivares da subespécie japônica temperada apresentou maior tolerância ao frio e maior vigor no estágio de plântula, menor atraso na floração, maior exerceção de panícula e menor debulha que as cultivares índicas (Mackill et al., 1997)

As duas principais hipóteses levantadas na realização do presente trabalho foram: o cruzamento de um genótipo tolerante (Quilla 64117) com um sensível (IRGA 417) gera linhas com ampla variabilidade para o caráter tolerância ao frio e os mecanismos de herança são diferentes e independentes nos diferentes estádios de desenvolvimento.

O objetivo do trabalho foi avaliar a população de linhagens recombinantes quanto à tolerância ao frio nos estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo, buscando estudar a herança e a herdabilidade da tolerância nestes estádios.

### 3.2. MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho compreendeu a avaliação de 71 linhagens recombinantes e dois genitores quanto à tolerância ao frio nos estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo sob condições de temperatura controlada, na Estação Experimental do Arroz, em Cachoeirinha-RS, conforme metodologias descritas por Mejia (1988) e Cruz (2001). A tolerância ao frio no estágio vegetativo também foi avaliada a campo em experimento realizado na Subestação de Santa Vitória do Palmar, do Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), na safra 2005/06.

A população usada neste estudo é originária do cruzamento entre a cultivar IRGA 417 (índica) e a linhagem Quilla 64117 (japônica). A cultivar IRGA 417, genitor sensível ao frio, possui grãos longos e finos, é largamente utilizada no estado do Rio Grande do Sul e foi lançada pelo programa de melhoramento genético do Instituto Rio Grandense do Arroz no ano de 1995. A linhagem Quilla 64117, genitor tolerante ao frio, é uma linhagem de grãos longos, do programa de melhoramento genético do Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA) do Chile.

A população de linhagens recombinantes foi obtida pelo método do descendente de uma única semente ou SSD (Single Seed Descent), sem nenhum tipo de seleção durante o processo. Uma panícula foi colhida de cada

planta individual na geração  $F_2$  e uma semente de cada panícula, escolhida ao acaso, foi semeada em vasos para obter as plantas  $F_3$ . Este procedimento foi continuado nas gerações seguintes até serem obtidas as sementes  $F_6$ . As plantas foram cultivadas em casa de vegetação na Estação Experimental do Arroz, em Cachoeirinha (latitude  $29^\circ$  S), de setembro/2002 a janeiro/2003, de agosto a dezembro/2003 e de janeiro a maio/2004, para obtenção de sementes das gerações  $F_3$ ,  $F_4$  e  $F_5$ , respectivamente. As sementes  $F_6$  obtidas de uma única planta de cada vaso foram multiplicadas em Penedo/AL (latitude  $10^\circ$  S), de junho a outubro/2004, onde foi semeada uma linha de cada planta  $F_6$  (linhagem). Na maturação foi colhida toda a linha para obtenção de semente  $F_{6:7}$  suficiente para os ensaios.

### 3.2.1. Avaliação no estágio de germinação

Neste experimento, as sementes dos genitores e das linhagens foram colocadas em papel germinador plissado e, em cada dobra do papel foram dispostas dez sementes, tomando-se o cuidado de colocá-las com o lado onde se encontra o embrião voltado para cima. A seguir, o papel germinador foi umedecido com solução do fungicida Triadimenol (Baytan SC<sup>®</sup>), na concentração de 1%, para evitar contaminação. O papel germinador plissado foi mantido dentro de uma bandeja com tampa durante todo o período dentro da BOD e a temperatura utilizada foi de  $13^\circ\text{C}$  por 21 dias. Após este período, as sementes foram avaliadas quanto ao comprimento do coleóptilo, que corresponde ao estágio de crescimento  $S_0$  ( $S_0$  a  $S_3$ ) (Counce et al., 2000). O experimento foi conduzido no delineamento completamente casualizado, com duas repetições, sendo a média das dez sementes em cada dobra do papel considerada uma repetição. Ao mesmo tempo, outras 20 sementes de cada genótipo, com duas repetições de dez sementes, foram colocadas para germinar sob temperatura de  $28^\circ\text{C}$  (controle) e, após sete dias, os coleóptilos foram medidos. A tolerância ao frio neste estágio foi calculada pela porcentagem de redução no comprimento do coleóptilo pela germinação à baixa temperatura em relação à germinação na temperatura de  $28^\circ\text{C}$  (controle).

### 3.2.2. Avaliação no estágio vegetativo



Inicialmente os genótipos foram colocados para germinação sob temperatura de 28°C. As sementes foram colocadas em papel germinador plissado umedecido com solução fungicida Triadimenol (Baytan SC®), na concentração de 1%, para evitar contaminação. Após cinco dias em câmara de germinação, quando as plântulas atingiram cerca de 3 a 4 cm, as mesmas foram transplantadas para bandejas de células alveoladas contendo solo, sendo colocada uma planta por célula. O experimento foi conduzido no delineamento de blocos casualizados, com duas repetições, sendo cada parcela composta de cinco plantas. Após o transplante, as bandejas contendo os genótipos foram mantidas em casa de vegetação com temperatura de 28°C até que as plantas atingissem o estágio de crescimento V3 (Counce et al., 2000). Neste estágio, os genótipos foram levados para câmara de crescimento e submetidos à temperatura de 10°C por 10 dias no escuro. Após este período, as plantas foram colocadas novamente em casa de vegetação a 28°C por sete dias e a seguir avaliou-se a sua porcentagem de sobrevivência.

### 3.2.3. Avaliação no estágio reprodutivo

Neste experimento, as sementes dos genótipos foram germinadas da mesma forma que no experimento anterior e após foram transplantadas para copos, deixando-se uma plântula por copo, os quais foram mantidos em casa de vegetação até o início de emissão das panículas. O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada planta uma repetição. No início de emissão das panículas (florescimento), estágio de crescimento R3 (Counce et al., 2000), quando as primeiras espiguetas foram expostas pela abertura da bainha, as plantas foram levadas para uma sala climatizada à temperatura de 15°C e fotoperíodo de 12 horas de luz/ 12 horas de escuro por sete dias. Este procedimento foi realizado com quatro repetições de cada genótipo. Após este período, estas plantas foram colocadas novamente em casa de vegetação até a completa maturação. Ao mesmo tempo, as outras quatro plantas (quatro repetições) de cada genótipo foram mantidas durante todo o tempo do experimento em casa de vegetação, sob temperatura de 28°C. A tolerância ao frio neste estágio foi calculada pela porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas dos

genótipos comparando-se os valores obtidos sob baixa temperatura com relação à fertilidade na temperatura de 28°C (controle).

#### 3.2.4. Avaliação no estágio vegetativo a campo

A avaliação neste estágio foi realizada na subestação de Santa Vitória do Palmar, no experimento destinado à avaliação de características fenotípicas, semeado em 10 de novembro de 2005 e com emergência das plântulas em 18 de novembro 2005. As parcelas experimentais foram constituídas de seis sulcos espaçados de 0,20 m e com 3 m de comprimento, sendo as sementes distribuídas com auxílio de uma semeadora mecanizada. O delineamento experimental foi o de blocos ao acaso, com três repetições.

A avaliação da tolerância ao frio foi realizada 20 dias após a emergência, com as plantas entre os estádios de crescimento vegetativo V3 e V4 (Counce et al., 2000). Nos seis dias anteriores à avaliação as temperaturas médias das mínimas, médias e máximas foram 11,7°C, 17°C e 22,3°C, respectivamente. A leitura visual foi efetuada observando-se as diferenças de descoloração das folhas (amarelecimento), utilizando escala de 0 a 9 (em que 0 = tolerante e 9 = sensível) (CIAT, 1983).

#### 3.2.5. Análise estatística

Foram realizadas análises de variância para os quatro experimentos, conforme os dois delineamentos utilizados. Para os experimentos realizados sob condições controladas, em delineamento inteiramente casualizado, o modelo estatístico adotado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + \epsilon_{ij},$$

em que  $Y_{ij}$  é o valor da característica da  $i$ -ésima LR;  $\mu$  é a média geral;  $G_i$  é o efeito da  $i$ -ésima LR ( $i=1,2,\dots,g$ ) e  $\epsilon_{ij}$  é o erro aleatório,  $\epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$ .

Para o experimento realizado a campo, em delineamento de blocos ao acaso, o modelo estatístico adotado foi o seguinte:

$$Y_{ij} = \mu + G_i + B_j + \epsilon_{ij},$$

em que  $Y_{ij}$  é o valor da característica da  $i$ -ésima LR no  $j$ -ésimo bloco;  $\mu$  é a média geral;  $G_i$  é o efeito da  $i$ -ésima LR ( $i=1,2,\dots,g$ );  $B_j$  é o efeito do  $j$ -ésimo bloco ( $j=1,2,\dots,r$ ) e  $\epsilon_{ij}$  é o erro aleatório,  $\epsilon_{ij} \sim \text{NID}(0, \sigma^2)$ .

O esquema da análise de variância, com as respectivas esperanças dos quadrados médios dos dois modelos, encontra-se na Tabela 3.1.

Os dados foram submetidos à análise de variância e a relação entre as variáveis foi verificada através do cálculo do coeficiente de correlação de Pearson. As análises foram realizadas no programa SAS (Statistical Analysis System) (SAS Institute, 2000).

Com base na análise de variância determinaram-se os seguintes parâmetros genéticos:

**Variância do erro ( $\sigma^2_e$ )** – corresponde ao quadrado médio do erro (QM<sub>e</sub>) da Tabela 3.1.

**Variância fenotípica ( $\sigma^2_p$ )** – calculada com base na fórmula abaixo:

$$\sigma^2_p = \sigma^2_e + \sigma^2_g$$

**Variância genotípica ( $\sigma^2_g$ )** – calculada com base na esperança do quadrado médio de genótipos (QM<sub>g</sub>) conforme fórmula abaixo:

$$\sigma^2_g = (QM_g - QM_e) / r$$

**Herdabilidade ( $h^2$ )** – a análise da variância foi usada para a partição da variância total em componentes genéticos e ambientais. A estimativa da herdabilidade no sentido restrito foi calculada pela fórmula abaixo:

$$h^2_r = \sigma^2_g / (\sigma^2_g + \sigma^2_e / r)$$

Onde:

$\sigma^2_g$  = variância genotípica;

$\sigma^2_e$  = variância do erro;

r = número de repetições.

A herança das características fenotípicas foi analisada através das distribuições de freqüência na população de LR e do teste do qui-quadrado.

As classes intermediárias de menor freqüência do histograma, em cada

TABELA 3.1. Esquema da análise de variância dos modelos inteiramente casualizado e em blocos ao acaso. UFRGS, 2006.

Fonte de Variação	GL	QM	E(QM)	F
<b>Inteiramente casualizado</b>				
Genótipos	g-1	QM <sub>g</sub>	$\sigma_e^2 + r \sigma_g^2$	QM <sub>g</sub> / QM <sub>e</sub>
Erro	G(r-1)	QM <sub>e</sub>	$\sigma_e^2$	
<b>Blocos ao acaso</b>				
Blocos	r-1	QM <sub>b</sub>	$\sigma_e^2 + g \sigma_r^2$	
Genótipos	g-1	QM <sub>g</sub>	$\sigma_e^2 + r \sigma_g^2$	QM <sub>g</sub> / QM <sub>e</sub>
Erro	(r-1)(g-1)	QM <sub>e</sub>	$\sigma_e^2$	

um dos caracteres analisados, foram utilizadas como ponto corte para a determinação do número de genes envolvidos. Assim sendo, linhagens com sobrevivência de plantas inferior a 60 % foram consideradas sensíveis, e aquelas com sobrevivência igual ou superior a este valor foram consideradas como tolerantes. Para o caráter redução na fertilidade de espiguetas, considerou-se como tolerantes as linhagens com redução inferior a 65 %, e como sensíveis aquelas com redução na fertilidade igual ou acima deste valor.

O valor do teste de qui-quadrado foi obtido pela fórmula:

$$\chi^2 = \sum [(F_o - F_e)^2 / F_e]$$

Onde:

F<sub>o</sub> = freqüência observada para cada classe;

F<sub>e</sub> = freqüência esperada para cada classe, com base na proporção mendeliana.

A proporção mendeliana testada foi a de 3:1, utilizando-se o valor tabelado de  $\chi^2$  de 3,84 com um grau de liberdade e ao nível 5% de significância.

**Correlações fenotípicas (r<sub>f</sub>) genotípicas (r<sub>g</sub>) e ambientais (r<sub>a</sub>) entre dois caracteres** – Os coeficientes de correlação entre dois caracteres X e Y foram

calculados conforme descrito por Cruz e Regazzi (1997), com auxílio das análises individuais de X e Y e da análise da soma dos valores de X e Y, de tal forma que os produtos médios (covariâncias) associados a cada fonte de variação, foram estimados pelas fórmulas:

$$\text{COV}_{(X,Y)} = [ V_{(X+Y)} - V_{(X)} - V_{(Y)} ] / 2$$

Onde:

$\text{COV}_{(X,Y)}$  = Covariância entre os caracteres X e Y;

$V_{(X+Y)}$  = variância da soma dos caracteres X e Y;

$V_{(X)}$  = variância do caráter X;

$V_{(Y)}$  = variância do caráter Y.

Os produtos médios médios associados a tratamento e resíduo são obtidos por meio das fórmulas:

$$\text{PMT}_{XY} = (\text{QMT}_{X+Y} - \text{QMT}_X - \text{QMT}_Y)/2$$

$$\text{PMR}_{XY} = (\text{QMR}_{X+Y} - \text{QMR}_X - \text{QMR}_Y)/2$$

Onde:

$\text{PMT}_{XY}$  = produto médio associado aos caracteres X e Y;

$\text{PMR}_{XY}$  = produto médio associado ao resíduo entre X e Y.

Com base nos resultados dos produtos médios ou covariâncias acima, calculam-se os coeficientes de correlação por meio das seguintes fórmulas:

Correlação fenotípica ( $r_f$ ):

$$r_f = \text{PMT}_{XY} / [\text{QMT}_X \cdot \text{QMT}_Y]^{1/2}$$

Correlação ambiental ( $r_a$ ):

$$r_a = \text{PMR}_{XY} / [\text{QMR}_X \cdot \text{QMR}_Y]^{1/2}$$

Correlação genotípica ( $r_g$ ):

$$r_g = \sigma_{gxy} / [\sigma_{gx}^2 \cdot \sigma_{gy}^2]^{1/2}$$

Sendo:

$$\sigma_{gxy} = [\text{PMT}_{XY} - \text{PMR}_{XY}] / r$$

$$\sigma_{gx}^2 = [\text{QMT}_X - \text{QMR}_X] / r$$

$$\sigma_{gy}^2 = [\text{QMT}_Y - \text{QMR}_Y] / r$$

em que:

$\sigma_{gxy}$  = estimador da covariância genotípica entre os caracteres X e Y ;

$\sigma_{gx}^2$  e  $\sigma_{gy}^2$  = estimadores das variâncias genotípicas dos caracteres X e

Y, respectivamente.

### 3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferenças significativas ( $P \leq 0,01$ ) entre as linhagens para os caracteres redução no comprimento do coleóptilo, sobrevivência de plantas, redução na fertilidade de espiguetas e tolerância ao frio no estágio vegetativo a campo, indicando variabilidade entre as mesmas (Tabela 3.2). Os coeficientes de variação indicaram boa precisão para redução no comprimento do coleóptilo (10,3%), aceitável para tolerância ao frio no campo (16,9%) e redução da fertilidade (20,1 %) e muito alta para sobrevivência de planta (77,1%). O  $CV_{exp}$  deste último caráter pode ter sido influenciado pelo tipo de avaliação e por envolver um tamanho reduzido de parcela, com cinco plantas por repetição, neste caso cada planta representaria a sobrevivência ou não de 20%.

As distribuições de freqüências das linhagens quanto à tolerância ao frio nos estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo, representadas pelos caracteres redução no comprimento do coleóptilo, sobrevivência de plantas e redução na fertilidade de espiguetas, respectivamente, encontram-se na Figura 3.1 e a tolerância ao frio no estágio vegetativo, avaliada a campo, encontra-se na Figura 3.2. Em relação ao estágio de germinação, as linhagens exibiram uma redução no comprimento do coleóptilo entre 21 e 87%, com média de 45%, mostrando-se, portanto, mais sensíveis que o genitor sensível IRGA 417 (43,2%), indicando segregação transgressiva para este caráter. Cinco linhagens apresentaram pequena redução no crescimento do coleóptilo (entre 20 e 29%), porém nenhuma linhagem apresentou grau de tolerância semelhante ao genitor tolerante Quilla 64117 (10,2%) (Tabela 3.3 e Figura 3.1a).

Quanto à tolerância ao frio no estágio vegetativo, as linhagens mostraram uma variação na sobrevivência de plantas de zero a 100%, com média de 24,3%. Houve uma distribuição das linhagens na maioria das classes de porcentagem de sobrevivência. Também ocorreu segregação transgressiva em relação ao genitor sensível IRGA 417 (10%), com 29 linhagens sendo mais sensíveis que o mesmo e apenas uma apresentou sobrevivência de 100%,

TABELA 3.2. Análise de variância para os caracteres redução no comprimento do coleóptilo (REDCOL), sobrevivência de plantas (SOBREV) e redução na fertilidade de espiguetas (REDFERT) avaliados sob condições controladas e tolerância ao frio no estágio vegetativo no campo (TOLCAMPO). UFRGS, 2006.

Fontes de variação	Quadrados médios <sup>1</sup>				
	GL	REDCOL	SOBREV	REDFERT	TOLCAMPO
LR	70	233,42**	1610,39**	1010,99**	4,3680**
Erro	$\nu^2$	21,61	351,65	223,16	0,6021
CV <sub>EXP</sub> (%)		10,3	77,1	20,1	16,9
R <sup>2</sup>		0,91	0,82	0,61	0,79

<sup>1</sup>\*\*= significativo a 1%; <sup>2</sup>GL para REDCOL (60), SOBREV (68), REDFERT (201) e TOLCAMPO (212), respectivamente.

TABELA 3.3. Estimativas dos parâmetros genéticos de 71 linhagens recombinantes (LR) para os caracteres redução no comprimento do coleóptilo (REDCOL), sobrevivência de plantas (SOBREV) e redução na fertilidade de espiguetas (REDFERT) avaliados sob condições controladas e tolerância ao frio no estágio vegetativo no campo (TOLCAMPO). UFRGS, 2006.

Parâmetros	Caracteres			
	REDCOL (%)	SOBREV (%)	REDFERT (%)	TOLCAMPO (nota 0-9)
$\sigma_{LR}$	45,0	24,3	74,3	4,6
$\sigma_p^2$	75,8	666,3	324,9	1,245
$\sigma_g^2$	54,2	314,6	101,7	0,643
$h_r^2$	0,71	0,47	0,31	0,51

sendo portanto igual ao genitor tolerante Quilla 64117 (Tabela 3.3 e Figura 3.1b).

Em relação à tolerância ao frio no estágio reprodutivo, as linhagens apresentaram porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas entre 35,5 e 98,6%, com média de 74,3%. Houve distribuição contínua das linhagens, com a maioria dentro das classes de maior sensibilidade ao frio. Doze linhagens mostraram redução na fertilidade maior que a do genitor sensível IRGA 417 (83,5%), portanto uma segregação transgressiva para sensibilidade e duas foram similares ao genitor tolerante Quilla 64117 (37,9%) (Tabela 3.3 e Figura 3.1c).

A tolerância ao frio no estágio vegetativo avaliada a campo mostrou variação entre 1 e 7, com média de 4,6 (Figura 3.2 e Tabela 3.3). Nove linhagens apresentaram grau de tolerância entre 1 e 3, semelhante ao genitor tolerante (Quilla 64117), escores que indicam potencial sob condições locais (Jennings et al., 1979). Várias linhagens mostraram-se mais sensíveis o genitor sensível (IRGA 417) indicando segregação transgressiva para sensibilidade.

Os resultados da cultivar IRGA 417 quanto à tolerância ao frio no campo, indicam que a mesma possui grau intermediário de tolerância neste estágio. Este comportamento pode estar relacionado a sua origem, pois a mesma foi obtida a partir de um cruzamento triplo (NEW REX / IR 19743-25-2-2 // BR-IRGA 409) que inclui a cultivar NEW REX (japonesa) no primeiro cruzamento, o que poderia explicar esse grau intermediário de tolerância, sendo por isso um genitor potencial para cruzamentos visando a transferência da tolerância para esta cultivar.

Como houve linhagens que apresentaram nível de tolerância semelhante ao genitor tolerante (Quilla 64117) nos estádios vegetativo e reprodutivo, pode-se inferir que não será difícil transferir a tolerância nestes dois estádios a partir desse genitor.

A herdabilidade no sentido restrito foi mais alta para o caráter redução no comprimento do coleóptilo (0,71) e mais baixa para o caráter redução na fertilidade de espiguetas (0,31) (Tabela 3.3). Para o caráter sobrevivência de plantas, a herdabilidade no sentido restrito foi de 0,47, a qual embora tenha mostrado alta variância genética, não foi maior em função da variância do erro que foi mais alto em relação ao dos outros dois caracteres. Da mesma forma, a



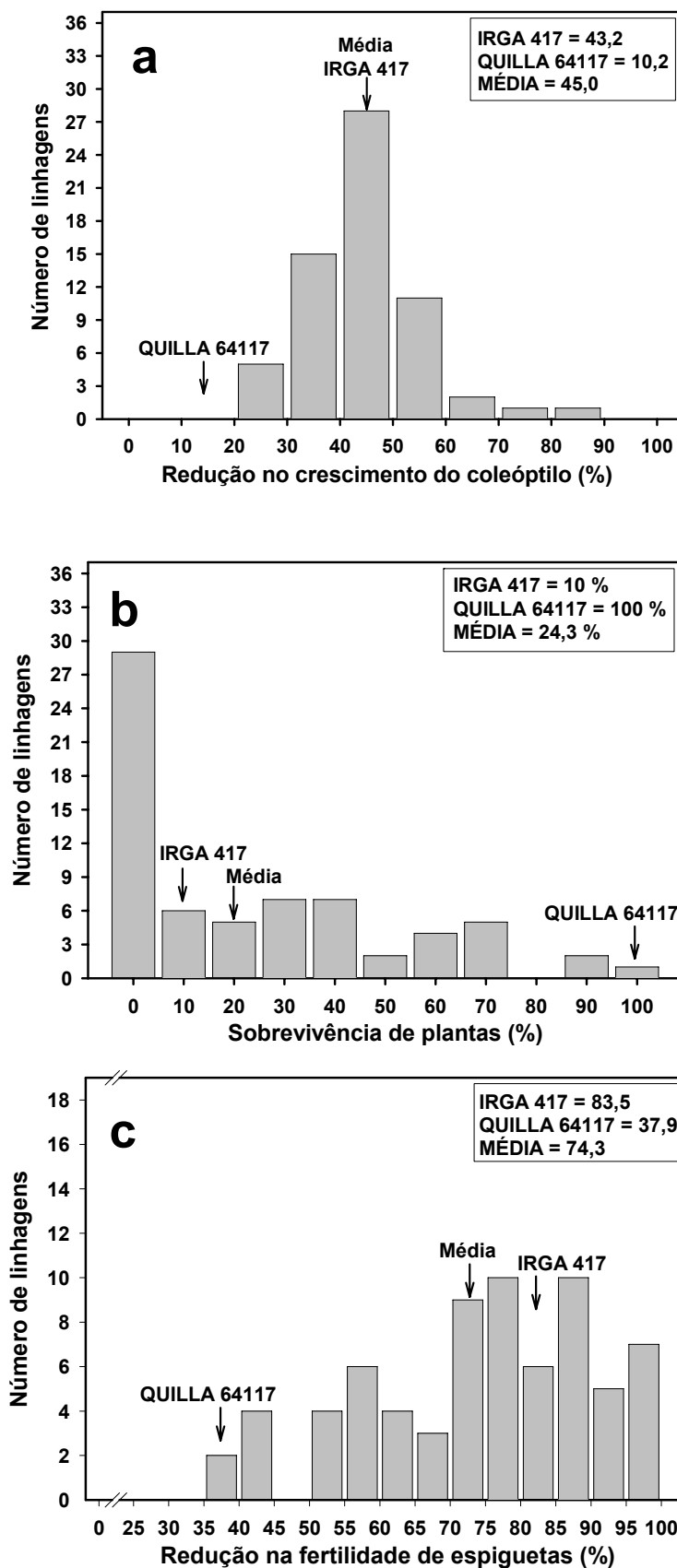


Figura 3.1. Distribuições de freqüência para os caracteres redução no comprimento do coleóptilo (a), sobrevivência de plantas (b) e redução na fertilidade de espiguetas (c) dos genótipos IRGA 417, Quilla 64117 e população de linhagens recombinantes. UFRGS, 2006.

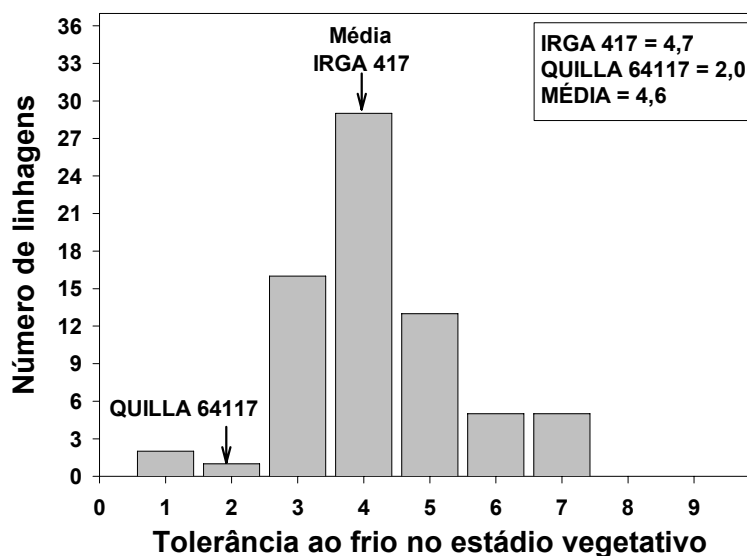


Figura 3.2. Distribuição de frequência para o caráter tolerância no estágio vegetativo a campo (TOLCAMPO) dos genótipos IRGA 417, QUILLA 64117 e população de linhagens recombinantes. UFRGS, 2006.

tolerância no campo no estágio vegetativo mostrou herdabilidade de 0,51, muito próxima a de sobrevivência de plantas. Sthapit & Witcombe (1998) encontraram valores similares de herdabilidade para o caráter índice de germinação (0,74 – 0,87). Em gerações segregantes precoces, a herdabilidade para a tolerância ao frio é moderada a alta (Sasaki, 1997; Cruz, 2001). Embora se tratando da mesma população, a herdabilidade não é somente uma propriedade do caráter, mas também da população e das condições de ambiente, maiores variações das condições reduzem a herdabilidade e maiores uniformidades das condições o aumentam (Falconer, 1987).

Os resultados de herdabilidade em cada um dos estádios de desenvolvimento sugerem que progressos devem ser obtidos através da seleção fenotípica, a qual poderá ser mais intensa nas primeiras gerações segregantes para tolerância ao frio na germinação e menos intensa nos estádios vegetativo e reprodutivo.

Considerando a distribuição contínua do caráter redução no comprimento do coleóptilo, e que nenhuma linhagem apresentou tolerância semelhante ao genitor Quilla 64117, ou seja, não recuperou o genitor tolerante, demonstrou que vários genes estão envolvidos na tolerância no estágio de germinação. No entanto, as proporções fenotípicas obtidas e analisadas pelo

TABELA 3.4. Valores de qui-quadrado para os caracteres sobrevivência de plantas (SOBREV) e redução na fertilidade de espiguetas (REDFERT) avaliados sob condição de temperatura controlada. UFRGS, 2006.

TOLERÂNCIA AO FRIO SOB TEMPERATURA CONTROLADA						
Caráter	Fenótipo	Observado	Esperado	Proporção	$\chi^2$	P
SOBREV	Sensível	56	51	3:1	1,961	0,161
	Tolerante	12	17			
REDFERT	Sensível	50	52,5	3:1	0,476	0,490
	Tolerante	20	17,5			

$$\chi^2_{.05}(1) = 3,84$$

teste de qui-quadrado (Tabela 3.4) indicaram que, para os caracteres sobrevivência de plantas e redução na fertilidade de espiguetas, dois genes independentes controlam cada um dos caracteres. A distribuição de frequência contínua para tolerância no estágio vegetativo no campo (Figura 3.2) também demonstrou que vários genes são responsáveis pelo controle deste caráter.

Para o estágio de germinação, onde vários genes estariam envolvidos, estes resultados estão de acordo com os estudos realizados por Hou et al. (2004), que detectaram quatro QTLs, e por Miura et al. (2001, 2004) que identificaram cinco QTLs controlando a capacidade de germinação à baixa temperatura. Entretanto, não concordam com o obtido por Fujino (2004), que identificou um gene maior de grande efeito para germinabilidade à baixa temperatura em arroz.

No estágio de plântula, em que as proporções fenotípicas indicaram que dois genes independentes estariam no controle do caráter, os resultados são muito semelhantes aos obtidos por Andaya & Mackill (2003b) que identificaram um QTL no cromossomo 12 responsável por 41 % da variação fenotípica para tolerância ao frio no estágio vegetativo, demonstrando que poucos genes estariam envolvidos no controle do caráter.

Em relação à tolerância ao frio no estágio reprodutivo, a maioria dos trabalhos relatam a existência de controle poligênico (Sano, 1997) ou por vários QTLs (Andaya & Mackill, 2003a). Os resultados do presente estudo estão de

acordo com os obtidos por Saito et al. (2001), que concluíram que havia, no mínimo, dois QTLs para tolerância ao frio no cromossomo 4, denominados *Ctb-1* e *Ctb-2*.

Considerando os resultados obtidos, a tolerância ao frio mostrou ser controlada por poucos genes nos estádios vegetativo e reprodutivo, tornando manejável a transferência ou o acúmulo de genes em um mesmo genótipo para cada um dos estádios de desenvolvimento.

A análise da associação entre os caracteres avaliados sob condição de temperatura controlada mostrou que houve correlação fenotípica e genotípica significativa entre os caracteres redução no comprimento do coleóptilo e redução na fertilidade de espiguetas (Tabela 3.5). Isto significa que as linhagens com menor redução no comprimento do coleóptilo também apresentaram menor porcentagem de redução na fertilidade de espiguetas, ou seja, a tolerância no estágio de germinação foi positivamente correlacionada com a tolerância no estágio reprodutivo. Entre os demais caracteres não houve correlação. Essa correlação obtida, embora baixa, difere de resultados anteriores que concluem que o controle genético da tolerância ao frio deve ser independente para os estádios estudados e a tolerância ao frio em uma fase do ciclo não está necessariamente relacionada com a tolerância em outras (Jennings et al., 1979; Datta et al., 1983). A causa de correlação genética é, principalmente, a pleiotropia, embora ligações gênicas sejam uma causa de correlação transitória, especialmente em populações originadas de cruzamentos entre linhagens divergentes (Falconer, 1981).

Realizou-se também a análise de correlação fenotípica entre os caracteres REDCOL, SOBREV, REDFERT e TOLCAMPO (correlações de Pearson, dados não mostrados). Houve correlação significativa entre REDCOL e REDFERT e entre SOBREV e TOLCAMPO, entre os demais caracteres não houve correlação. A correlação positiva altamente significativa entre REDCOL e REDFERT (0,3\*\*) confirmou os coeficientes de correlação obtidos conforme Cruz e Regazzi (1997) já discutidos e apresentados na Tabela 3.5. Entre SOBREV e TOLCAMPO, o resultado foi uma correlação negativa altamente significativa (-0,60\*\*). Esta correlação negativa deve-se ao fato de que a leitura de tolerância a campo é realizada utilizando-se escala em que os menores valores são atribuídos aos genótipos mais tolerantes. Desta maneira, o caráter

TABELA 3.5. Coeficientes de correlações fenotípicas, genotípicas e ambientais entre os caracteres redução no comprimento do coleóptilo (REDCOL), sobrevivência de plantas (SOBREV) e redução na fertilidade de espiguetas (REDFERT), avaliados na população de linhagens recombinantes. UFRGS, 2006.

Caracteres	Correlações		
	Fenotípicas	Genotípicas	Ambientais
REDCOL e SOBREV	0,0692 <sup>ns</sup>	0,0617 <sup>ns</sup>	0,1229 <sup>ns</sup>
REDCOL e REDFERT	0,3247 <sup>**</sup>	0,4103 <sup>**</sup>	-0,1136 <sup>ns</sup>
SOBREV e REDFERT	0,1672 <sup>ns</sup>	0,2111 <sup>ns</sup>	0,0154 <sup>ns</sup>

$$t_{(0,01;70)} = 0,302; t_{(0,05;70)} = 0,232$$

tolerância ao frio no estágio vegetativo avaliado sob condições controladas e no campo mostrou resultados semelhantes, em que linhagens com notas visuais mais baixas apresentaram também maior porcentagem de sobrevivência de plantas. Em trabalho similar, Castillo e Alvarado (2002) observaram que os genótipos tolerantes, avaliados sob condição de temperatura controlada no estágio de coleóptilo desenvolvido, também sobreviveram sob condições de frio a campo.

Com isso, observa-se que a sobrevivência de plantas, avaliada sob condições controladas, é um critério eficiente para identificação de genótipos de arroz com tolerância ao frio no estágio vegetativo. Na prática do melhoramento, esse resultado pode contribuir muito na atividade de seleção, pois significa que grande quantidade de genótipos pode ser avaliada e selecionada sob temperatura controlada, podendo ser realizado na entressafra, ganhando-se tempo e espaço, o que é fundamental para o trabalho de melhoramento.

### 3.4. CONCLUSÕES

A população de linhagens recombinantes apresenta alta variabilidade genética para tolerância ao frio com base nos caracteres redução no comprimento do coleóptilo, sobrevivência de plantas, redução na fertilidade de espiguetas e tolerância no estágio vegetativo no campo. Os valores de herdabilidade e o controle oligogênico indicam que há possibilidades de se obter ganhos para tolerância ao frio nos estádios estudados.

No estágio de germinação vários genes estão envolvidos e, nos estádios vegetativo e reprodutivo, dois genes independentes controlam cada um dos caracteres.

## **DISCUSSÃO GERAL**

A introdução da tolerância ao frio em genótipos melhorados e adaptados às condições de clima temperado é um dos desafios dos programas de melhoramento de arroz do estado do Rio Grande do Sul. Este desafio é em razão de que, principalmente nas regiões do Litoral Sul e Campanha, onde são cultivados anualmente cerca de 33 % da área de arroz do Estado, a ocorrência de temperaturas baixas é um dos principais limitantes.

Na etapa de seleção de genitores potenciais, provenientes principalmente da subespécie japônica, é importante identificar aqueles que permitam gerar variabilidade capaz de possibilitar a seleção de genótipos que combinem tolerância ao frio com características agronômicas desejáveis. Nesse sentido, a metodologia de avaliação empregada neste trabalho permitiu separar eficientemente os genótipos tolerantes dos sensíveis nos estádios de germinação, vegetativo e reprodutivo. Além disso, o uso de marcadores moleculares que separem claramente os grupos de genitores, pela similaridade genética, pode auxiliar no desenvolvimento de cultivares tolerantes ao frio. Do ponto de vista do melhorista, seria preferível identificar e usar doadores de caracteres importantes dentro da mesma subespécie ou grupo de cultivares (Mackill, 1995).

Como o germoplasma adaptado às condições do Rio Grande do Sul é de origem índica, há a necessidade de realizar-se o cruzamento entre genitores de ampla base genética, subespécies índica x japônica. Esse tipo de cruzamento produz alta variabilidade para a maioria dos caracteres. Apesar da esterilidade própria dos cruzamentos intersubespecíficos e da probabilidade de ocorrer quebra de blocos de ligação e de combinações gênicas favoráveis, é possível a recuperação de linhagens que mantêm as características do genótipo melhorado, como estatura de planta, tamanho e forma dos grãos (dados não mostrados), índice de centro branco e teor de amilose nos grãos.

Embora o coeficiente de similaridade genética entre as subespécies índica e japônica tenha sido baixo, observações anteriores e também nas avaliações quanto à tolerância ao frio a campo, neste trabalho, permitem inferir que a introdução da tolerância ao frio em genótipos da subespécie índica, a partir de fontes da subespécie japônica, nos três estádios de desenvolvimento é possível, principalmente quando envolve genitores adaptados como a cultivar IRGA 417 e que já possuem alguma tolerância. Esta cultivar foi obtida a partir de um cruzamento triplo, que inclui uma cultivar japônica no primeiro cruzamento, o que poderia explicar tanto esse pequeno grau de tolerância quanto a fertilidade em cruzamentos com genótipos da subespécie japônica.

Considerando a alta correlação observada entre a tolerância ao frio no estádio vegetativo sob condição de temperatura controlada e a tolerância à campo pode-se afirmar que a sobrevivência de plantas avaliada sob condições controladas é um critério eficiente na identificação de genótipos tolerantes ao frio no estádio vegetativo. Isto significa que grande quantidade de genótipos pode ser avaliada sob condição de temperatura controlada, que pode ser realizada na entressafra, ganhando-se tempo e espaço, o que é fundamental para a eficiência do programa de melhoramento, especialmente no caso da tolerância ao frio, em que grande número de plantas e de linhas segregantes precisam ser avaliadas.

Da mesma forma, a associação positiva entre a tolerância nos estádios de germinação e reprodutivo indica que a seleção em um destes estádios também elevará o nível de tolerância ao frio no outro. Neste caso, a escolha pela avaliação na germinação facilita o processo, pois além de ser realizada no início do ciclo, dispensaria conduzir as plantas até a maturação para se ter os resultados, como no caso do estádio reprodutivo. É importante salientar que a avaliação em um estádio não tornaria desnecessária a avaliação no outro por dois motivos. O primeiro é que a correlação observada entre estes dois estádios, embora altamente significativa, não foi muito alta (0,3<sup>\*\*</sup>). E o segundo motivo, diferentemente do que foi observado neste estudo, é a de que a maioria dos trabalhos mostra que a tolerância ao frio em um estádio do ciclo não está necessariamente relacionada com a tolerância em outro.

Especificamente com relação à avaliação no estádio reprodutivo, a alta correlação genotípica entre os caracteres esterilidade de espiguetas e



rendimento de grãos, indica que a avaliação para a tolerância ao frio baseada na esterilidade de espiguetas parece ser um critério eficiente, pela facilidade de visualização do caráter durante o processo de seleção no campo.

Com base na provável redução de recombinação e distorção na segregação de alelos da população, pela alta esterilidade de algumas linhagens, alguns cuidados devem ser observados durante o processo de obtenção de novas populações de linhas recombinantes. O principal está relacionado à proteção das panículas para evitar a polinização cruzada. Também, pelo motivo da alta esterilidade híbrida, o recomendável seria a seleção ou colheita de maior número de linhagens (entre 200 e 400) para possibilitar, no final, a extração de linhagens com esterilidade até 15%.

Por este estudo, realizado em uma população de linhagens provenientes de um cruzamento entre genitores das subespécies índica e japônica, com ampla divergência genética, mesmo com um número pequeno de linhagens, pode-se inferir que apesar da alta porcentagem de esterilidade, é fácil recuperar linhagens com características governadas por poucos genes e de alta herdabilidade (menor influência do ambiente) como estatura de planta, ciclo, índice de centro branco e teor de amilose. Para estes caracteres, a seleção poderia ser realizada nas gerações segregantes iniciais, pois as mesmas seriam rapidamente fixadas. Para as demais características, seria muito importante que o número de linhagens fosse maior que o deste estudo (entre 200 e 400) e que as mesmas apresentassem esterilidade normal em ambiente favorável (entre 10 e 15%), para aumentar a possibilidade de encontrar linhas recombinantes com maior rendimento de grãos.

Em resumo, nesta importante questão para o melhoramento de arroz, envolvendo o cruzamento entre genitores das subespécies índica x japônica, as indicações são de que é possível obter linhagens recombinantes com características desejáveis de tolerância ao frio da subespécie japônica e com características de planta e grão da subespécie índica, que atendam ao mercado consumidor. Não parece ser uma tarefa fácil nem de obtenção em curto prazo, mas os resultados permitem especular que os objetivos podem ser alcançados.

## **CONCLUSÕES GERAIS**

Na avaliação para tolerância ao frio nos estádios de germinação e vegetativo, o fator que mais contribui para classificação dos genótipos é a subespécie a qual cada um pertence. É possível a identificação de prováveis genitores e a metodologia utilizada permite separar claramente os genótipos tolerantes dos sensíveis. Entre os genótipos estudados, 14 são boas fontes de tolerância ao frio, tanto no estágio de germinação quanto no estágio vegetativo.

A análise molecular através de marcadores do tipo microssatélite mostra que existe variabilidade genética no germoplasma estudado e é possível a discriminação entre os genótipos, principalmente quando são comparados genótipos pertencentes às subespécies índica e japonesa.

A população de linhagens recombinantes apresenta alta variabilidade genética em todos os caracteres avaliados, o que possibilita seleção de linhagens com características requeridas pelo mercado a partir de genitores divergentes (cruzamento índica x japonesa). Os caracteres estatura de planta, índice de centro branco e teor de amilose apresentam altos valores de herdabilidade e parecem estar sob controle de poucos genes, facilitando a seleção e a obtenção de progresso genético para estas características.

Em relação à tolerância ao frio, com base nos caracteres redução no comprimento do coleóptilo, sobrevivência de plantas, redução na fertilidade de espiguetas e tolerância no estágio vegetativo a campo, a população de linhagens recombinantes apresenta alta variabilidade genética. A genética da tolerância ao frio em arroz pode ser devido a poucos ou vários genes, dependendo do estágio de ocorrência do frio. No estágio de germinação, vários genes estão envolvidos e, nos estádios vegetativo e reprodutivo, dois genes independentes controlam a tolerância.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas**. São Paulo: E. Blücher, 1971. 381 p.

ALVARADO, J. R. Influence of air temperature on rice population, length of period from sowing to flowering and spikelet sterility. In: HILL, J. E. et al. TEMPERATE RICE CONFERENCE, 2., Sacramento, CA, USA, 1999. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 2002. p. 63-68.

AMANO, E. Quality of grains. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the rice plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v. 3, p. 418-422.

ANDAYA, V. C.; MACKILL, D. J. Mapping of QTLs associated with cold tolerance during the vegetative stage in rice. **Journal of Experimental Botany**, Oxford, v. 54, n. 392, p. 2579-2585, 2003b.

ANDAYA, V. C.; MACKILL, D. J. QTLs conferring cold tolerance at the booting stage of rice using recombinant inbred lines from a *japonica* x *indica* cross. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 106, p. 1084-1090, 2003a.

BELÓ, A. **Avaliação de recursos genéticos para produção de híbridos de arroz**. Florianópolis : UFSC, 2001. 104 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2001.

BRIGGS, F. N.; KNOWLES, P. F. **Introduction to plant breeding**. New York : Reinhold Publishing Corporation, 1977. 426 p.

BRONDANI, C.; BRONDANI, R. P. V.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. Development and mapping of *Oryza glumaepatula*-derived microsatellite markers in the interspecific cross *Oryza glumaepatula* x *O. sativa*. **Hereditas**, Lund, v. 134, n. 1, p. 59-71, 2001.

BRONDANI, R. P. V.; GRATTAPAGLIA, D. A simple and cost effective method to synthesize a fluorescent labeled internal DNA standard for fragment sizing in an automatic sequencer. **Biotechniques**, Natick, v. 31, p. 802-810, 2001.

CARMONA, P. S.; KEMPF, D.; ROSSO, A. F. de. Linhagens de arroz resistentes à brusone (*Pyricularia oryzae* CAV.) para o Estado do Rio Grande do Sul. In: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE ARROZ PARA A AMÉRICA LATINA E O CARIBE, 9., 1994, Goiânia. **Arroz na América Latina:**

perspectivas para o incremento da produção e do potencial produtivo. Goiânia: Embrapa-CNPAP-APA, 1996. v. 2, p. 47 (Embrapa-CNPAP. Documentos, 62).

CARMONA, P. S.; LOPES, S. I. G.; ROSSO, A. F. de.; KEMPF, D.; AVOZANI, O. A.; MORAES, M. G. Melhoramento de arroz irrigado no IRGA - safras 1997/98 e 1998/99. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23, Pelotas, 1999. **Anais...** Pelotas : Embrapa Clima Temperado, 1999. p. 68 -71.

CARMONA, P. S.; LOPES, S. I. G.; ROSSO, A. F. de; AVOZANI, O. A.; MACIEL, J. L. N.; LOPES, M. C. B.; NEVES, G.; OLIVEIRA, I. C. P. de; RODRIGUES, P. C. S.; FREITAS, P. R. da S. Melhoramento de arroz irrigado no IRGA, safras 1999/2000 e 2000/01. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 2; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 24, Porto Alegre, 2001. **Anais...** Porto Alegre : IRGA, 2001. p. 79-81.

CASTILLO, D.; ALVARADO, J. R. Caracterización de germoplasma de arroz para tolerancia a frio en la etapa de germinación. **Agricultura Técnica (Chile)**, Chillán, v. 62, n. 4, p. 596-605, 2002.

CHANDRARATNA, M. F. **Genetics and breeding of rice**. London : Longmans, 1964. 389 p.

CHANG, T. T. Rice. In: SIMMONDS, N. W. (Ed) **Evolution of crop plants**. New York: Longman, 1996. p. 147-155.

CIAT. **Evaluación de la culinaria y molinera del arroz**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1989. 73 p.

CIAT. **Sistema de evaluación estándar para arroz**. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1983, 61p.

CIAT. **Registro de cruzamientos de arroz** : P1 a P 5617 y CT5618 a CT13800. Cali : Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1995. 313 p.

COUNCE, P. A.; KEISLING, T. C.; MITCHELL, A. J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, 2000.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: UFV, 1997. 390 p.

CRUZ, C. D. **Programa GENES** – versão windows 2006.4.1 Viçosa, 2006. 1 CD.

CRUZ, R. P. da. **Tolerância ao frio em arroz irrigado**: metodologias de avaliação e bases genéticas. 2001. 158 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

CRUZ, R. P. da. O frio e a cultura do arroz. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v. 54, n. 440, p. 40-43, 2006.

DATTA, D.; SIDDIQ, E. A. Genetic analysis of cold tolerance at seedling phase in rice. **Indian Journal of Genetics and Plant Breeding**, New Delhi, v. 43, p. 345-349, 1983.

EMBRAPA Clima Temperado. **Cultivar de Arroz Irrigado BRS 130 – Bojuru**. 1997. np. Folder da cultivar.

EPAGRI. **Arroz Irrigado**: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil. Itajaí: EPAGRI; Pelotas : EMBRAPA-CPACT; Porto Alegre : IRGA, 2003. 126 p.

FALCONER, D. S. **Introdução à genética quantitativa**. Viçosa, MG: Imprensa Universitária, 1987. 279 p.

FARREL, T. C.; REBETZKE, G. J.; WILLIAMS, R. L.; FUKAI, S. Genetic control of cold tolerance derived from eastern European rice cultivars, HSC55 and PLOVDIV 22. In: RICE COLD TOLERANCE CONFERENCE. Canberra, 2005. p. 01-19.

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. **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre, 1998. p. 03-15.

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. 3 ed. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN, 1998. 220 p. (EMBRAPA-CENARGEN. Documento, 20).

FERREIRA, M. E. Molecular analysis of genebanks for sustainable conservation and increased use of crop genetic resources. In: ELETRONIC FORUM ON BIOTECHNOLOGY IN FOOD AND AGRICULTURE; INTERNATIONAL WORKSHOP HELD PRIOR TO CONFERENCE, 13., 2005, Turin, Italy. **Proceedings...** Turin: Food and Agriculture Organization Of The United Nations, 2005. p. 77-82.

FUJINO, K. A major gene for low temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.) **Euphytica**, Dordrecht, v. 136, p. 63-68, 2004.

FUJINO, K.; SEKIGUCHI, H.; SATO, T.; KIUCHI, H.; NONOUE, Y.; TAKEUCHI, Y.; ANDO, T.; LIN, S. Y. Mapping of quantitative trait loci controlling low-temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 108, p. 794-799, 2004.

GALLI, J.; SILVEIRA, E. P.; GONÇALO, J. F. P.; GASTAL, F. L. C. IAS 12-9: Formosa – Opção de grão curto para a lavoura gaúcha. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v. 269, p. 14-15, 1972.

GLASZMANN, J. C.; ARRAUDEAU, M. Rice plant type variation: “Japonica” – “Javanica” relationships. **Rice Genetics Newsletter**, Los Baños, v. 3, p. 41-43, 1986.

GLASZMANN, J. C. Isozymes and classification of Asian rice varieties. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 74, n. 1, p. 21-30, 1987.

GROTH, D. E.; RUSH, M. C.; HOLLIER, C. A. **Rice diseases and disorders in Louisiana**. Baton Rouge: Louisiana Agricultural Experiment Station, 1991. 37 p.

GUIMARÃES, E. P. Qualidade de grão em arroz. In: REUNIÃO TÉCNICA DO ARROZ IRRIGADO DA REGIÃO SUL, 7., Campinas, 1989. 13 p.

HAZEL, L. N. The genetic basis for constructing selection indexes. **Genetics**, Baltimore, v. 28, p. 476-490, 1943.

HEENAN, D. Low-temperature induced floret sterility in the rice cultivars Calrose and Inga as influenced by nitrogen supply. **Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry**, East Melbourne, v. 24, n. 125, p. 255-259, 1984.

HOU, M. Y.; JIANG, L.; WANG, C. M.; WAN, J. M. Detection and analysis of QTLs for low temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). **Rice Genetics Newsletter**, Los Baños, v. 20, p. 01-03, 2004.

IRGA. **Arroz irrigado no RS: área, produção e rendimento**. 2006a. Disponível em <<http://www.irga.rs.gov.br>>. Acesso em: 04 out. 2006.

IRGA. **Censo da lavoura de arroz irrigado do Rio Grande do Sul – safra 2004/5**. Porto Alegre: IRGA – Política Setorial, 2006b. 122p.

JENNINGS, P. R.; COFFMAN, W. R.; KAUFFMAN, K. E. **Rice improvement**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1979. 186 p.

KAMIJIMA, O. White core and white belly. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v. 3, p. 463-469.

KIKUCHI, F.; FUTSUHARA, Y. Inheritance of semidwarf. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v. 3, p. 309-317.

KWAK, T. S.; VERGARA, B. S.; NANDA, J. S.; COFFMAN, W. R. Inheritance of seedling cold tolerance in rice. **Sabrao Journal**, Misima, v. 16, n. 2, p. 83-86, 1984.

KUMAR, I.; KHUSH, G. S. Genetic analysis of different amylose levels in rice. **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 1167-1172, 1987.

LACY, J.; CLAMPETT, W.; LEWIN, L.; REINKE, R.; BATTEN, G.; WILLIAMS, R.; BEALE, P.; MCCAFFERY, D.; LATTIMORE, M. A.; SCHIPP, A.; SALVESTRO, R.; NAGY, J. **Ricecheck Recommendations**. Yanco: New South Wales Agriculture and the Rural Industries Research & Development, 2000. 20 p.

LANDERS, P. S.; GBUR, E. E.; SHARP, R. N. Comparison of two models to predict amylose concentration in rice flours as determined by spectrophotometric assay. **American Association of Cereal Chemists**, St. Paul, v. 68, n. 5, p. 545-548, 1991.

LI, Z.; WAN, J.; XIA, J.; YANO, M. Mapping of quantitative trait loci controlling physico-chemical properties of rice grains (*Oryza sativa* L.) **Breeding Science**, Tokyo, v. 53, p. 209-215, 2003.

LOPES, M. C. B. **Caracterização fenotípica e molecular de genótipos de arroz irrigado**. 2002. 80 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002a.

LOPES, S. I. G. **Avaliação dos parâmetros genéticos da população de arroz irrigado CNA 11 e da divergência genética entre os genitores**. 2002. 101 f. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2002b.

MACKILL, D. J. Classifying japonica rice cultivars with RAPD markers. **Crop Science**, Madison, v. 35, n. 3, p. 889-894, 1995.

MACKILL, D. J.; LEI, X. Genetic variation for traits to temperate adaptation of rice cultivars. **Crop Science**, Madison, v. 37, n. 4, p. 1340-1346, 1997.

MACKILL, D. J.; NI, J. Molecular mapping and marker-assisted selection for major-gene traits in rice. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 4., 2001, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 2001. p. 137-151.

MAHISHI, D.M.; MAHADEVAPPA, M.; REDDY, P.G. Inheritance of panicle exertion in *Oryza sativa* under low temperature. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 2., 1991. Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 1991. p. 175-177.

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.

MEJIA, O. I. M. **Identificación de metodologías para la evaluación de tolerancia a temperaturas bajas en arroz (*Oryza sativa* L.)**. Palmira: Universidad Nacional de Colombia, 1988. 123 f. Monografía (Graduação) – Facultad de Ciências Agropecuárias de Palmira, Universidad Nacional de Colombia, Palmira, 1988.

MIURA, K.; SHAO, Y. L.; YANO, M.; NAGAMINE, T. Mapping quantitative trait loci controlling low temperature germinability in rice (*Oryza sativa* L.). **Breeding Science**, Tokyo, v. 51, p. 293-299.

MIURA, K.; LIN, S. Y.; ARAKI, H.; NAGAMINE, T.; KUROKI, M.; SHIMIZU, H.; ANDO, I.; YANO, M. General studies on germination of seed and seedling establishment for breeding of improved rice varieties suitable for direct seeding culture. **Journal of Agricultural Research Quarterly**, Tsukuba, v. 38, n.1, p. 1-5, 2004.

MORISHIMA, H. Evolution and domestication of rice. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 4., 2001, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 2001. p. 63-77.

NAGAMINE, T.; NAKAGAHARA, M. Genetic control of chilling injury in rice seedlings detected by low-temperature treatment. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 2., 1991, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 1991. p.737-739.

NI, J.; COLOWIT, P. M.; MACKILL, D. J. Evaluation of genetic diversity in rice subspecies using microsatellite markers. **Crop Science**, Madison, v. 42, n. 2, p. 601-607, 2002.

NISHIYAMA, I. Types of damage due to cool weather and the relevant research. In: MATSUO, T. et al. (ed.) **Science of the Rice Plant: Physiology**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995. v. 2, p. 769-776.

OKA, H. I.; MORISHIMA, H. Wild and cultivated rice. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v. 3, p. 88-111.

OLIVER, S. N. **Identification and characterization of genes affected by cold treatment of rice anthers**. Canberra : CSU, 2004. 277 f. Tese (Doutorado) – Charles Sturt University, Canberra, 2004.

OU, S. H. **Rice diseases**. 2 ed. Kew, Surrey, England : Commonwealth Mycological Institute, 1985.

PEDROSO, B. A. **Arroz irrigado: obtenção e manejo de cultivares**. 3 ed. Porto Alegre: Sagra, 1989. 179 p.

PESSOA FILHO, M. A. C. de P. **Análise genética de variedades tradicionais do banco de germoplasma de arroz (*Oryza sativa* L.) com marcadores microssatélites**. Brasília : UnB, 2004. 107 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade de Brasília, Brasília, 2004.

RANGEL, P. H. N.; ZIMMERMANN, F. J. P.; NEVES, P. C. F. Estimativas de parâmetros genéticos e resposta à seleção nas populações de arroz irrigado CNA-IRAT 4PR e CNA-IRAT 4 ME. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 33, n. 6, p. 905-912, 1998.

RANGEL, P. H. N.; ZIMMERMANN, F. J. P.; FAGUNDES, P. R. R. Mejoramiento poblacional del arroz de riego en Brasil. In: GUIMARÃES, E. P. (Ed.) **Avances en el mejoramiento poblacional en arroz**. Santo Antônio de Goiás: Embrapa Arroz e Feijão, 2000. p. 65-85.



ROHLF, F. J. **NTSYS – PC**: numerical taxonomy and multivariate analysis system. Versão 2.10 m. New York: Exeter Software, 2000. 1 CD.

RUTGER, J. N.; MACKILL, D. J. Application of mendelian genetics in rice breeding. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 4., 2001, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: International Rice Research Institute, 2001. p. 27-38.

SAITO, K.; MIURA, K.; NAGANO, K.; HAYANO-SAITO, Y.; ARAKI, H.; KATO, A. Identification of two closely linked quantitative trait loci for cold tolerance on chromosome 4 of rice and their association with anther length. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg, v. 103, p. 862-868, 2001.

SAITO, K.; HAYANO-SAITO, Y.; MARUYAMA-FUNATSUKI, W.; SATO, Y.; KATO, A. Physical mapping and putative candidate gene identification of a quantitative trait locus *Ctb1* for cold tolerance at the booting stage of rice. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 109, p. 515-522, 2004.

SANO, Y. Inheritance of sterility. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v. 3, p. 367-376.

SAS Institute. **System for Information**. Versão 8.0. Cary, 2000. 3 CD

SASAKI, T. Cold tolerance. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v. 3, p. 534-550.

SMITH, H. F. A discriminant function for plant selection. **Annals of Eugenics**, Cambridge, v. 7, p. 240-250, 1936.

STEINMETZ, S.; ASSIS, F. N. de; BURIOL, G. A.; ESTEFANEL, V.; AMARAL, A. G.; FERREIRA, J. S. A. Regionalização das probabilidades de ocorrência de temperaturas mínimas do ar prejudiciais ao arroz irrigado no Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO; REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 23., Pelotas, 1999. **Anais...** Pelotas : Embrapa Clima Temperado, 1999. p.177-181.

STHAPIT, B. R.; WITCOMBE, J. R. Inheritance of tolerance to chilling stress in rice during germination and plumule greening. **Crop Science**, Madison, v. 38, p. 660-665, 1998.

TAKAHASHI, N. Differentiation of ecotypes in *Oryza sativa* L. In: TSUNODA, S.: TAKAHASHI, N. (Eds.) **Biology of rice**. Tokyo: Japan Scientific Societies Press, 1984. p. 31-67.

TAKAHASHI, N. Inheritance of seed germination and dormancy. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v. 3, p. 348-359.

TERRES, A. L.; GALLI, J.; GASTAL, F. L. Cultivares. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária de Terras Baixas de Clima Temperado, Capão do Leão, RS. **Fundamentos para a cultura do arroz irrigado**. Campinas: Fundação Cargill, 1985a. p. 57-82.

TERRES, A. L.; GALLI, J. Efeitos do frio em cultivares de arroz irrigado no Rio Grande do Sul – 1984. In: EMBRAPA. Centro de Pesquisa Agropecuária de Terras Baixas de Clima Temperado, Capão do Leão, RS. **Fundamentos para a cultura do arroz irrigado**. Campinas: Fundação Cargill, 1985b. p. 83-94.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: MELHORAMENTO e produção de milho. Campinas : Fundação Cargil, 1987. v. 1, p. 135-214.

WATANABE, Y. Genomic constitution of genus *Oryza*. In: MATSUO, T. et al. (Ed.) **Science of the Rice Plant: Genetics**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v. 3, p. 29-39.

WILLIAMS, R. L.; ANGUS, J. F. Deep floodwater protects high-nitrogen rice crops from low-temperature damage. **Australian Journal of Experimental Agriculture**, East Melbourne, v. 34, n. 7, p. 927-932, 1994.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: International Rice Research Institute, 1981. cap. 2, p. 65-110.

ZHANG, Z. H.; QU, X. S.; WAN, S.; CHEN, L. H.; ZHU, Y. G. Comparison of QTL controlling seedling vigor under different temperature conditions using recombinant inbred lines in rice (*Oryza sativa* L.). **Annals of Botany**, London, v. 95, p. 423-429, 2005.

## **APÊNDICES**

Apêndice 1. Médias das 71 linhagens recombinantes (LR) para os caracteres rendimento de grãos (REND), ciclo até a floração (FLR80), estatura de planta (ESTAT), esterilidade de espiguetas (STESP), número de grãos por panícula (GRPAN), índice de centro branco nos grãos (CBGR) e teor de amilose nos grãos (AMYGR), referentes aos experimentos realizados em Cachoeirinha e Santa Vitória do Palmar na safra 2004/05 (Ambiente 1), UFRGS, 2006.

LR	CACHOEIRINHA - 2004/05							SANTA VITÓRIA DO PALMAR 2004/05							MÉDIAS - AMBIENTE 1						
	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CB	AMY	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CB	AMY	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CBGR	AMYGR
1	4733	68	71	19,2	97	0,1	20	7022	72	57	17,2	102	0,2	22	5877	70	63,7	18,2	99,3	0,1	21
2	7025	67	84	24,7	121	0,0	18	4514	71	69	38,5	112	0,1	20	5769	69	76,6	31,6	116,9	0,1	19
3	3677	72	73	26,0	97	0,2	13	1684	84	65	51,5	57	0,3	17	2680	78	69,3	38,7	76,6	0,3	15
4	5350	74	82	18,1	91	0,2	27	4870	85	76	21,0	79	0,1	29	5110	80	78,9	19,5	84,9	0,2	28
5	5306	84	121	40,2	104	0,2	27	2710	88	102	71,0	79	0,1	28	4008	86	111,4	55,6	91,4	0,1	28
6	5928	72	121	28,8	204	0,2	27	3523	78	109	61,6	135	0,3	29	4725	75	115,1	45,2	169,0	0,2	28
7	9110	76	77	29,8	103	1,0	18	6295	88	62	35,0	84	0,4	23	7703	82	69,2	32,4	93,5	0,7	21
8	6033	75	74	14,0	112	0,4	16	5213	86	71	21,9	113	0,1	18	5623	81	72,1	17,9	112,7	0,3	17
9	6959	91	95	7,6	107	0,2	20	4440	86	70	22,2	71	0,1	23	5699	89	82,6	14,9	89,1	0,1	22
10	5737	99	136	28,5	189	0,4	15	2689	103	108	.	.	0,1	18	4213	101	122,0	28,5	189,2	0,3	17
11	5192	79	100	36,4	143	0,9	17	4173	90	81	45,2	121	0,9	21	4683	85	90,6	40,8	132,3	0,9	19
12	1837	67	67	24,1	80	0,0	18	3330	71	57	42,1	93	0,1	20	2583	69	62,3	33,1	86,7	0,1	19
13	4481	80	76	42,8	143	1,3	22	2452	90	71	44,5	153	0,4	20	3467	85	73,4	43,7	148,0	0,8	21
14	7518	68	84	24,0	102	3,0	19	5339	72	72	49,9	88	1,7	19	6429	70	78,1	36,9	94,7	2,4	19
15	4273	69	86	21,9	97	0,0	17	.	79	63	25,7	90	.	.	4273	74	74,7	23,8	93,5	0,0	17
16	5073	68	108	34,3	108	0,3	21	2821	70	101	47,8	93	0,0	21	3947	69	104,3	41,1	100,1	0,1	21
17	5707	79	91	30,5	167	0,3	22	4696	86	78	38,9	127	0,6	23	5201	83	84,1	34,7	146,9	0,5	23
18	7170	81	87	30,7	184	0,3	27	6038	85	75	39,8	138	0,3	28	6604	83	81,2	35,3	160,9	0,3	28
19	5704	76	85	25,4	165	0,3	20	4832	82	74	31,2	99	0,1	21	5268	79	79,4	28,3	132,0	0,2	21
20	4754	87	91	23,9	122	0,2	20	3356	91	81	49,9	92	0,2	21	4055	89	85,6	36,9	106,9	0,2	21
21	4967	88	90	30,0	117	0,2	19	3377	92	79	46,6	102	0,5	20	4172	90	84,3	38,3	109,1	0,4	20
22	5069	74	112	31,4	158	0,8	27	.	84	108	40,5	77	.	.	5069	79	109,7	35,9	117,6	0,8	27
23	2744	79	113	42,7	76	0,2	23	389	74	97	84,3	106	1,3	22	1566	77	104,8	63,5	91,0	0,7	23
24	5966	88	82	21,9	96	0,2	25	2619	97	63	35,0	71	0,5	24	4293	93	72,7	28,4	83,3	0,3	25

Continua ...

LR	CACHOEIRINHA - 2004/05							SANTA VITÓRIA DO PALMAR 2004/05							MÉDIAS - AMBIENTE 1						
	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CB	AMY	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CB	AMY	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CBGR	AMYGR
25	3136	76	81	54,9	89	0,0	27	3299	86	67	53,4	92	0,1	27	3218	81	73,9	54,2	90,6	0,1	27
26	10405	78	76	27,0	137	1,2	21	5623	82	64	47,8	110	0,3	23	8014	80	69,8	37,4	123,6	0,8	22
27	8381	76	84	16,9	113	0,9	26	4665	86	73	25,6	100	0,3	28	6523	81	78,2	21,3	106,5	0,6	27
28	9108	80	104	17,3	144	0,3	26	7061	87	95	29,7	120	0,2	28	8084	84	99,2	23,5	131,9	0,3	27
29	4665	71	82	35,6	100	0,6	15	3728	78	71	60,6	111	0,8	20	4197	75	76,5	48,1	105,5	0,7	18
30	5569	.	85	32,1	103	0,7	27	2372	100	78	.	.	0,8	27	3970	100	81,5	32,1	102,7	0,8	27
31	7568	80	131	27,3	132	0,3	20	3518	86	104	47,3	113	0,3	21	5543	83	117,2	37,3	122,8	0,3	21
32	5468	79	90	33,3	127	0,3	20	4624	83	73	53,2	114	0,8	23	5046	81	81,5	43,3	120,7	0,5	22
33	7485	81	90	22,0	154	0,2	17	6372	87	77	40,1	125	0,2	21	6929	84	83,6	31,1	139,7	0,2	19
34	6270	75	89	22,4	101	0,1	18	4839	83	75	37,1	95	0,2	20	5555	79	82,1	29,7	98,2	0,1	19
35	10189	71	92	9,3	139	1,4	24	8145	78	79	26,5	135	1,3	30	9167	75	85,7	17,9	136,8	1,4	27
36	5554	76	88	18,5	116	0,1	18	5371	80	81	35,9	108	0,1	20	5463	78	84,4	27,2	111,6	0,1	19
37	4634	58	82	24,9	103	0,0	15	2148	64	69	61,9	102	0,6	16	3391	61	75,3	43,4	102,7	0,3	16
38	9326	73	95	23,2	152	0,2	27	5574	80	80	30,0	113	0,1	30	7450	77	87,8	26,6	132,3	0,1	29
39	6232	72	88	28,2	86	0,2	19	5029	79	77	48,0	86	0,3	22	5631	76	82,4	38,1	85,8	0,3	21
40	6891	73	85	35,8	78	0,1	21	6085	86	81	53,0	130	0,4	29	6488	80	83,3	44,4	104,3	0,3	25
41	7836	77	83	18,2	101	0,1	26	4187	85	66	50,8	77	0,2	25	6012	81	74,9	34,5	89,0	0,2	26
42	9124	82	92	11,8	150	0,6	18	6747	93	80	40,6	123	0,5	21	7936	88	86,2	26,2	136,3	0,6	20
43	4384	79	115	15,9	80	0,4	16	2568	82	97	25,8	52	0,3	16	3476	81	105,7	20,8	66,1	0,4	16
44	3193	79	83	19,7	100	0,3	24	3831	80	81	37,5	105	0,2	24	3512	80	82,0	28,6	102,8	0,2	24
45	5142	76	73	35,5	68	0,2	17	6493	91	69	17,4	94	0,2	19	5818	84	71,3	26,4	81,2	0,2	18
46	5430	67	73	.	65	0,2	20	5743	81	65	18,9	89	0,2	22	5586	74	68,7	18,9	77,2	0,2	21
47	7300	80	86	10,1	134	0,7	25	7417	84	75	19,6	122	0,8	27	7358	82	80,3	14,8	128,2	0,8	26
48	3852	75	84	30,7	75	2,0	28	6378	84	73	31,1	77	4,0	30	5115	80	78,8	30,9	76,2	3,0	29
49	6856	80	81	35,1	142	0,6	26	5102	95	66	42,8	163	0,5	28	5979	88	73,1	38,9	152,6	0,5	27

LR	CACHOEIRINHA - 2004/05							SANTA VITÓRIA DO PALMAR 2004/05							MÉDIAS - AMBIENTE 1						
	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CB	AMY	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CB	AMY	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CBGR	AMYGR
50	2944	73	79	12,5	75	0,4	27	4057	80	67	21,8	83	0,5	28	3500	77	73,2	17,2	79,2	0,4	28
51	2473	72	130	22,6	86	0,9	27	4142	84	105	24,7	68	0,5	28	3307	78	117,6	23,6	76,7	0,7	28
52	3161	69	80	28,7	109	0,5	17	1809	76	70	61,5	79	0,6	20	2485	73	74,8	45,1	94,0	0,6	19
53	4467	75	124	40,0	99	3,0	22	.	80	90	48,7	82	.	.	4467	78	107,0	44,4	90,5	3,0	22
54	3505	72	82	29,8	92	0,6	22	4094	78	71	33,1	119	0,6	23	3800	75	76,6	31,5	105,4	0,6	23
55	7130	76	94	23,1	160	0,7	16	4765	87	78	40,1	105	0,8	19	5948	82	85,6	31,6	132,8	0,8	18
56	7874	77	125	30,0	116	0,4	26	5572	91	106	31,3	100	0,8	28	6723	84	115,8	30,6	108,0	0,6	27
57	7202	89	92	22,5	125	0,3	17	4890	95	78	35,3	103	2,0	20	6046	92	84,8	28,9	113,9	1,2	19
58	7340	75	122	31,3	137	0,8	26	5258	83	115	46,1	150	0,0	28	6299	79	118,1	38,7	143,3	0,4	27
59	6293	78	116	26,8	94	2,8	26	4378	85	106	38,1	65	1,7	28	5335	82	110,6	32,4	79,4	2,2	27
60	3906	84	69	25,3	38	0,3	26	1908	78	51	42,3	39	0,6	26	2907	81	60,3	33,8	38,4	0,4	26
61	7214	75	94	12,0	121	0,8	17	6721	80	75	25,2	96	0,3	19	6968	78	84,2	18,6	108,7	0,6	18
62	7108	86	95	26,5	113	0,1	22	4114	93	76	34,5	121	0,2	23	5611	90	85,6	30,5	117,4	0,2	23
63	6460	72	79	53,9	72	0,1	26	5457	78	68	52,5	89	0,6	28	5959	75	73,5	53,2	80,7	0,4	27
64	4207	98	114	42,9	145	0,2	25	1196	103	100	60,6	143	0,5	26	2702	101	106,7	51,7	143,8	0,4	26
65	7054	88	98	31,3	158	0,0	18	4712	95	83	55,3	165	0,1	21	5883	92	90,2	43,3	161,1	0,1	20
66	8376	87	97	35,8	154	0,1	18	4102	95	81	55,6	137	0,2	20	6239	91	89,4	45,7	145,7	0,2	19
67	8350	71	82	22,2	121	0,6	20	4903	78	65	40,9	111	0,2	21	6626	75	73,7	31,5	116,2	0,4	21
68	7856	73	86	24,0	105	1,2	21	7293	81	68	29,4	92	1,2	22	7575	77	77,1	26,7	98,4	1,2	22
69	3985	75	129	32,5	110	1,0	22	5651	79	113	59,7	71	0,9	25	4818	77	121,4	46,1	90,5	1,0	24
70	6775	69	120	30,4	84	0,5	28	4514	77	112	31,7	56	0,9	29	5644	73	116,2	31,0	69,6	0,7	29
71	6823	82	112	12,5	125	0,1	21	4898	88	96	27,9	80	0,1	23	5860	85	104,1	20,2	102,6	0,1	22
Média	5983	77	93	27	116	0,51	21,5	4526	84,1	80,0	40,5	101,3	0,5	23,4	5270	80,6	86,7	33,6	108,6	0,53	22,4

Apêndice 2. Médias das 71 linhagens recombinantes (LR) dos caracteres rendimento de grãos (REND), ciclo até a floração (FLR80), estatura de planta (ESTAT), esterilidade de espiguetas (STESP), número de grãos por panícula (GRPAN), índice de centro branco nos grãos (CBGR), referentes aos experimentos realizados em Cachoeirinha (A2) na safra 2005/06 e Santa Vitória do Palmar (A3) na safra 2005/06, e dos experimentos realizados sob condições de temperatura controlada dos caracteres redução no comprimento do coleóptilo (REDCOL), sobrevivência de plantas (SOBREV) e redução na fertilidade de espiguetas, UFRGS, 2006. Continua ...

LR	CACHOEIRINHA - 2005/06 - A2				SANTA VITÓRIA - 2005/06 - A3					COND. CONTROLADAS			
	Rend	FLR80	ESTAT	CB	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CB	RedCol	Sobrev	RedFert
1	4671	61	70	0,2	3510	86	63	27,5	86	0,1	.	.	75,0
2	6129	66	86	0,1	3822	84	73	52,3	113	0,1	44,1	0,0	71,1
3	4857	66	79	0,2	2313	89	69	37,1	90	0,2	56,7	0,0	87,0
4	4072	75	87	0,2	5762	94	77	24,7	81	0,1	48,9	0,0	75,8
5	2401	83	116	0,1	2476	96	102	56,6	96	0,4	.	0,0	35,6
6	4036	70	123	0,1	3872	89	108	51,2	153	0,3	38,1	10,0	68,5
7	5948	75	75	0,6	6470	97	64	37,9	111	1,1	54,3	0,0	90,9
8	4822	72	83	0,2	4961	91	68	26,8	114	0,2	48,5	30,0	84,8
9	4478	86	89	0,1	5208	90	74	30,2	82	0,0	71,0	60,0	73,6
10	6325	90	127	0,0	2610	.	115	64,5	130	0,0	47,4	50,0	.
11	6624	90	111	0,5	4406	98	88	49,2	125	0,7	37,3	20,0	61,4
12	3574	60	66	0,0	2082	85	51	40,3	62	0,1	35,0	0,0	82,7
13	3736	77	76	0,3	3856	97	67	42,0	153	0,5	52,4	32,5	64,6
14	4946	64	88	1,1	6185	86	69	40,8	74	1,2	51,4	0,0	86,4
15	2846	63	97	0,1	1966	78	76	41,9	67	.	40,1	0,0	40,8
16	4008	59	125	0,2	1525	80	99	58,5	74	0,2	41,7	20,0	71,9
17	3830	77	95	0,2	5430	96	80	34,3	150	0,5	49,1	70,0	91,0
18	5741	77	91	0,1	5126	.	83	39,3	129	0,2	60,8	0,0	76,7
19	3637	74	91	0,2	5477	96	75	41,8	104	0,2	47,0	100,0	79,4
20	3588	86	93	0,1	4537	97	81	45,3	113	0,1	.	40,0	56,3
21	4532	89	91	0,1	2986	98	79	42,9	115	0,2	.	70,0	52,9
22	4364	71	122	0,4	4191	97	100	35,9	140	1,1	34,9	0,0	88,9
23	2606	80	118	0,2	780	85	90	58,2	90	0,8	44,5	70,0	87,2
24	4838	88	85	0,2	4456	.	75	46,2	96	0,6	36,6	10,0	89,2
25	2762	79	88	0,1	2902	97	78	55,5	102	0,1	.	47,5	98,6
26	9056	78	83	0,4	6418	87	70	39,7	91	0,4	.	.	83,2
27	6545	74	85	0,3	3949	97	77	43,6	103	0,2	48,0	0,0	55,9
28	5770	77	106	0,2	4694	98	90	51,3	108	0,1	59,7	10,0	92,8
29	2341	72	83	0,3	5622	95	72	35,7	93	0,3	41,0	40,0	79,1
30	4488	87	96	0,5	5520	.	77	37,1	116	0,5	.	30,0	81,2
31	2897	76	127	0,2	2727	97	106	55,7	110	0,1	43,1	0,0	43,3
32	4700	74	91	0,4	4934	98	83	46,9	126	0,5	40,6	0,0	73,5
33	5765	79	91	0,1	6114	97	80	38,8	127	0,1	45,0	0,0	68,8
34	2525	74	89	0,2	5408	92	79	24,8	78	0,1	38,4	0,0	71,9
35	5533	70	97	0,5	7840	88	80	23,6	138	0,7	44,0	0,0	75,0
36	3832	76	104	0,0	5600	98	86	42,2	121	0,1	52,9	20,0	60,6
37	4437	58	89	0,2	1779	77	62	47,4	62	0,3	.	.	73,0
38	5936	74	99	0,1	6526	89	82	41,2	109	0,1	43,8	77,5	71,2

LER	CACHOEIRINHA - 2005/06 - A2				SANTA VITÓRIA - 2005/06 - A3					COND. CONTROLADAS			
	Rend	FLR80	ESTAT	CB	REND	FLR80	ESTAT	STESP	GRPAN	CB	RedCol	Sobrev	RedFert
39	4942	72	93	0,2	4574	85	78	43,4	96	0,2	40,9	40,0	56,6
40	4208	68	96	0,2	4409	87	75	42,3	83	0,2	31,6	30,0	77,6
41	4270	79	83	0,2	5555	92	70	46,9	82	0,2	35,3	0,0	52,4
42	5863	80	89	0,2	5732	.	81	31,4	103	0,2	59,8	0,0	78,5
43	5530	73	122	0,3	4063	96	103	28,6	79	0,3	44,2	75,0	85,3
44	5663	73	96	0,3	5487	90	75	30,2	89	0,3	48,5	0,0	88,3
45	5899	75	83	0,2	6134	93	67	33,5	96	0,3	50,0	10,0	53,7
46	5333	64	88	0,2	5051	89	80	30,3	95	0,2	44,4	0,0	97,8
47	6407	75	90	0,5	7207	95	77	24,1	169	0,3	56,1	0,0	59,8
48	2934	75	92	3,3	4363	96	80	33,4	77	2,7	29,6	30,0	72,9
49	4442	84	86	0,4	5252	.	72	40,2	128	1,3	51,7	0,0	88,8
50	5332	72	89	0,3	6899	88	71	31,2	95	0,4	45,2	20,0	53,8
51	.	70	131	.	3592	85	106	18,9	63	0,8	48,0	10,0	59,9
52	3099	62	101	0,3	2049	88	83	32,4	114	0,3	37,9	0,0	55,0
53	3233	79	127	0,8	2939	96	109	51,7	91	1,8	38,0	90,0	95,4
54	4805	65	91	0,3	6732	89	74	30,8	100	0,5	63,0	0,0	85,2
55	5600	78	102	0,4	5385	96	79	50,6	112	0,7	36,8	60,0	77,8
56	3617	81	129	0,4	5360	97	103	41,5	97	0,9	41,8	0,0	96,0
57	3970	88	92	0,7	3723	.	77	42,9	94	2,3	41,8	10,0	82,9
58	6031	77	131	0,6	4650	95	111	45,9	138	0,2	39,0	0,0	44,6
59	4092	73	122	0,6	3367	95	102	39,3	97	1,1	39,7	40,0	43,8
60	4014	84	73	0,8	2097	.	61	38,5	71	0,7	47,2	0,0	96,6
61	3951	75	98	0,4	6958	89	79	21,8	112	0,4	55,1	90,0	84,8
62	5316	83	93	0,2	3279	.	76	49,6	102	0,3	87,2	67,5	97,3
63	5419	67	87	0,4	4687	88	70	44,4	71	0,4	23,4	0,0	68,2
64	3540	92	122	0,3	2606	.	106	49,9	130	0,4	27,0	40,0	62,9
65	5740	81	103	0,0	3591	.	86	54,9	185	0,2	39,8	20,0	95,2
66	5800	90	99	0,0	3513	.	88	65,8	183	0,2	49,6	30,0	90,5
67	5376	66	78	0,4	6018	88	70	40,2	112	0,2	45,4	40,0	93,4
68	5809	72	87	0,4	7424	90	74	30,4	88	0,7	59,0	50,0	87,1
69	2509	69	124	0,4	3120	86	103	49,1	95	0,7	21,0	62,5	36,6
70	4986	65	135	0,3	3193	85	113	32,1	109	0,5	39,8	0,0	76,5
71	4260	74	122	0,1	3656	98	103	44,0	106	0,1	29,9	30,0	73,0
Média	4664	75	98	0,3	4465	91,4	82	41,0	106	0,4	45,1	24,3	74,1



## VITA

Antonio Folgiarini de Rosso, filho de Armando Folgiarini de Rosso e Diva Leão de Rosso, nasceu em 02 de setembro de 1956, em São Sepé, Rio Grande do Sul.

Completo o ensino de primeiro e segundo graus no Colégio Estadual XV de Novembro, em São Gabriel, no ano de 1975. Em agosto de 1977 ingressou na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal de Pelotas, graduando-se como Engenheiro Agrônomo em julho de 1981.

No ano de 1984 foi aprovado no concurso realizado pelo Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA), onde trabalhou nas atividades de assistência técnica e extensão rural, no Perímetro Irrigado de Boacica, região do Baixo São Francisco, no Estado de Alagoas, através do Convênio IRGA / CODEVASF. Em agosto de 1988 retornou ao RS onde foi lotado na Equipe de Melhoramento Genético da Estação Experimental do Arroz, em Cachoeirinha, exercendo atividades ligadas ao desenvolvimento de novas cultivares de arroz irrigado para o RS.

Em março de 1990 ingressou no curso de Mestrado em Agronomia na Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal de Pelotas, o qual concluiu em junho de 1993.

Em agosto de 2002 iniciou o Doutorado em Fitotecnia, da Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)