

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
**Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal**



**TESE**

**CARACTERIZAÇÃO MORFOFENOLÓGICA E MOLECULAR DE MUTANTES DE  
ARROZ IRRIGADO**

**ALINE SCHEER DA SILVA**

**Pelotas, 2013.**

ALINE SCHEER DA SILVA

**CARACTERIZAÇÃO MORFOFENOLÓGICA E MOLECULAR DE MUTANTES DE  
ARROZ IRRIGADO**

Tese apresentada à Universidade Federal de Pelotas, sob a orientação do Prof. Dr. José Antonio Peters, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, para a obtenção do título de Doutor em Fisiologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. José Antonio Peters

Co-Orientadores: Dr. Ariano Martins de Magalhães Jr.

Prof. Dr. Valmor João Bianch

Dados de catalogação na fonte:  
Ubirajara Buddin Cruz - CRB 10/901  
Biblioteca de Ciência & Tecnologia - UFPel

S586a      Silva, Aline Scheer da  
                Caracterização morfofenológica e molecular de mutantes  
                de arroz irrigado / Aline Scheer da Silva. – 83f. ; il. – Tese  
                (Doutorado). Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Ve-  
                getal. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Biologia.  
                Pelotas, 2013. – Orientador José Antonio Peters ; co-  
                orientador Ariano Martins de Magalhães Junior, Valmor João  
                Bianchi.

1.Fisiologia vegetal. 2.Arroz irrigado. 3.*Oryza sativa* L.  
4.Variabilidade genética. 5.Raios gama. 6.Caracteres agro-  
nômicos. 7.AFLP. I.Peters, José Antonio. II.Magalhães Junior,  
Ariano Martins. III.Bianchi, Valmor João. IV.Título.

CDD: 634.13

## **BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. José Antonio Peters - Orientador

Dr. Paulo Ricardo Reis Fagundes - Embrapa Clima Temperado

Dr. Daniel Fernández Franco - Embrapa Clima Temperado

Dra. Daiane de Pinho Benemman - Universidade Federal de Pelotas

## **Agradecimentos:**

A Deus, agradeço pela vida, por me dar força e coragem para enfrentar todas as dificuldades encontradas ao longo da jornada.

Aos meus amados pais Germano e Eline, pelos exemplos de vida e dedicação, pelo amor e carinho, pela confiança e pelo total incentivo neste e em todos momentos da minha vida.

Ao meu namorado, Junior pelo amor, carinho e incentivo.

Aos meus familiares pelo carinho e apoio.

À Universidade Federal de Pelotas, em particular, ao Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pela oportunidade de realizar o curso.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

À Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA – Clima Temperado), pela disponibilização do material vegetal e do local para realização dos experimentos.

Aos funcionários da Embrapa Clima Temperado que colaboraram com a realização deste trabalho.

Ao centro de Oncologia do Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pelotas.

Ao professor José Antonio Peters pela orientação e valiosos ensinamentos, pela confiança, amizade e carinho.

Ao pesquisador Ariano Martins de Magalhães Jr. e ao professor Valmor João Bianchi pela co-orientação, auxílio e pelas sugestões que, certamente, contribuíram para realização deste trabalho.

Ao professor Willian Barros pelo apoio estatístico.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal, pelos ensinamentos transmitidos ao longo do curso.

Aos funcionários do Departamento de Botânica, pela amizade e colaboração.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação, pela alegre convivência.

A minha querida amiga e colega Ilda M. de Castro da Silva pela fiel amizade, pelo companheirismo, carinho e pela ajuda.

A minha amiga e colega Cristina C. Cuchiara pelas risadas, carinho e ajuda.

Aos colegas e amigos Luis Willian P. Arge e Daiane de P. Benemann pela disponibilidade e auxílio.

Aos colegas do laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas pela tranqüila convivência, colaboração e pelo companheirismo.

Aos estagiários do laboratório de Cultura de Tecidos de Plantas, Rodrigo Danielowski, Mara Cíntia Winhelmann e Anderssom M. Einhardt pela colaboração nos experimentos.

Aos demais amigos, que de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

**Muito obrigada!**

## RESUMO

SILVA, Aline Scheer da. **Caracterização morfofenológica e molecular de mutantes de arroz irrigado**. 2013. 83f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

O arroz irrigado (*Oryza sativa* L.) apresenta grande importância econômica e social, principalmente na região sul do Brasil, fato que estimula a busca por cultivares mais produtivas e com características agronômicas que atendam as exigências de mercado. Técnicas de apoio aos programas de melhoramento, como mutações induzidas e uso de marcadores moleculares estão sendo cada vez mais utilizadas. A indução de mutações é considerada um método alternativo para criar variabilidade genética, sendo o uso de radiações ionizantes uma tecnologia eficaz, com a qual foram obtidos mutantes com características de maior produtividade, precocidade, menor porte, maior resistência às doenças e pragas em diferentes espécies, os quais são utilizados nos programas de melhoramento na obtenção de novas cultivares. AFLP é uma das técnicas de marcadores moleculares mais utilizadas para analisar divergência genética em populações de plantas, principalmente em espécies que apresentam baixa taxa de poliforfismo no DNA. O presente trabalho teve como objetivo a caracterização morfofenológica e molecular de mutantes de arroz irrigado oriundos das cultivares elite BRS Querência e BRS Fronteira, os quais poderão se transformar em novas cultivares ou servirem para cruzamentos nos programas de melhoramento de arroz. Na safra 2009/2010 sementes de plantas M1 (originadas de sementes expostas à diferentes doses de radiação gama) foram semeadas em bandejas contendo solo típico da cultura do arroz, visando à produção de mudas. No estágio de duas a três folhas as mudas foram transplantadas para o campo formando a população M2. Nesta geração foram selecionadas 59 mutantes com características agronômicas de interesse. Na safra seguinte (2010/2011), sementes destas 59 plantas mutantes foram semeadas e transplantadas nas

mesmas condições anteriores e formaram a população M3. Em todas gerações foram avaliados os descritores morfofenológicos da cultura do arroz, foi também avaliada a divergência genética entre os mutantes selecionados na geração M3 e as cultivares testemunhas pela técnica de AFLP. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, comparados pelo teste de médias (Dunnett) a 5% de probabilidade, foi realizada também análises multivariadas através do programa GENES (CRUZ, 2007). Em ambas cultivares foram obtidos mutantes com características de interesse agrônomo, como redução no ciclo da cultura e na altura das plantas, incremento na espessura do colmo, maior perfilhamento e número de panículas, maior número de grãos por panícula e maior peso de 1000 grãos. A técnica AFLP mostrou até 51% de dissimilaridade entre os genótipos de mesma origem, sendo M\_CTT/E\_AAC a combinação de primers mais informativa entre as 13 combinações testadas neste estudo. Com base nos resultados obtidos, conclui-se que alguns dos mutantes obtidos poderão ser utilizados futuramente para estudos de ação gênica, cruzamentos e/ou para o lançamento de uma nova cultivar.

**Palavras chave:** *Oryza sativa* L., variabilidade genética, raios gama, caracteres agrônômicos e AFLP.



## ABSTRACT

SILVA, Aline Scheer da. **Morphophenological and molecular characterization of irrigated rice mutants.** 2013. 83f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fisiologia Vegetal da Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

Irrigated rice (*Oryza sativa* L.) presents a great economic and social importance, mainly in Brazil's southern region, which stimulates the search for more productive cultivars and with agronomic characteristics that meet market requirements. Support techniques to improvement programs, as induced mutations and use of molecular markers, are being increasingly used. Induced mutations are considered to be an alternative method in order to create genetic variability, being the use of ionizing radiation an effective technology with which mutants were obtained with characteristics of higher productivity, precocity, smaller, higher resistance to disease and pest infestation in different species, which are used in improvement programs to obtain new cultivars. AFLP is one of the most used molecular markers techniques to analyze genetic divergence in plant populations, mainly in species that present low rate of polymorphism in the DNA. The aim of this work was morphophenological and molecular characterization of mutants of rice derived from the BRS Querência and BRS Fronteira elite cultivars, which can turn into new cultivars or serve to crossings in rice breeding programs. In the 2009/2010 growing season, seeds of M1 plants (originated from seeds exposed to different doses of gamma radiation) were sown in trays containing soil typically found in rice culture, aiming seedling production. From two to three leaves, seedlings were transplanted to the field forming M2 population. In this generation, 59 mutants with agronomic characteristics of interest were selected. In the following growing season (2010/2011), seeds of these 59 mutant plants were sown and transplanted in the same previous conditions and formed M3 population. In all generations, morphophenologic descriptors of rice culture were evaluated. Genetic divergence among the mutant selected in generation M3 and the

cultivar witnesses through the AFLP technique were also evaluated. The obtained data were submitted to analysis of variance, compared by means test (Dunnett) to 5% of probability. Multivariate analysis through GENES software were also performed (CRUZ, 2007). In both cultivars, mutants with characteristics of agronomic concern were obtained, such as reduction in culture cycle and in height of the plants, increase in thickness of the stem, greater tillering and panicle number, higher number of grains per panicle and higher 1000-grain weight. AFLP technique showed up to 51% dissimilarity among genotypes of the same origin, being M\_CTT/ E\_AAC the most informative primer combinations among the 13 combinations tested in this study. Based on the results that were obtained we conclude that some of the mutants obtained can be used in the future for gene action studies, crossings and/or to launch a new cultivar.

Keywords: *Oryza sativa* L., genetic variability, gamma rays, the agronomic characters and AFLP.

## LISTA DE TABELAS

### CAPÍTULO 1 - ESTUDOS BIOMÉTRICOS E GENÉTICOS EM MUTANTES DE ARROZ

**Tabela 1** - Estatística descritiva para 12 caracteres morfofenológicos da cultura do arroz, avaliados em 25 mutantes oriundos da cv. BRS Querência (BRS QUE) e 34 mutantes oriundos da cv. BRS Fronteira (BRS FRO). Pelotas, safra 2010/2011..... 23

**Tabela 2** Parâmetros genéticos para 12 caracteres morfofenológicos da cultura do arroz, avaliados em mutantes oriundos das cv. BRS Querência e BRS Fronteira. Pelotas, safra 2010/2011..... 25

### CAPÍTULO 2 - VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE MUTANTES DE ARROZ BASEADO EM CARACTERES AGRONÔMICOS

**Tabela 1:** Contribuição relativa dos caracteres morfofenológicos para dissimilaridade genética de 59 mutantes de arroz oriundos das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira, pelo método proposto por SINGH(1981), em ordem decrescente de importância ..... 44

**Tabela 2** - Agrupamento baseado em 12 caracteres morfofenológicos, pelo método de Tocher, de 61 genótipos de arroz, sendo um controle de cada cultivar, 25 mutantes oriundos da cv. BRS Querência e 34 mutantes oriundos da cv. BRS Fronteira..... 46

**Tabela 3:** Variância percentual e acumulada das variáveis canônicas obtidas a partir de 12 caracteres morfofenológicos avaliados em 59 mutantes de arroz e seus controles BRS Querência e BRS Fronteira..... 47

**CAPÍTULO 3 - ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE E RELAÇÃO GENÉTICA  
DE GENÓTIPOS MUTANTES DE ARROZ COM BASE NO POLIMORFISMO  
DE MARCADORES AFLP**

**Tabela 1** Combinações AFLP com seus respectivos parâmetros de variabilidade genética avaliados ..... 62

**Tabela 2** Matriz de similaridade genética de Simple Matching dos 12 genótipos de arroz a partir dos alelos polimórficos das 13 combinações AFLP..... 68

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1 - ESTUDO BIOMÉTRICO E GENÉTICO EM MUTANTES DE ARROZ

**Figura 1** Frequência de mutantes iguais, superiores e inferiores às testemunhas da cv. BRS Querência para doze caracteres agronômicos analisados, sendo 25 o total de mutantes. Conforme teste de médias (Dunnett) a 5% de probabilidade..... 26

**Figura 2** Frequência de mutantes iguais, superiores e inferiores as testemunhas da cv. BRS Fronteira para doze caracteres agronômicos analisados, sendo 34 o total de mutantes. Conforme teste de médias (Dunnett) a 5% de probabilidade..... 28

### CAPÍTULO 2 - VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE MUTANTES DE ARROZ BASEADO EM CARACTERES AGRONÔMICOS

**Figura 1** Dendograma de agrupamento dos 61 genótipos de arroz, sendo 59 mutantes e as cultivares controle BRS Querência (60) e BRS Fronteira (61), gerado pelo método UPGMA, com base na análise de caracteres quantitativos, utilizando a distância de Mahalanobis ..... 42

**Figura 2** Gráfico de dispersão dos 61 genótipos de arroz, sendo 59 mutantes e as cultivares controle BRS Querência (60) e BRS Fronteira (61), em relação aos escores das duas primeiras variáveis canônicas (VC1 e VC2)..... 48

### CAPÍTULO 3 - ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE E RELAÇÃO GENÉTICA DE GENÓTIPOS MUTANTES DE ARROZ COM BASE NO POLIMORFISMO DE MARCADORES AFLP

<b>Figura 1</b> Distribuição do MI (Índice do marcador) pelas 13 combinações AFLP .....	63
<b>Figura 2</b> Número de alelos observados de todas as combinações AFLP em cada genótipo de arroz. A- BRS Querência e seus respectivos mutantes e, B- BRS Fronteira com seus respectivos mutantes .....	64
<b>Figura 3</b> Dendrograma gerado pelo método UPGMA, a partir da similaridade genética obtida pelo coeficiente de Simple Matching, dos 10 genótipos de arroz mutantes e dos dois controles.....	68
<b>Figura 4</b> Gráfico tridimensional representando as principais coordenadas que explicam 65,81% da variância dos dados de similaridade genética da matriz Simple Matching .....	69

## SUMÁRIO

RESUMO.....	5
ABSTRACT.....	7
LISTA DE FIGURAS.....	9
LISTA DE TABELAS.....	11
INTRODUÇÃO GERAL.....	15
CAPÍTULO 1 - ESTUDOS BIOMÉTRICOS E GENÉTICOS EM MUTANTES DE ARROZ.....	20
INTRODUÇÃO.....	20
MATERIAL E MÉTODOS.....	21
RESULTADOS .....	23
DISCUSSÕES.....	29
CONCLUSÕES.....	32
REFERÊNCIAS.....	32
CAPÍTULO 2 – VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE MUTANTES DE ARROZ BASEADO EM CARACTERES AGRONÔMICOS .....	37
INTRODUÇÃO.....	37
MATERIAL E MÉTODOS.....	38
RESULTADOS.....	40
DISCUSSÕES.....	48
CONCLUSÕES.....	51
REFERÊNCIAS.....	51

CAPÍTULO 3 - ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE E RELAÇÃO GENÉTICA DE GENÓTIPOS MUTANTES DE ARROZ COM BASE NO POLIMORFISMO DE MARCADORES AFLP.....	56
INTRODUÇÃO.....	56
MATERIAL E MÉTODOS.....	58
RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	61
CONCLUSÕES.....	71
REFERÊNCIAS.....	71
CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	76
REFERÊNCIAS.....	77
ANEXO 1.....	81
ANEXO 2.....	82



## INTRODUÇÃO GERAL

O arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das culturas mais importantes do mundo, sendo cultivado em um décimo do total de terra arável (RASHID et al., 2009). Alimento básico para maior parte da população é classificado como segundo cereal mais consumido, sendo a Ásia responsável por 92% da produção total deste cereal no mundo (TABASUN et al., 2011). O Brasil é o nono produtor mundial e excluindo-se os países asiáticos, o maior produtor, com produção oriunda de dois sistemas de cultivo: várzea (irrigado) e terras altas (sequeiro). Entre os Estados brasileiros o Rio Grande do Sul contribui com 66,5% da produção nacional, representando grande importância econômica e social (CONAB, 2013).

A pesquisa com arroz irrigado no Rio Grande do Sul tem efetiva participação da Embrapa Clima Temperado (CPACT), sendo a mesma responsável pelo lançamento de várias cultivares nas últimas décadas. Dentre as cultivares lançadas tem-se a BRS Querência e a BRS Fronteira.

A cultivar BRS Querência originou-se de um cruzamento controlado entre a linhagem CL 246 e a cultivar Zho Fee NO 10, em 1989/90, na Embrapa Clima Temperado, em Pelotas, RS. A linhagem CL 246 é fonte de qualidade de grão, produtividade, resistência à brusone e apresenta boa adaptação às condições edafoclimáticas predominantes no sul do Brasil, aliada à características de grãos com excelente qualidade industrial e culinária. Já o genitor Zho Fee é uma ótima fonte de tolerância ao frio. Em 2000, a linhagem passou a integrar a rede de Ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU) do Rio Grande do Sul, apresentando ótimo desempenho nas diversas regiões orizícolas onde foi avaliada. Esta cultivar foi lançada em 2004, tem ciclo precoce, ao redor de 110 dias, da emergência das plântulas à maturação completa dos grãos, é constituída por plantas do tipo "moderno-americano", de folhas e grãos lisos com boa tolerância a doenças. Seus

grãos são longo-finos ("agulhinha"), com elevado rendimento industrial, altamente translúcidos ("vítreos") e de ótima qualidade culinária (FAGUNDES et al.,2005).

A cultivar BRS Fronteira originou-se do cruzamento triplo entre os genitores CNA 6183, BR IRGA 409 e IRI 344, realizado pela Embrapa Arroz e Feijão em 1990. Os dois primeiros apresentam boas características agronômicas e grãos com excelentes qualidades industriais e culinárias, e o IRI 344 é fonte de resistência a brusone e mancha de grãos. Como resultado da parceria estabelecida entre a Embrapa através de seus centros, Embrapa Arroz e Feijão e Embrapa Clima Temperado, Fundação Marona e a Coordenadoria de Assistência Técnica Integrada (CATI), através do Núcleo de Produção de Sementes, Mudanças e Matrizes de Taubaté, a cultivar BRS Fronteira foi avaliada nos Estados do Rio Grande do Sul e São Paulo, em Ensaios de Valor de Cultivo e Uso (VCU) no período agrícola de 2001/02 a 2003/04, tendo como testemunha a cultivar BR-IRGA 409. É uma cultivar de ciclo médio (em torno de 135 dias) que combina características de arquitetura moderna de planta, resistência ao acamamento, panículas longas e alta capacidade produtiva com grãos de classe longo-fino, casca lisa e de qualidade industrial e culinária similares aos da BR-IRGA 409, de ampla aceitação pela indústria arroseira. Sendo assim, o lançamento desta cultivar teve como objetivo aumentar a diversidade genética e dar maior opção aos produtores gaúchos e paulistas (CUTRIM et al., 2006).

No entanto, as cultivares lançadas, por melhor que sejam em desempenho produtivo, dificilmente conseguem reunir todos caracteres ideais em um único genótipo. No caso da BRS Querência, um melhor padrão de arquitetura de plantas (maior número de perfilhos, menor estatura e ângulo mais ereto da folha bandeira) e uma maior resistência ao frio poderia aumentar seu desempenho produtivo a campo. Já para a cultivar BRS Fronteira a redução do ciclo é o principal parâmetro a ser alterado.

Nas últimas décadas, o crescimento na produção de arroz foi alcançado principalmente pelo aumento de produtividade. Entretanto, atualmente, os ganhos baseados em tal parâmetro têm sido menores ou com pequenos incrementos. Assim, o aumento e identificação de variabilidade genética é de extrema importância para o melhoramento desta espécie, pois os programas de melhoramento de arroz conduzidos no Brasil e no mundo têm utilizado um número restrito de genitores elite nos cruzamentos, contribuindo assim para a redução da base genética e a não

obtenção de ganhos em produtividade de grãos. Apenas sete ancestrais foram identificados como responsáveis por 70% da composição gênica das cultivares de arroz irrigado mais utilizadas no País. No Rio Grande do Sul, seis ancestrais contribuem com 86% dos genes das cultivares mais plantadas (CORDEIRO e RANGEL, 2011), isto acarreta em alta vulnerabilidade das cultivares a estresses abióticos por serem geneticamente relacionadas e também a redução de ganhos de seleção, principalmente para características quantitativas, como a produtividade de grãos (CORDEIRO e MEDEIROS, 2010).

Assim, os aumentos nos ganhos por seleção só são possíveis se for introduzida variabilidade genética adicional às populações em melhoramento, pois a diversificação proveniente da ampliação da base genética permite o surgimento de novas combinações alélicas e adaptações a ambientes específicos (CORDEIRO, 2001; CORDEIRO et al., 2003). Sendo a produtividade de grãos um caráter quantitativo, a probabilidade de se encontrar um indivíduo, em qualquer geração segregante, que contenha todos os alelos favoráveis, é muito pequena. Esses alelos geralmente estão dispersos nas famílias sob avaliação. Selecionando-se as famílias superiores e inter cruzando-as, aumenta-se a frequência de alelos favoráveis na nova população (CORDEIRO et al., 2003; RANGEL et al., 2005).

Segundo Majeed e Muhammad (2010) técnicas de radiação ionizante são amplamente utilizadas na agricultura para a obtenção de variabilidade genética e, ao contrário do melhoramento tradicional que envolve genitores, longo período de tempo e onerosa mão-de-obra para a produção de novas combinações genéticas a partir de genes parentais já existentes, cria novas combinações de genes com alta frequência de mutações. Muitas destas, podem ser benéficas e resultarem em altos ganhos econômicos para a cultura. Além disso, a radiação ionizante contribui eficazmente em estudos genéticos e desenvolvimento de cultivares melhoradas (HAJOS, 2009; LEE et al., 2002).

Dentre os tipos de radiação ionizantes, os raios gama são conhecidos por influenciar o crescimento e desenvolvimento das plantas pela indução de alterações citológicas, bioquímicas, fisiológicas e genéticas (HAMEED et al., 2008; GUNCKEL e SPARROW, 1961). Em arroz, vários resultados sobre distintos caracteres morfofenológicos foram obtidos pelo uso de radiação gama, como redução no ciclo da cultura (RASHID et al., 2009; MARTINS et al., 2005), e na altura de plantas mutantes (SILVA et al., 2012; TABASUM et al., 2011; SHEHZAD et al., 2011;

RASHID et al., 2009; MARTINS, et al., 2005), incremento no número de panículas por planta, no número de grãos por panícula, no número de perfilhos e no peso de 1000 grãos (SHEHZAD et al., 2011; MARTINS et al., 2005).

Dentre os caracteres citados acima, as alterações no ciclo da cultura podem ser determinantes na produção de arroz no Rio Grande do Sul, pois cultivares com ciclo longo normalmente sofrem com estresse por frio na fase reprodutiva (CRUZ e MILACH, 2000). Assim, o desenvolvimento de cultivares com constituições genéticas que resultem em redução do ciclo pode amenizar os efeitos causados por estresses bióticos e até abióticos, uma vez que cultivares com ciclo reduzido permanecem por um período menor de tempo no campo, minimizando os efeitos prejudiciais do frio e dos patógenos. Além disso, a redução no porte das plantas permite o uso de doses mais elevadas de nitrogênio, sem acamamento de plantas; resultando consequentemente, em incremento de caracteres correlacionados diretamente com a produtividade (MAGALHÃES, 2007).

Após detectar a presença de características agronômicas superiores é importante verificar a herdabilidade de cada um destes parâmetros, pois a principal função da herdabilidade ( $h^2$ ) é o seu papel preditivo, o qual expressa a confiabilidade do valor fenotípico como estimador do genotípico, de tal forma que, quanto maior a herdabilidade, maior o ganho genético por seleção (RAMALHO et al., 1993).

Nos últimos anos, as técnicas com base em marcadores de DNA junto com a análise de características morfológicas têm sido utilizadas para detectar variações no nível de DNA para distinguir genótipos estreitamente relacionados. O desenvolvimento do “Amplified Fragment Length Polymorphism” (AFLP) (VOS et al., 1995) permitiu a caracterização do genoma de várias culturas (ZHU et al., 1998; PRASHANTH et al., 2002; WITKOWICZ et al., 2003; MALONE et al., 2006; RASHID et al., 2009; THEERAWITAYA et al., 2011 ).

O nível de variação detectada usando técnicas AFLP depende da combinação das enzimas de restrição selecionadas, do número de combinações de primers utilizado e da distância genética entre os genótipos analisados. Marcadores do tipo AFLP permitem a detecção de variações de muitos loci simultaneamente, sendo amplamente utilizados para a avaliação da variação genética entre genótipos com grau de parentesco diferenciados, especialmente entre aqueles genótipos com pequena distância genética, como geralmente ocorre entre as cultivares e os

mutantes oriundos delas (GONZÁLEZ et al, 2008). Em arroz, muitos trabalhos com mutantes revelaram polimorfismo e mostraram a eficiência da técnica (LU et al, 2010; GONZÁLEZ et al, 2008; LI et al, 2007; YU et al; 2007)

Nesse contexto, com objetivo de aumentar a variabilidade do pool genético de cultivares plantadas em nossa região, iniciou-se um estudo em nível de mestrado em parceria da Embrapa Clima Temperado e a Universidade Federal de Pelotas onde lotes de sementes das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira (com 13 e 25% de umidade) foram irradiadas com diferentes doses de radiação gama (fonte de  $\text{Co}^{60}$  "Eldorado 78" /Atomic Energy of Canadá Ltda). Estas sementes foram imediatamente semeadas em bandejas contendo solo típico da cultura do arroz. Neste trabalho, analisou-se a radiosensibilidade nas plântulas de arroz irrigado, seu potencial de crescimento e capacidade antioxidante. Plântulas de todos os tratamentos foram transplantadas para o campo onde foram realizadas avaliações morfofenológicas na geração M1. Visando confirmar se as avaliações dos caracteres discriminantes observadas nos mutantes M1 foram efeito de alterações genéticas ou ambientais, e se estas alterações eram herdáveis, foi dado continuidade ao trabalho em nível de doutorado. Durante o desenvolvimento do trabalho de tese, as sementes obtidas na geração M1, passaram por mais duas gerações, sendo realizadas avaliações, seleções e estudos moleculares dos mutantes obtidos. Assim o objetivo do presente estudo foi a caracterização morfofenológica e molecular de mutantes oriundos das cultivares elite BRS Querência e BRS Fronteira, os quais poderão se transformar em novas cultivares ou servirem para cruzamentos em programas de melhoramento e/ou estudos de ação gênica.

## **CAPÍTULO 1 - ESTUDOS BIOMÉTRICOS E GENÉTICOS EM MUTANTES DE ARROZ**

### **INTRODUÇÃO**

O arroz (*Oryza sativa* L.) é cultivado e consumido em todos os continentes, destacando-se pela produção e área de cultivo (ROTILI et al., 2010). No Brasil, sobretudo na região sul, o arroz irrigado apresenta grande importância econômica e social, fato que estimula a busca por cultivares mais produtivas e com características agrônomicas que atendam as exigências de mercado.

O sucesso de um programa de melhoramento de plantas reside na existência de variabilidade na população de trabalho (CRUZ, 2006). Neste sentido, a mutação induzida tornou-se uma ferramenta muito utilizada visando o aumento de variabilidade genética (FU et al., 2008). Existem diversas fontes de indução de mutação, porém a radiação gama é considerada como uma das principais (KHIN, 2006). Por meio do uso de radiações ionizantes foram obtidos mutantes com características de maior produtividade, precocidade, menor porte, maior resistência às doenças e pragas em diferentes espécies, os quais são utilizados nos programas de melhoramento na obtenção de novas cultivares (SHEHZAD et al., 2011). Estudos mostram que mais de 2.200 variedades de plantas cultivadas foram obtidas utilizando radiação, sendo que 64% destas foram induzidas por radiação gama (AHLOOWALIA et al., 2004; WU et al., 2005). Melhoristas têm recomendado, para a formação de população-base, o intercruzamento entre cultivares superiores e divergentes. Essa divergência pode ser avaliada a partir de caracteres agrônomicos, morfológicos, moleculares, entre outros. As informações múltiplas de cada cultivar são expressas em medidas de dissimilaridade, que apresentam a variabilidade que há no conjunto de acessos estudados (CRUZ, 2006).

Em programas de melhoramento é de fundamental importância o conhecimento da adaptabilidade e estabilidade dos genótipos, visando-se amenizar os efeitos da interação genótipos x ambientes (FREIRE FILHO et al., 2005). Além da adaptabilidade e estabilidade, a análise de parâmetros genéticos é de grande importância, pois as informações provenientes dos componentes de variância genotípica, herdabilidade e índice de variação são essenciais aos melhoristas para inferências sobre os ganhos a serem alcançados com a seleção (SOBIERAJSKI et al., 2006).

A principal função da herdabilidade é seu papel preditivo, que expressa a confiabilidade do valor fenotípico como estimador do valor genotípico, de tal forma que quanto maior a herdabilidade, maior o ganho genético por seleção (RAMALHO et al., 1993). A comparação da variabilidade liberada entre os genótipos pode também ser estimada por meio do coeficiente de variação genética (CVg), que é a medida do desvio genético em relação à média (CORDEIRO et al., 2003).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi obter variabilidade genética através de mutação induzida, caracterizar e selecionar grupos de plantas mutantes quanto à estatura e arquitetura de planta, espessura de colmo, número de perfilhos, número e comprimento de panículas, peso de mil grãos e ciclo da cultura, em relação cultivares elite BRS Querência e BRS Fronteira, visando utilizar esta variabilidade em programas de melhoramento genético de arroz irrigado.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação e no campo experimental da Embrapa Clima Temperado, localizada em Pelotas, RS, durante as safras 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011. Foram utilizadas sementes de arroz irrigado das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira, cedidas pela mesma instituição de pesquisa. Na primeira safra (2008/2009) foram realizados tratamentos com radiação gama em fonte de  $Co^{60}$  "Eldorado 78" (Atomic Energy of Canadá Ltda.) do Centro de Oncologia do Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina, UFPel. Diferentes doses de radiação (0, 200, 250, 300, 350 Gy) foram obtidas através da variação do tempo de exposição das sementes, na taxa de 15,24 Gy por minuto. Foram irradiados, para cada cultivar e dose, amostras de 500 sementes com 13% de umidade. Depois de irradiadas as sementes foram imediatamente semeadas em

bandejas plásticas contendo solo tipo Planossolo Háplico, típico da cultura de arroz irrigado, cuja umidade foi mantida através de irrigação manual. Aos 28 dias após a semeadura (DAS), quando as plântulas estavam no estágio V4, foram transplantadas para o campo experimental. As práticas de adubação e manejo foram adotadas segundo as recomendações técnicas de cultivo do arroz irrigado (SOSBAI, 2007). Foram colhidas sementes de cada tratamento e na safra seguinte (2009/2010) estas foram semeadas e transplantadas nas mesmas condições do ano anterior, sendo realizadas avaliações morfofenológicas nas plantas de cada tratamento (dados não mostrados). Nesta safra foram selecionadas 59 plantas mutantes, sendo 25 da cv. BRS Querência e 34 da cv. BRS Fronteira (Anexo 1). Para seleção das plantas foram empregados alguns critérios como duração de ciclo, estatura e arquitetura de planta, número de panículas, número de perfilhos, ausência de doenças, baixa esterilidade de espiguetas, peso de mil grãos, entre outros. Ao final do ciclo da cultura as sementes foram colhidas e armazenadas. Na safra subsequente (2010/2011), as sementes das 59 plantas selecionadas foram semeadas e transplantadas conforme as safras anteriores. No entanto, para este experimento foi usado o delineamento experimental de blocos aumentados de Federer (1955), com 12 blocos sendo cada bloco composto por 5 linhas com testemunhas intercalares das duas cultivar a cada bloco. Os 59 genótipos avaliados foram distribuídos em linhas de 4 metros, sendo cada linha um genótipo com 20 plantas espaçadas a cada 0,2m. As práticas de adubação e manejo também foram adotadas segundo as recomendações técnicas de cultivo do arroz irrigado (SOSBAI, 2010). Quando as plantas de cada linha atingiram plena floração (50% das plantas com emissão da panícula) foram mensurados os seguintes descritores morfológicos: altura de planta (da superfície do solo até a ponta da panícula - cm), comprimento do colmo (da superfície do solo até a base da panícula - cm), espessura de colmo (leitura na penúltima aurícula com paquímetro digital - mm), comprimento e largura da folha bandeira (cm), número de perfilhos, número de panículas por planta e comprimento de panícula (cm). Foi avaliado o ciclo da cultura e após a colheita, no laboratório foi analisado o número de grãos por panícula, número de espiguetas estéreis por panícula e o peso de 1000 grãos (g).

Os dados experimentais foram submetidos à análise de variância, comparados pelo teste de médias (Dunnett) a 5% de probabilidade através do programa GENES - Versão Windows, Aplicativo Computacional em Genética e



Estatística (CRUZ, 2007). Para cada caráter agrônomo foram analisadas as médias, valores médios máximos e mínimos encontrados, além do coeficiente de variação experimental (CVe), coeficiente de variação genético (CVg), CV genético/Cv ambiental e herdabilidade.

## RESULTADOS

Com a finalidade de verificar a diversidade morfofenológica, foram analisados parâmetros biométricos e genéticos de 12 caracteres morfofenológicos em 25 plantas mutantes oriundas da cv. BRS Querência e 34 plantas mutantes oriundas da cv. BRS Fronteira (Tabela 1 e 2). As condições de cultivo foram iguais para todas as plantas avaliadas, assim, pode-se inferir que os acessos constituem genótipos distintos, uma vez que foi detectada variabilidade morfológica entre os mesmos.

Tabela 1 - Estatística descritiva para 12 caracteres morfofenológicos da cultura do arroz, avaliados em 25 mutantes oriundos da cv. BRS Querência (BRS QUE) e 34 mutantes oriundos da cv. BRS Fronteira (BRS FRO). Pelotas, safra 2010/2011.

	Média Test		Média Mut		Máximo Mut		Mínimo Mut		CVe % geral	CVe % TEST	CVe % Mut
	BRS QUE	BRS FRO	BRS QUE	BRS FRO	BRS QUE	BRS FRO	BRS QUE	BRS FRO			
<b>AP</b>	97,0	92,3	98,5	93,1	104,98	99,78	82,98	85,18	3,61	3,62	3,6
<b>CC</b>	71,8	69,6	72,2	68,2	78,00	74,00	62,50	65,00	4,56	4,52	4,57
<b>EC</b>	3,9	3,5	4,1	4,0	4,47	4,58	3,71	3,45	3,68	3,93	3,59
<b>CFB</b>	31,7	27,0	33,3	30,6	36,87	36,17	22,07	25,17	9,12	9,65	8,92
<b>LFB</b>	1,9	1,5	1,9	1,7	2,25	1,98	1,74	1,38	2,54	2,62	2,51
<b>NPER</b>	16,5	17,9	15,5	17,6	21,22	25,62	11,62	14,32	9,01	8,98	9,13
<b>NPAN</b>	15,7	15,8	14,5	16,6	19,67	23,27	10,37	12,67	5,91	5,93	5,9
<b>CPAN</b>	33,47	28,9	33,3	30,4	36,40	36,40	30,90	28,21	3,23	3,27	3,21
<b>NGP</b>	170,3	145,2	182,1	160,3	232,16	197,36	138,56	134,26	7,52	7,98	7,35
<b>NEE</b>	68,9	23,8	49,9	36,6	98,56	78,96	23,56	19,96	11,7	11,00	12,0
<b>P1000</b>	24,2	25,8	24,0	26,3	25,78	28,9	21,90	23,38	0,68	0,68	0,68
<b>CICLO</b>	113,0	130,6	113,4	122,2	121,0	127,0	106,0	112,0	0,67	0,68	0,67

“Média Test” referente à média das testemunhas e “Média Mut” referente a médias dos mutantes. Sendo Máximo Mut = valor máximo encontrado nos mutantes e Mínimo Mut = valor mínimo encontrado nos mutantes. Caracteres avaliados: AP (altura de planta), CC (comprimento do colmo),

EC (espessura do colmo), CFB (comprimento da folha bandeira), LFB (largura da folha bandeira), NPER (número de perfilhos), NPAN (número de panículas), CPAN (comprimento de panícula), NGP (número de grãos por panícula), NEE (número de espiguetas estéreis), P1000 (peso de mil grãos) e Ciclo da cultura (número de dias).

Desta forma pode-se observar (Tabela 1) que para a maioria dos caracteres as médias das testemunhas (BRS Querência e BRS Fronteira) foram muito similares às médias dos mutantes. No entanto, dentro do grupo de mutantes ocorreu variação em todos os parâmetros analisados em ambas cultivares, como pode ser visto na amplitude entre o valor máximo e o mínimo encontrado para cada variável.

Ao analisar os valores máximos e mínimos e comparar com a média da cultivar em questão pode-se observar que a radiação gerou mutantes com características muito interessantes para o melhoramento do arroz. Na cv. BRS Querência, por exemplo, foram encontradas plantas com altura de 82,9cm (redução de 14,5%), comprimento de colmo de 62,5cm (redução de 12,9%), número de perfilhos igual a 21,2 (incremento de 28,5%), número de panículas igual a 19,7 (incremento de 25,5%), além de incremento no número de grãos por panícula (36,4%), no peso de mil grãos (6,6%) e redução de 6,2% no ciclo da cultura. Já na cultivar BRS Fronteira observou-se redução de até 7,7% na estatura das plantas e de aproximadamente 15% no ciclo da cultura, espessura de colmo de 4,6cm (incremento de 31,4%), número de perfilhos e panículas superiores em torno de 45%, além disto, maior número de grãos por panícula (superior 35,9%) e peso de mil grãos (superior 12%).

O coeficiente de variação experimental foi muito semelhante nas testemunhas e nos mutantes, o que mostra a precisão do experimento e por consequência a menor variação do erro. Sendo que o maior coeficiente ocorreu para número de espiguetas estéreis por panícula ( $CVe\% \text{ geral}=11,70$ ) e os menores para peso de 1000 grãos ( $CVe\%=0,68$ ) e ciclo da cultura ( $CVe\%=0,67$ ).

Tabela 2 - Parâmetros genéticos para 12 caracteres morfofenológicos da cultura do arroz, avaliados em mutantes oriundos das cv. BRS Querência e BRS Fronteira. Pelotas, safra 2010/2011.

<b>Caráter</b>	<b>Herdabilidade (%)</b>	<b>CV genético (%)</b>	<b>CVgenético/CV ambiental</b>
<b>AP</b>	85,76	4,54	1,0
<b>CC</b>	76,40	4,32	0,8
<b>EC</b>	51,82	3,52	0,46
<b>CFB</b>	60,45	7,39	0,55
<b>LFB</b>	95,49	12,18	2,06
<b>NPER</b>	81,00	14,39	0,92
<b>NPAN</b>	83,14	14,24	1,0
<b>CPAN</b>	89,13	6,69	1,28
<b>NGP</b>	70,67	11,0	0,69
<b>NEE</b>	87,72	38,92	1,19
<b>P1000</b>	92,17	6,1	1,53
<b>CICLO</b>	99,45	6,79	0,92

Siglas dos caracteres avaliados: AP (altura de planta), CC (comprimento do colmo), EC (espessura do colmo), CFB (comprimento da folha bandeira), LFB (largura da folha bandeira), NPER (número de perfilhos), NPAN (número de panículas), CP (comprimento de panícula), NGP (número de grãos por panícula), NEE (número de espiguetas estéreis) e P1000 (peso de mil grãos).

Dentre os caracteres analisados o maior valor do coeficiente de variação genético (CVg) ocorreu no número de espiguetas estéreis (38,92%), já os menores valores ocorreram na altura de planta, no comprimento e espessura de colmo; mostrando neste últimos o baixo polimorfismo adquirido pelo melhoramento da espécie ao longo dos anos que resultou em fixação de genes para estes caracteres. No entanto, para altura de planta e número de panículas a relação CVg/CVe foi igual a um, que significa que estas variáveis são influenciada em proporções iguais pelo genótipo e pelo ambiente, apresentando em torno de 85% de herdabilidade como visto na Tabela 2. Maiores valores na relação CVg/CVe foram encontrados no ciclo da cultura e na largura da folha bandeira, indicando que estas variáveis possuem maior influência genética e portanto maior herdabilidade (99,45 e 95,49%, respectivamente), no entanto, menores valores na relação CVg/CVe e herdabilidade

ocorreram na espessura do colmo e no comprimento da folha bandeira, indicando que estes parâmetros são mais influenciados por variações ambientais. Apesar disso, todos parâmetros analisados apresentaram mais de 50% de herdabilidade.

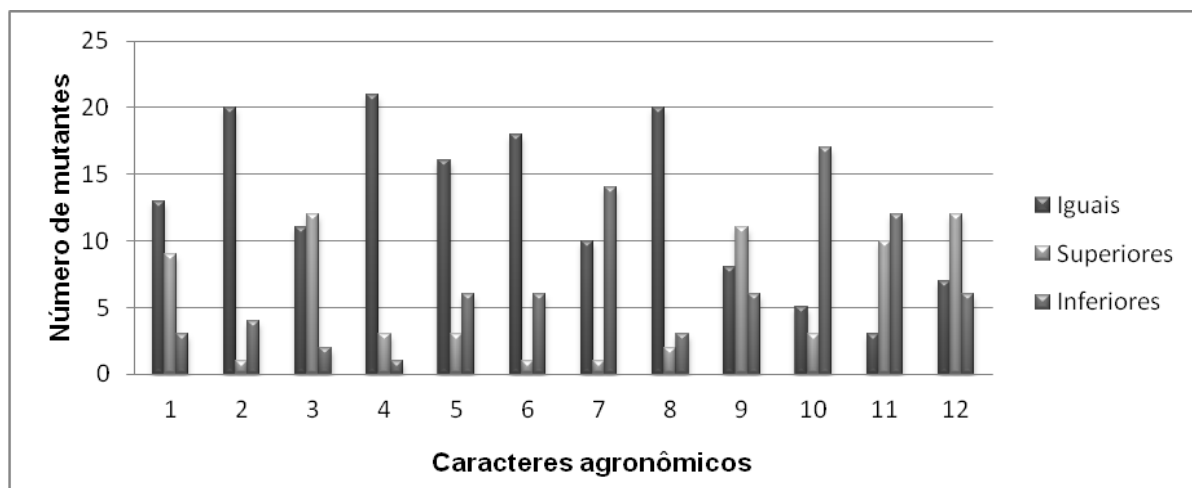


Figura 1 - Frequência de mutantes iguais, superiores e inferiores às testemunhas da cv. BRS Querência para doze caracteres agronômicos analisados, sendo 25 o total de mutantes. Conforme teste de médias (Dunnett) a 5% de probabilidade. Caracteres agronômicos: 1- Altura de planta, 2- Comprimento de Colmo, 3- Espessura de Colmo, 4- Comprimento da folha bandeira, 5- Largura da folha bandeira, 6- Número de perfilhos, 7- Número de panículas, 8- Comprimento da panícula, 9- Número de grãos por panícula, 10- Número de espiguetas estéreis por panícula, 11- Peso de 1000 grãos e 12- Ciclo da cultura.

Ao analisar os mutantes oriundos da cv. BRS Querência (Figura 1 e Anexo 2), para altura de plantas observou-se que doze genótipos apresentaram diferença, sendo nove com alturas superiores (102,0 a 104,9cm) à média das testemunhas (97,0cm) e três com altura inferior (82,9 a 91,7 cm). O mutante “Mut Que 44” apresentou a menor altura, sendo diferente de todos os demais. A amplitude do comprimento do colmo nos genótipos foi de 62,5 cm a 78,0 cm. Para esse parâmetro um genótipo foi superior (“Mut Que 33” com 78 cm) e quatro foram inferiores (“Mut Que 44”, “Mut Que 30”, “Mut Que 8”, “Mut Que 23” variando de 62,5 a 66,3 cm) à média das testemunhas (71,8 cm). Em relação à espessura do colmo 12 genótipos foram superiores, variando de 4,2 cm a 4,4 cm. Espessura menor à testemunha (3,9 cm) somente foi encontrada em “Mut Que 44” (3,71cm) e “Mut Que 8” (3,70cm), já a maior espessura foi encontrada em “Mut Que 17” (4,47cm). Para comprimento e

largura da folha bandeira três genótipos foram superiores, sendo que o comprimento variou de 36,07 a 36,87cm e a largura de 1,98 a 2,25cm. No comprimento apenas um genótipo foi inferior (22,07cm) à testemunha (31,70cm), já na largura da folha bandeira foram seis, variando de 1,74 a 1,84cm. Ao avaliar o número de perfilhos observou-se que sete genótipos apresentaram diferença em relação à cv. BRS Querência (16,53), sendo que apenas um obteve mais perfilhos (“Mut Que 30” com 21,2 perfilhos), entretanto, seis apresentaram redução neste parâmetro, sendo que “Mut Que 44” foi o mutante que menos perfilhou (11,6 perfilhos).

O número de panículas aumentou em apenas um genótipo (“Mut Que 30”), apresentando 19,6 panículas; no entanto ocorreu declínio considerável no número de panículas em 14 mutantes (variando de 10,37 a 14,16), ao comparar-se com a testemunha (15,7). Já para o comprimento da panícula, em relação à testemunha (33,47cm), houve aumento significativo em “Mut Que 24” e “Mut Que 30” (35,9 e 36,4cm, respectivamente) e redução em “Mut Que 20”, “Mut Que 33” e “Mut Que 44” (que variaram de 30,90 a 31,60cm).

O número de grãos por panícula apresentou incremento em 11 mutantes, que apresentaram de 191 a 232 grãos em comparação com a testemunha (média de 170 grãos), sendo o maior número encontrado no “Mut Que 22”. Além disso, mais de 60% dos mutantes apresentaram redução no número de espiguetas estéreis. Sobre o peso de 1000 grãos, foi observado que dez mutantes obtiveram peso superior à testemunha (24,25g), variando entre 24,55 a 25,78g e quanto ao ciclo da cultura 12 genótipos apresentaram aumento no número de dias para completar o ciclo e 6 genótipos apresentaram redução neste caráter.

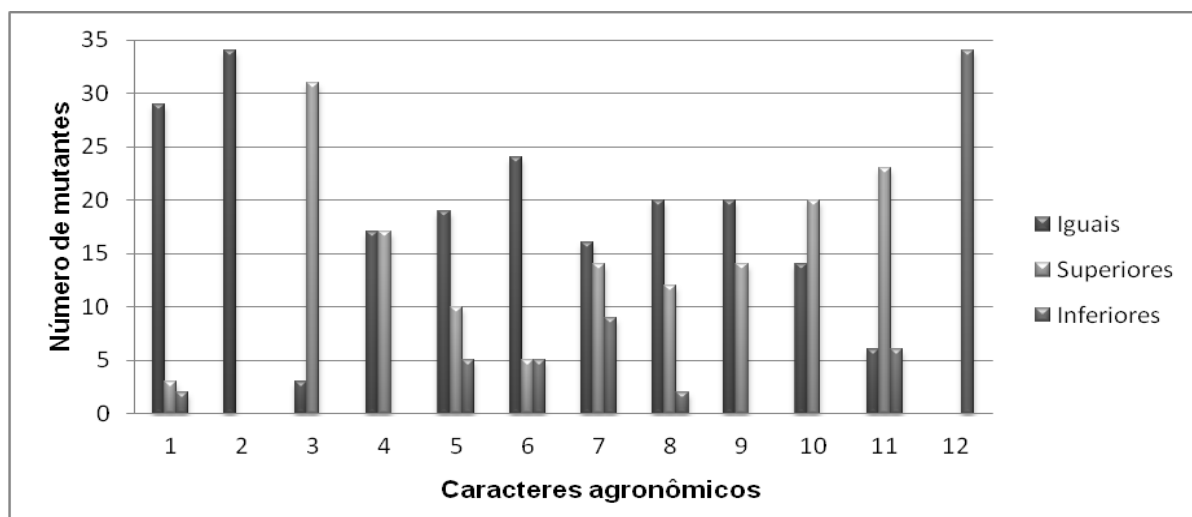


Figura 2 - Frequência de mutantes iguais, superiores e inferiores as testemunhas da cv. BRS Fronteira para 12 caracteres agronômicos analisados, sendo 34 o total de mutantes. Conforme teste de médias (Dunnett) a 5% de probabilidade. Caracteres agronômicos: 1- Altura de planta, 2- Comprimento de Colmo, 3- Espessura de Colmo, 4- Comprimento da folha bandeira, 5- Largura da folha bandeira, 6- Número de perfilhos, 7- Número de panículas, 8- Comprimento da panícula, 9- Número de grãos por panícula, 10- Número de espiguetas estéreis, 11- Peso de 1000 grãos e 12- Ciclo da cultura.

Todos os caracteres analisados nos mutantes oriundos da cultivar BRS Fronteira mostraram diferença estatística em relação às testemunhas, exceto o comprimento do colmo (Figura 2 e Anexo 2). Nesta cultivar três mutantes apresentaram incremento na altura (“Mut Fro 51”, “Mut Fro 52” e “Mut Fro 26 com respectivamente 97,2; 98,1 e 99,7cm) e apenas dois apresentaram redução significativa (“Mut Fro 57” e “Mut Fro 58” com respectivamente 85,1 e 86,5cm). No entanto, para espessura do colmo quase todos mutantes (91,2%) foram superiores (variando de 3,7 a 4,5cm) à média das testemunhas (3,5 cm), a maior espessura encontrada no mutante “Mut Fro 10”.

Na avaliação do comprimento da folha bandeira 50% dos mutantes apresentaram incremento neste caráter, sendo a maior folha bandeira encontrada no “Mut Fro 9” (36,17cm). Para a largura da folha bandeira, dez mutantes foram superiores, com largura variando de 1,62 a 1,98cm em relação á média das testemunhas (1,54cm).

Ao avaliar o número de perfilhos observou-se que cinco mutantes foram superiores (“Mut Fro 1”, “Mut Fro 31”, “Mut Fro 27”, “Mut Fro 58”, “Mut Fro 32”, variando de 21,0 a 25,6) e cinco inferiores (14,32 a 15,5), sendo que a média das testemunhas foi de 17,9 perfilhos por planta.

No número de panículas, 14 mutantes foram superiores (17,26 a 23,27) e quatro foram inferiores (12,67 a 14,17) à testemunha (15,83). Em relação ao comprimento de panículas, 12 genótipos foram superiores às testemunhas, sendo as maiores panículas encontradas em “Mut Fro 9” e “Mut Fro 26”, com 33,41 e 36,4cm, respectivamente. Com relação ao número de grãos por panícula, também foram 14 os mutantes que se diferenciaram positivamente em relação à testemunha (140,2 grãos), apresentando de 160,4 a 197,4 grãos. Já o número de espiguetas estéreis foi superior ao encontrado nas testemunhas para a maioria dos mutantes avaliados, não havendo nenhum com redução neste caráter. No entanto, todos mutantes apresentarem redução no ciclo da cultura e a maioria deles apresentaram peso de mil grãos superior (26,0 a 28,9g) a média da cultivar (25,7g).

## **DISCUSSÕES**

Os caracteres morfológicos do arroz agrupam-se em caracteres constantes (qualitativas) e variáveis (quantitativas); os primeiros são aqueles que definem a espécie ou a variedade e, geralmente, são controladas por poucos genes, apresentam alta herdabilidade e não se alteram, ou são pouco influenciadas pelo ambiente. Os caracteres variáveis, controladas por vários genes, geralmente apresentam baixa herdabilidade e recebem influência das condições ambientais (FONSECA et al. 2002).

De acordo com Rangel et al. (2005), foram identificados apenas sete ancestrais como responsáveis por 70% da composição gênica das cultivares de arroz irrigado mais semeadas no país. No Rio Grande do Sul, seis ancestrais contribuíam, até alguns anos atrás, com 86% dos genes das cultivares mais plantadas, como as cultivares BR IRGA 409, 410, 412 e 414 que apresentam a mesma genealogia. Assim, os aumentos nos ganhos por seleção somente são possíveis se for introduzida variabilidade genética adicional nas populações em melhoramento. Desta forma, o uso de radiação ionizante torna-se uma alternativa eficaz como observado neste e em outros estudos (KANG et al., 2013; SILVA et al., 2013; SILVA et al., 2012; SHEHZAD et al., 2011; RASHID et al., 2009).

A diversificação proveniente da ampliação da base genética permite o surgimento de novas combinações alélicas e adaptações a ambientes específicos, podendo proporcionar, por exemplo, uma maior redução da vulnerabilidade a insetos, e maior estabilidade da produção (CORDEIRO, 2001; CORDEIROS et al., 2003).

O desenvolvimento de cultivares de arroz irrigado de porte baixo é considerado como um dos maiores sucessos da história do melhoramento genético. A cultivar IR-8, lançada em 1966 pelo International Rice Research Institute (IRRI), ficou conhecida como arroz milagroso e revolucionou a agricultura mundial, por apresentar características agronômicas como porte baixo, alto perfilhamento, resposta à adubação nitrogenada e, principalmente, elevada produtividade de grãos (CORDEIRO e RANGEL, 2011). Neste contexto, a baixa estatura encontrada nos mutantes “Mut Que 44”, “Mut Que 23”, Mut Que 8”, “Mut Fro 57” e “Mut Fro 58” é de interesse agrônomo, já que permite o uso de doses mais elevadas de nitrogênio, sem acamamento de plantas e aumento, conseqüentemente, de caracteres correlacionados diretamente com a produtividade (MAGALHÃES, 2007). Vários estudos de indução de mutação com uso de radiação gama também relataram redução na altura de plantas mutantes (SILVA, et al., 2012; TABASUM et al., 2011; SHEHZAD et al., 2011; RASHID et al., 2009).

Em geral, plantas altas são mais propensas ao acamamento, que também depende do diâmetro e resistência do colmo, intensidade dos ventos e disponibilidade de água (FONSECA et al. 2002). Além disso, o aumento da produtividade pode ser conseguido com a redução na altura de planta, o que implica em seleção indireta para menor produção de matéria seca na parte aérea e, conseqüentemente, maior produção de grãos (KHUSH, 1995).

No presente estudo foram observados incrementos significativos na espessura do colmo em mutantes oriundos da cultivar BRS Fronteira (principalmente em “Mut Fro 10”). Este parâmetro também está diretamente correlacionada com o acamamento de plantas, principalmente naqueles genótipos de porte tradicional (altos), os quais tem ganhado importância mesmo com variedades de porte moderno cultivadas em sistema de cultivo pré-germinado (PETRINI e FRANCO, 2006). No entanto, a espessura do colmo, assim como seu comprimento podem ser influenciados pela fertilidade do solo e densidade de plantio utilizada (FONSECA et al. 2002).



É interessante ressaltar que embora poucos mutantes mostraram incremento no número de perfilhos (“Mut Que 30”, “Mut Fro 1”, “Mut Fro 31”, “Mut Fro 27”, “Mut Fro 58” e “Mut Fro 32”), número de panícula (“Mut Que 30”, “Mut Fro 58”, “Mut Fro 1”, “Mut Fro 32”, principalmente) e comprimento de panículas (“Mut Que 30”, “Mut Fro 26” e “Mut Fro 9”), houve aumento no número de grãos por panícula e no peso de mil grãos em pelo menos dez mutantes da cv. BRS Querência. Comportamento similar ocorreu nos mutantes oriundos da cv. BRS Fronteira, no entanto, estes apresentaram na grande maioria incremento no peso de mil grãos e pelo menos 14 deles apresentaram aumento no número de grãos por panícula.

Para a cv. BRS Querência é importante destacar os mutantes que apresentaram alterações na arquitetura de planta como redução na estatura (“Mut Que 44”, “Mut Que 23” e “Mut Que 8”), redução (“Mut Que 44” principalmente) e incremento no número de perfilhos (“Mut Que 30”), além daqueles com aumento no número de grãos por panícula (“Mut Que 22”, “Mut Que 24”, “Mut Que 42”, “Mut Que 48”, “Mut Que 25” e outros) e redução número de espiguetas estéreis (“Mut Que 44”, “Mut Que 41”, “Mut Que 45”, principalmente).

Já para a cv. BRS Fronteira ganho fundamental foi a obtenção de mutantes com redução de aproximadamente 15 dias no ciclo da cultura (“Mut Fro 26”, “Mut Fro 9”, “Mut Fro 1” e “Mut Fro 2”), sendo este o principal ponto a ser melhorado na cultivar já que a redução no ciclo pode minimizar o ataque de patógenos, os efeitos sofridos pelo frio na fase reprodutiva, além disso, também reduz a demanda de água necessária para o cultivo deste cereal.

Segundo Rocha et al., (2006), o coeficiente de variação genética sugere a existência de variabilidade entre genótipos avaliados e quanto maior for esse valor, maior será a herdabilidade, conseqüentemente, maior é a facilidade de encontrar indivíduos superiores que irão proporcionar ganhos genéticos durante o processo de seleção. Neste trabalho foi observada herdabilidade superior a 50% para todas as variáveis. Isto indica que a seleção de plantas com base nestes parâmetros provavelmente serão promissoras para uso em programas de melhoramento visando a seleção de linhagens de arroz irrigado. Além disso, o ciclo da cultura, o peso de mil grãos e a largura da folha bandeira apresentaram mais de 90% de herdabilidade, que expressa alto ganho genético destas seleções com base nestes parâmetros tão importantes, sendo um deles o peso de mil grãos que influencia diretamente a produtividade de grãos. Cordeiro e Medeiros (2010), também obtiveram ganho

expressivo para produtividade de grãos com a avaliação de famílias de arroz irrigado derivadas de cruzamentos interespecífico entre *Oryza sativa* x *Oryza glumaepatula*, avaliadas nas várzeas de Roraima.

No Brasil, o programa de melhoramento de arroz irrigado da EPAGRI lançou em 2005 a primeira cultivar SCS 114 Andosan oriunda de mutação induzida (VIEIRA et al, 2007). Recentemente, (SCHIOCCHET et al., 2013) apresentaram o lançamento da cultivar SCS 118 Marques também oriunda de mutação induzida. Estas conquistas reforçam a importância deste tipo de estudo com o intuito de obter e caracterizar variabilidade genética para o lançamento de cultivares melhoradas através do uso de radiação gama.

## CONCLUSÕES

Em ambas cultivares foram obtidos mutantes com caracteres de interesse agrônomo, diferentes das testemunhas, como redução do ciclo da cultura, redução na altura das plantas, incremento na espessura do colmo, maior perfilhamento e número de panículas, maior número de grãos por panícula e maior peso de 1000 grãos.

Em relação ao grupo originário da cultivar BRS Querência destaca-se a identificação de mutantes que expressaram redução na altura (“Mut Que 44”), um maior número de grãos por panícula (“Mut Que 22”, “Mut Que 24”, “Mut Que 42”, “Mut Que 48”, “Mut Que 25”...), bem como mutantes que apresentaram redução nas taxas de espiguetas estéreis (“Mut Que 44”, “Mut Que 41”, “Mut Que 45”...) quando comparadas com a testemunha.

Em relação ao grupo originário da cultivar BRS Fronteira destaca-se a identificação de mutantes que apresentaram redução no ciclo da cultura (“Mut Fro 26”, “Mut Fro 9”, “Mut Fro 1”, “Mut Fro 2”...), incremento da espessura do colmo (“Mut Fro 10”) e mutantes com incremento no peso de mil grãos (“Mut Fro 51”, “Mut Fro 14”, “Mut Fro 58”, “Mut Fro 54”...).

## REFERÊNCIAS

AHLOOWALIA, B.S.; MALUSZYNSKI, M.; NICTERLEIN, K. Global impact of mutation-derived varieties, **Euphytica**, v. 135, p. 187–204, 2004.

CORDEIRO, A. C. C. **Número de inter cruzamentos na eficiência da seleção recorrente na cultura do arroz**. 2001.149p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

CORDEIRO, A. C. C. SOARES, A. A.; RAMALHO, M. A. P.; RANGEL, P. H. N. Effect of the number of intercrosses on grain yield in basic rice synthetic populations. **Euphytica**, v. 132, p. 79-86. 2003.

CORDEIRO, A. C. C.; MEDEIROS, R. D. de. Desempenho produtivo de genótipos de arroz oriundos de hibridação interespecífica entre *Oryza sativa* e *Oryza glumaepatula* em várzea de Roraima. **Amazônia: Ciência & Desenvolvimento**, Belém, v. 5, n.10, p. 133-141, jan/jun 2010.

CORDEIRO, A. C. C. e RANGEL, P. H. N. Avaliação de populações de arroz irrigado conduzidas por seleção recorrente em várzea de Roraima. **Agro@ambiente On-line**, v. 5, n. 3, p. 182-187, set-dez, 2011.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: Análise multivariada e simulação**. Viçosa. Ed. UFV, 2006.

CRUZ, C. D. **Programa Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística**. Versão Windows – 2007, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

FEDERER, W.T. **Experimental design: Theory and application**. New York: McMillan, 1955. 544p.

FONSECA, J. R.; CUTRIM, V. A.; RANGEL, P. H. N. **Descritores Morfo Agronômicos e Fenológicos de Cultivares Comerciais de Arroz de Várzeas**. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. 25p. (Documentos, 141).

FREIRE FILHO, F. R. et al. Adaptabilidade e estabilidade produtiva de feijão-caupi. **Ciência Rural**, v. 35, n. 01, p. 24-30, 2005.

FU, H. W.; LI, Y. F.; SHU, Q. Y. A revisit of mutation induction by gamma rays in rice (*Oryza sativa* L.): implications of microsatellite markers for quality control. **Molecular Breeding**, v. 22, p. 281-288, 2008.

KANG, E.J.; LEE, Y. M.; SUNG, S. Y.; HA, B. K.; KIM, S. H.; KIM, D. S.; KIM, J. B.; KANG, S. Y. Analysis of the Genetic Relationship of Gamma-irradiated in Vitro

Mutants Derived from Standard-type Chrysanthemum cv. Migok. **Horticulture Environment and Biotechnology**, v. 54, n. 1, p. 76-81, 2013.

KHIN, T. Rice mutation breeding for varieties improvement in Myanmar. **Plant Mutation Reports**, v. 1, n. 1, p. 34-36, 2006.

KHUSH, G. S. Aumento do potencial genético de rendimento do arroz: perspectivas e métodos. In: Conferência internacional de arroz para a América Latina e o Caribe, Goiânia. **Arroz na América Latina: perspectivas para o incremento da produção e do potencial produtivo**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, p.13-29, 1995.

MAGALHÃES JR. de, A. M. **Recursos genéticos de arroz (*Oryza sativa* L.) no Sul do Brasil**. 2007. 160p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitomelhoramento) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

PETRINI, J. A.; FRANCO, D. F. Sistemas de cultivo: pré-germinado, transplante de mudas e mix. In: MAGALHÃES JR. de, A. M.; GOMES, A. da S.; SANTOS, A. B. (eds). **Sistema de Cultivo de Arroz Irrigado no Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006, p.139-155. (Embrapa Clima Temperado: Sistema de Produção, 3).

RAMALHO, M. A. P; SANTOS, J. B dos; ZIMMERMANN, M. J. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia:UFG,1993. 271 p.

RANGEL, P. H. N. et al. **Coleta, caracterização e uso de germoplasma silvestre de arroz diplóide e tetraplóide (*Oryza spp.*) nativo do Brasil no melhoramento genético**. Cap 20, p. 586-631. In: Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal. Ed.Walter, B.M.T&Cavalcanti, T.B. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia,2005.778p.

RASHID, M.; REN-HU, L.; WEI, J.; YONG-HAN, X.; FU-LIN, W.; YUE-ZHI, T.; JUN-MEI, W.; CHEEMA, A. A.; JIN-QING, C. and HE, G. Genomic diversity among Basmati rice (*Oryza sativa* L) mutants obtained through <sup>60</sup>Co gamma radiations using AFLP markers. **African Journal of Biotechnology** Vol. 8 (24), pp. 6777-6783, Dec, 2009.

ROCHA, M.G.B.; Pires, I.E.; Rocha, R.B.; Xavier A.; Cruz, C.D. Avaliação genética de progênies de meio-irmãos de *Eucalyptus grandis* por meio dos procedimentos REML/BLUP e da ANOVA. **Scientia Florestalis**, v. 7, p. 99-107, 2006.

ROTILI, E. A.; FIDELIS, R. R.; SANTOS, M. M. dos; CASTRO NETO, M. D.; KICHEL, E.; CANCELLIERE, E. L. Eficiência no uso de fósforo de variedades de arroz cultivadas em solos de várzea irrigada. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.3, p. 415-420, mai-jun, 2010.

SCHIOCCHET, M.A.; ANDRADE, A.; TULMAN-NETO, A.; EBERHARDT, D.S.; HICKEL, E.; WICKERT, E.; MARTINS, G.N.; SCHEUERMANN, K.K.; AGOSTINI, I.; NOLDIN, A.; RAIMONDI, J.V.; KNOBLAUCH, R.; MARCHALEK, R. SCS Marques: nova cultivar de arroz irrigado para Santa Catarina. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 8, 2013, Santa Maria. **Anais...** Santa Maria: UFSM, 2013.p.53-56.

SHEHZAD, T.; ALLAH, A.; EL NABY, A.; ALLAH, A.; AMMAR, M. H.; ABDELKHALIK, A. F. Agronomic and molecular evaluation of induced mutant rice (*Oryza sativa* L.) lines in Egypt. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 2, p. 1183-1194, 2011.

SILVA, A. S.da; DANIELOWSKI, R.; BRAGA, E. J. B.; DEUNER, S.; MAGALHÃES JR, A. M.; PETERS, J. A. Development of rice seedlings grown from pre-hydrated seeds and irradiated with gamma rays. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1093-1100, 2011.

SILVA, A. S.da; DANIELOWSKI, R.; BRAGA, E. J. B.; DEUNER, S.; MAGALHÃES JR, A. M.; PETERS, J. A. Radiossensibilidade em plântulas de arroz irrigado: potencial de crescimento e capacidade antioxidante. **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata, v. 111, n. 2, p. 83-90, 2012.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Pelotas, RS: SOSBAI, 2007.161p.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Porto Alegre, RS: SOSBAI, 2010.188p.

SOBIERAJSKI, G. R.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Estimates of genetic parameters in *Mimosa scabrella* populations by random and mixed reproduction models. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v. 06, n. 01, p. 47-54, 2006.

TABASUM, A.; CHEEMA, A. A.; HAMEED, A.; RASHID, M.; ASHRAF, M. Radio sensitivity of rice genotypes to gamma radiations based on seedling traits and physiological indices. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 2, p. 1211-1222, 2011.

VIEIRA, J.; MARSCHALEK, R.; SCHIOCCHET, M.A. **Cultivares de arroz da Epagri – Descrição e caracterização**. Florianópolis: Epagri, 2007. 76p. (Epagri. Boletim Técnico, 138).

WU, J. Thermal conductivity of some oxygenated fuels and additives in the saturated liquid phase. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 50, n. 1, p. 102-104, 2005.

## **CAPÍTULO 2 - VARIABILIDADE GENÉTICA ENTRE MUTANTES DE ARROZ BASEADO EM CARACTERES AGRONÔMICOS**

### **INTRODUÇÃO**

O arroz (*Oryza sativa* L.) apresenta facilidade de adaptação a condições edafoclimáticas distintas sendo considerado uma das culturas mais importantes do mundo, cultivado em todos os continentes, exceto na Antártica (GAVABAR et al., 2012). Este cereal apresenta considerável valor econômico, sendo a principal fonte de alimentação para dois terços da população mundial, com grande influência no desenvolvimento socioeconômico. A China, Índia e Indonésia são os maiores produtores mundiais. O Brasil é o nono produtor mundial, sendo o Estado do Rio Grande do Sul responsável por 66,5% da produção nacional (CONAB, 2013). Por ser alimento básico para a maior parte da população brasileira, existe a necessidade de aumentar a produção deste cereal para atender à crescente demanda decorrente do aumento populacional (EMBRAPA, 2009). Na busca por cultivares superiores, a utilização da variabilidade genética nos cruzamentos de grupos geneticamente divergentes representa uma importante estratégia para obter ganhos de seleção. A variabilidade genética é fundamental no melhoramento de plantas já que fornece parâmetros para identificação de genótipos superiores, uma vez que a escolha dos genitores para formação de populações segregantes é uma das principais decisões tomadas pelos melhoristas (BERTAN et al., 2006).

Neste contexto, a utilização de técnicas multivariadas é uma opção viável para esta finalidade, uma vez que permite múltiplas combinações de informações dentro da unidade experimental (MOREIRA et al., 2009), sendo uma estratégia de extrema importância por considerar o conjunto de genótipos em relação a um complexo número de variáveis de interesse para o melhorista, possibilitando combinar todas as informações e selecionar os genótipos sob vários aspectos (FERRÃO et al., 2002).

Conforme Cruz e Regazzi (1997), a análise multivariada é um processo alternativo para a avaliação do grau de similaridade genética entre tratamentos, cujo princípio consiste em resumir um grande número de características em outro menor, facilitando as análises dos dados. Permite, também, conhecer a similaridade entre os indivíduos, por meio de suas distâncias ou de sua dispersão gráfica no espaço bi ou tridimensional, e avaliar a importância de cada variável para a variação total observada entre as unidades amostrais.

Várias técnicas multivariadas podem ser usadas na predição da diversidade ou variabilidade genética e, entre estas as mais empregadas estão: a análise por componentes principais, a análise por variáveis canônicas e os métodos de agrupamento. A escolha baseia-se na precisão desejada pelo pesquisador, bem como na facilidade da análise e na forma como os dados foram obtidos (BEZERRA NETO et al., 2010).

Neste trabalho, procurou-se avaliar a eficiência de técnicas multivariadas na obtenção de estimativas da variabilidade genética entre mutantes de arroz irrigado oriundos das cultivares elite BRS Querência e BRS Fronteira.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

O trabalho foi conduzido em casa de vegetação e no campo experimental da Embrapa Clima Temperado, localizada em Pelotas, RS, durante as safras 2008/2009, 2009/2010 e 2010/2011. Foram utilizadas sementes de arroz irrigado das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira, cedidas pela mesma instituição de pesquisa. Na primeira safra (2008/2009) foram realizados tratamentos com radiação gama em fonte de  $\text{Co}^{60}$  "Eldorado 78" (Atomic Energy of Canadá Ltda.) do Centro de Oncologia do Departamento de Radiologia da Faculdade de Medicina, UFPel. Diferentes doses de radiação (0, 200, 250, 300, 350 Gy) foram obtidas através da variação do tempo de exposição das sementes, em taxa de 15,24 Gy por minuto. Foram irradiados, para cada cultivar e dose, amostras de 500 sementes com 13% de umidade. Depois de irradiadas as sementes foram imediatamente semeadas em bandejas plásticas contendo solo tipo Planossolo Háplico, típico da cultura de arroz, cuja umidade foi mantida através de irrigação manual. Aos 28 dias após a semeadura (DAS), quando as plântulas estavam no estágio V4, foram transplantadas para o campo experimental. As práticas de adubação e manejo foram



adotadas segundo as recomendações técnicas de cultivo do arroz irrigado (SOSBAI, 2007). As sementes colhidas de cada tratamento foram semeadas na safra seguinte (2009/2010) e transplantadas nas mesmas condições do ano anterior, sendo realizadas avaliações morfofenológicas nas plantas de cada tratamento. Nesta safra foram selecionadas 59 plantas mutantes, sendo 25 da cv. BRS Querência e 34 da cv. BRS Fronteira (Anexo 1). Para seleção das plantas foram empregados alguns critérios como duração de ciclo, estatura e arquitetura de planta, número de panículas, número de perfilhos, incidência de doenças, esterilidade de espiguetas, entre outros. Ao final do ciclo da cultura as sementes foram colhidas e armazenadas. Na safra subsequente (2010/2011), visando confirmar se as avaliações dos caracteres discriminantes eram efeito genético ou ambiental, as 59 plantas selecionadas foram semeadas e transplantadas conforme descrito nas safras anteriores. No entanto, para este experimento foi usado o delineamento experimental de blocos aumentados de Federer (1955), com 12 blocos sendo cada bloco composto por 5 linhas com testemunhas intercalares das duas cultivares a cada bloco. Os 59 genótipos avaliados foram distribuídos em linhas de 4 metros, sendo cada linha um genótipo com 20 plantas espaçadas a cada 0,2m. As práticas de adubação e manejo também foram adotadas segundo as recomendações técnicas de cultivo do arroz irrigado (SOSBAI, 2010). Quando as plantas atingiram plena floração (50% das plantas com flores) foram mensurados os seguintes descritores morfológicos: altura de planta (cm), comprimento do colmo (cm), espessura de colmo (mm), comprimento e largura da folha bandeira (cm), número de perfilhos, comprimento da panícula (cm), número de panículas, número de grãos por panícula, número de espiguetas estéreis por panícula, peso de 1000 grãos (g) e ciclo da cultura.

As medidas de dissimilaridade foram determinadas segundo o modelo de análise multivariada, permitindo a obtenção das matrizes de dissimilaridade e a construção de um dendrograma pelo método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair-Group Methods Method Using an Arithmetic Average). Posteriormente, foram determinadas as variáveis canônicas, conforme relatado por Rao (1952), com o propósito de identificar genótipos similares em gráfico de dispersão bi ou tridimensional. Foi aplicado o método de agrupamento de otimização de Tocher (CRUZ; CARNEIRO, 2003), utilizando a distância generalizada de Mahalanobis ( $D^2$ ) como medida de dissimilaridade. Para quantificar a contribuição relativa dos

caracteres na divergência genética entre os genótipos foi utilizada metodologia proposta por Singh (1981). As análises foram realizadas utilizando o programa computacional Genes, versão 2007 (CRUZ, 2007).

## RESULTADOS

As medidas de dissimilaridade genética estimadas a partir da distância de Mahalanobis ( $D^2$ ), apresentaram uma média de 119,19 e uma magnitude de 1,36 a 774,34 indicando a presença de ampla variabilidade genética entre os genótipos estudados. A combinação mais divergente ( $D^2= 774,34$ ) ocorreu entre “Mut Que 33” e o controle da cv. BRS Fronteira, seguidos pela combinação entre “Mut Fro 58” e “Mut Que 33” ( $D^2= 607,18$ ); já os controle das duas cultivares apresentaram um  $D^2= 384,02$ . É interessante ressaltar que dos 61 genótipos estudados (59 mutantes e um controle de cada cultivar) o mutante “Mut Que 33” foi o mais divergente para mais da metade dos genótipos (33), sendo 30 destes oriundos da cv. BRS Fronteira, além do controle da mesma cultivar e dois mutantes (“Mut Que 20” e “Mut Que 30”) de sua mesma cultivar origem (BRS Querência); ao comparar-se “Mut Que 33” com seu controle observa-se  $D^2= 95,55$ , sendo o mutante com maior dissimilaridade da cultivar de origem. Já a cv. BRS Fronteira foi a mais divergente para os 28 genótipos restantes, destes, 24 são oriundos da outra cultivar controle e quatro genótipos oriundos dela (“Mut Fro 1”, “Mut Fro 2”, “Mut Fro 9” e “Mut Fro 26”), mostrando que a radiação alterou de forma significativa estes quatro mutantes. Por outro lado, a menor distância ( $D^2= 1,36$ ) ocorreu entre os mutantes “Mut Que 7” e “Mut Que 17”, ambos oriundos da cv. BRS Querência.

Neste trabalho, a análise de agrupamento pelo método hierárquico UPGMA permitiu a formação de um dendrograma em que os genótipos foram agrupados em dois grupos distintos, cuja dissimilaridade média entre eles foi de 119,19 (Figura 1). No grupo 1 encontra-se um total de 30 plantas, sendo alocado neste o controle da cv. BRS Querência, praticamente todos mutantes oriundos dele (92% ou 23 mutantes) e seis mutantes oriundos da cv. BRS Fronteira (“Mut Fro 1”, “Mut Fro 2”, “Mut Fro 9”, “Mut Fro 26”, “Mut Fro 34” e “Mut Fro 35”). Neste grupo encontram-se plantas com ciclo mais curto (106 a 117 dias), sendo que os seis mutantes da BRS Fronteira apresentaram ciclo que variou de 112 a 117 dias (redução média de 15 dias em relação a sua cultivar controle), incremento no comprimento de panícula e no número de grãos por panícula.

O grupo 2 composto de 31 plantas é representado pelo controle da cv. BRS Fronteira, 28 mutantes oriundos dela (82% do total), além de “Mut Que 20” e “Mut Que30”. Neste grupo o ciclo das plantas variou de 120 a 130 dias, ou seja, plantas com ciclo um pouco mais tardio. Além disso, as plantas deste grupo apresentaram folhas mais largas e maiores valores de peso de 1000 grãos.

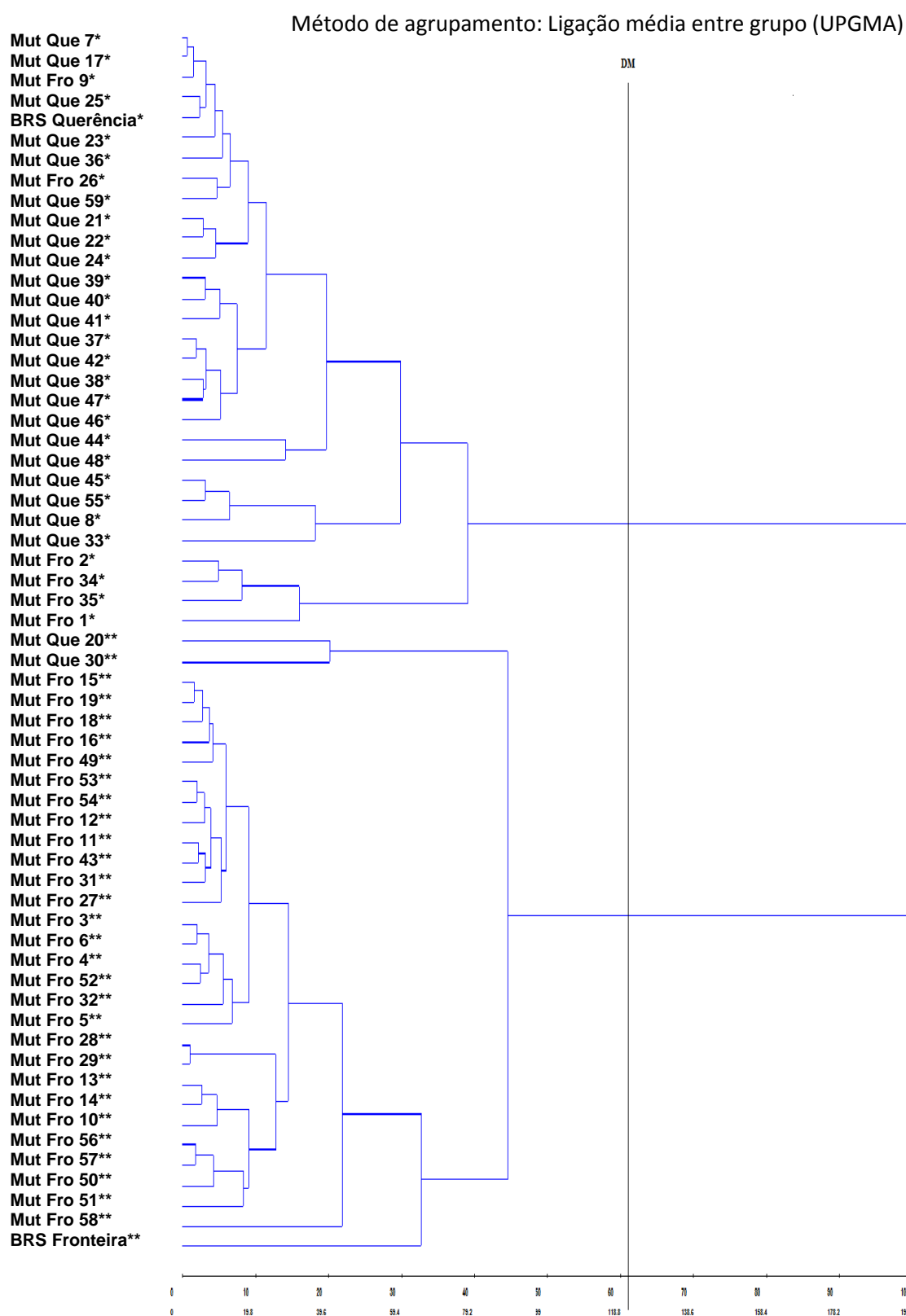


Figura 1 - Dendrograma de agrupamento dos 61 genótipos de arroz, sendo 59 mutantes e as cultivares controle BRS Querência e BRS Fronteira, gerado pelo método UPGMA, com base na de caracteres quantitativos, utilizando a distância de Mahalanobis. DM= Dissimilaridade média. \* grupo análise1 e \*\* grupo 2

A técnica multivariada de quantificação da distância de Mahalanobis (D2) permite quantificar a importância relativa de caracteres para a diversidade genética por meio da avaliação contribuição destes para os valores de D2. No presente estudo, ao verificar a contribuição relativa de cada variável, foi identificada variabilidade entre os caracteres analisados como pode ser observado na Tabela 1.

O parâmetro que apresentou maior variação, por consequência, aquele que apresentou maior contribuição para a divergência entre os genótipos foi o ciclo da cultura, contribuindo com 70,43% da divergência total, enquanto que comprimento de colmo, espessura de colmo, comprimento da folha bandeira e número de grãos por panícula praticamente não contribuíram para a divergência entre os genótipos avaliados, apresentando menos de 1% de contribuição relativa (Tabela 1). Sendo que, entre os caracteres estudados, o ciclo da cultura seguido da largura da folha bandeira e do peso de mil grãos foram os parâmetros que mais explicaram a dissimilaridade entre genótipos em estudos, podendo ser priorizados em estudos similares com uso de radiação ionizante.

Tabela 1 - Contribuição relativa dos caracteres morfofenológicos para dissimilaridade genética de 59 mutantes de arroz oriundos das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira, pelo método propostos por SINGH(1981), em ordem decrescente de importância.

<b>Caracteres morfofenológicos</b>	<b>Contribuição relativa %</b>
<b>Ciclo da cultura</b>	70,42
<b>Largura da FB</b>	8,47
<b>Peso de mil grãos</b>	5,54
<b>Comprimento de panícula</b>	4,39
<b>Número de perfilhos</b>	2,50
<b>Número de panícula</b>	2,19
<b>Número de espiguetas estéreis</b>	1,91
<b>Altura de planta</b>	1,66
<b>Comprimento de colmo</b>	0,78
<b>Espessura de colmo</b>	0,73
<b>Comprimento da FB</b>	0,71
<b>Número de grãos por panícula</b>	0,63

S.j.: contribuição da variável x para o valor da distância de Mahalanobis entre os mutantes.

A análise de agrupamento pelo método de Tocher, baseada na matriz de Mahalanobis, separou os 61 genótipos em dez grupos distintos (Tabela 2). O grupo 1 abrangeu 26 mutantes, todos originados a partir da cv. BRS Fronteira, plantas com ciclo que variaram de 127 a 137 dias. O segundo grupo formado é representado pelo controle BRS Querência, 19 mutantes oriundos desta cultivar e dois mutantes (“MutFro 9” e “MutFro 26”) provenientes da cv. BRS Fronteira, estes dois mutantes podem ser muito promissores já que apresentaram comportamento similar à maioria das plantas deste grupo (provenientes da cv. BRS Querência), com panículas longas

(média de 30,6cm), além de serem mais precoces, com ciclo médio de 113 dias (controle da cv. BRS Fronteira apresentou ciclo médio de 130 dias). Já o terceiro grupo é representado pelo controle BRS Fronteira e quatro mutantes provenientes desta cultivar (sendo três deles irradiados com 300Gy e um com 350Gy); estas plantas apresentaram altura média de 92,3cm, colmos com aproximadamente 36 mm de espessura, 18 panículas com tamanho médio de 26cm e com aproximadamente 136 grãos, além disso, o ciclo médio destas plantas foi de 126 dias. Os mutantes “Mut Que 8” e “Mut Que 23” formaram o quarto grupo, ambos originados de BRS Querência irradiados com 200 Gy e com comportamento muito similar para altura de planta (92 e 90 cm), espessura de colmo (37mm), número de perfilhos e panículas (15), peso de mil grãos (24g) e ciclo de aproximadamente 110 dias.

O quinto grupo é formado apenas por “Mut Que 44”, originado a partir de sementes da cv. BRS Querência irradiadas com 250Gy; esta planta era nitidamente distintas das demais já no campo, com folhas mais eretas, menor porte (85 cm), menor número de perfilhos (em torno de 11) e ciclo médio de 116 dias. O mutante “Mut Que 20”, oriundo de sementes irradiadas com 350Gy, também proveniente da cv. BRS Querência, formou o sexto grupo. Esta planta foi mais alta que seu controle, apresentou maior número de espiguetas estéreis e maior ciclo. O sétimo grupo representado pelo mutante “Mut Fro 1” (BRS Fronteira irradiado com 350 Gy) apresentou incremento superior a 30% no número de perfilhos e panículas; outro benefício deste mutante foi a redução no ciclo em pelo menos 15 dias. No oitavo e nono grupos foram inseridos os mutantes “Mut Que 30” e “Mut Que 33”, ambos oriundos da cv. BRS Querência e irradiado com mesma dose de radiação (300Gy). O mutante 30 apresentou o maior comprimento de panícula (32,60), foi mais precoce que seu controle e, em contrapartida, teve o maior número de espiguetas estéreis (98,8); já o mutante 33 foi mais alto que seu controle, com folhas mais curtas e largas, com redução de 7 dias no ciclo da cultura. O décimo e último grupo composto por “Mut Fro 58” (oriundo de sementes da cv. BRS Fronteira irradiadas com 250 Gy) apresentou o maior número de perfilhos (em torno de 25) e redução no porte de planta.

Tabela 2 - Agrupamento baseado em 12 caracteres morfofenológicos, pelo método de Tocher, de 61 genótipos de arroz, sendo um controle de cada cultivar, 25 mutantes oriundos da cv. BRS Querência e 34 mutantes oriundos da cv. BRS Fronteira.

<b>Grupo</b>	<b>Genótipos</b>
<b>1</b>	“MutFro 3”, “MutFro 6”, “MutFro 5”, “MutFro 10”, “MutFro 2”, “MutFro 11”, “MutFro 15”, “MutFro 52”, “MutFro 4”, “MutFro 35”, “MutFro 56”, “MutFro 53”, “MutFro 32”, “MutFro 12”, “MutFro 49”, “MutFro 54”, “MutFro 43”, “MutFro 31”, “MutFro 18”, “MutFro 19”, “MutFro 16”, “MutFro 14”, “MutFro 51”, “MutFro 13”, “MutFro 34” e “MutFro 57”.
<b>2</b>	BRS Querência, “MutQue 7”, “MutQue 17”, “MutFro 9”, “MutQue 25”, “MutQue 21”, “MutFro 26”, “MutQue 22”, “MutQue 24”, “MutQue 59”, “MutQue 42”, “MutQue 37”, “MutQue 55”, “MutQue 39”, “MutQue 36”, “MutQue 40”, “MutQue 45”, “MutQue 48”, “MutQue 46”, “MutQue 47”, “MutQue 38” e “MutQue 41”.
<b>3</b>	BRS Fronteira, “MutFro 28”, “MutFro 29”, “MutFro 27” e “MutFro 50”.
<b>4</b>	“MutQue 8” e “MutQue 23”.
<b>5</b>	“MutQue 44”
<b>6</b>	“MutQue 20”
<b>7</b>	“MutFro 1”
<b>8</b>	“Mut Que 30”
<b>9</b>	“MutQue 33”
<b>10</b>	“MutFro 58”

Devido ao fato das duas primeiras variáveis canônicas (Tabela 3) terem explicado mais de 80% da variância total de caracteres analisados (88,87% da variância total acumulada) é possível explicar de maneira satisfatória a variabilidade manifestada entre os genótipos considerados nesta avaliação, permitindo representá-las em um gráfico de dispersão bidimensional.



Tabela 3 - Variância percentual e acumulada das variáveis canônicas obtidas a partir de 12 caracteres morfofenológicos avaliados em 59 mutantes de arroz e seus controles BRS Querência e BRS Fronteira.

<b>Variáveis canônicas</b>	<b>Percentual %</b>	<b>Percentual acumulado %</b>
1	84,10	84,10
2	4,77	88,87
3	3,35	92,23
4	2,29	94,53
5	1,51	96,04
6	1,21	97,25
7	0,89	98,14
8	0,62	98,76
9	0,45	99,21
10	0,35	99,56
11	0,31	99,87
12	0,13	100

A Figura 2 representa a dispersão gráfica no espaço bidimensional dos 61 genótipos em estudo, utilizando-se a primeira e a segunda variáveis canônicas. Os grupos formados por meio da dispersão gráfica dos escores seguem tendência muito similar aos grupos obtidos pelo método de otimização de Tocher (Tab. 3), fortalecendo, desta forma, os dados obtidos pela técnica de agrupamento e pela matriz de dissimilaridade.

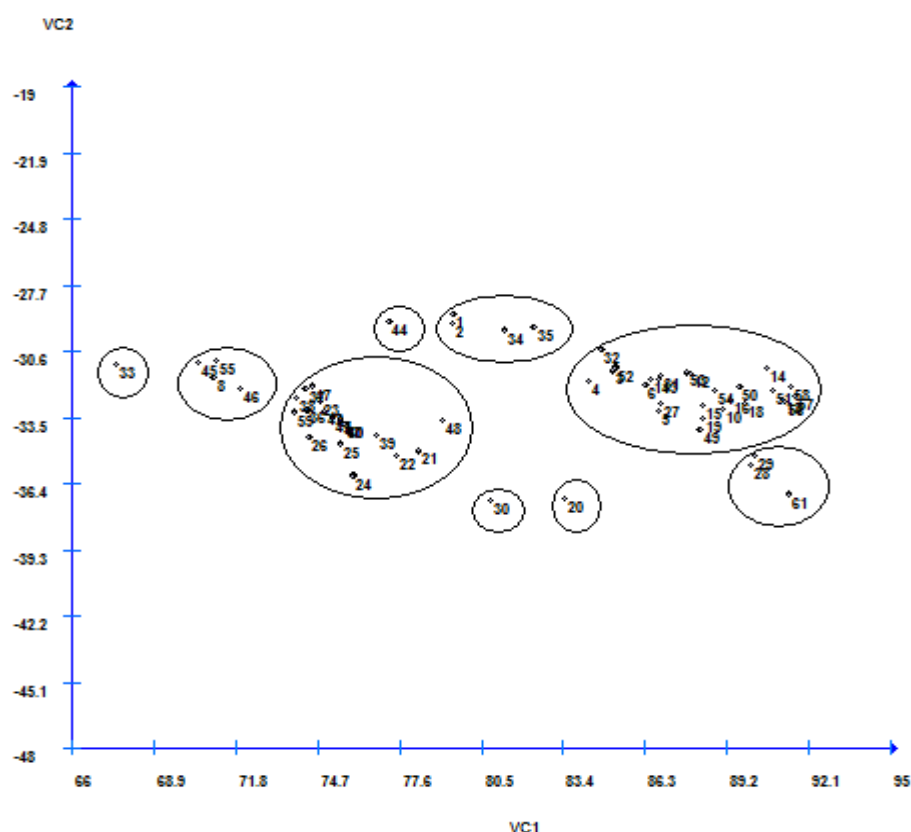


Figura 2 - Gráfico de dispersão dos 61 genótipos de arroz, sendo 59 mutantes e as cultivares controle BRS Querência (60) e BRS Fronteira (61), em relação aos escores das duas primeiras variáveis canônicas (VC1 e VC2).

## DISCUSSÕES

Estudos a respeito da variabilidade genética apresentam grande relevância no melhoramento de plantas por fornecerem parâmetros para identificação de genitores que, quando cruzados, possibilitam o desenvolvimento de cultivares superiores, além de facilitarem o conhecimento da base genética da população (CARGNIN et al., 2010).

Segundo Rodrigues et al. (2005), para determinar a distância genética entre genótipos em uma população são utilizados métodos biométricos, em que se quantifica ou estima a heterose, analisados pela estatística multivariada, permitindo unificar múltiplas informações de um conjunto de caracteres. Neste sentido, a utilização da dissimilaridade genética tem sido recomendada na indicação de hibridações que proporcionem maior efeito heterótico, possibilitando a seleção de recombinantes superiores em gerações segregantes (CRUZ e REGAZZI, 1997).

Com este intuito, a identificação de genitores com máxima divergência genética tem sido estudada em programas de melhoramento (SUINAGA et al., 2003; MOREIRA et al., 2005) de modo a maximizar a heterose manifestada nos híbridos e aumentar a probabilidade de ocorrência de genótipos superiores nas gerações segregantes (CRUZ e REGAZZI, 1997). Outro fato importante que deve ser considerado na escolha dos genitores é se os mesmos pertencem a grupos diferentes, evitando-se o cruzamento entre genitores de mesmo agrupamento (MOREIRA et al., 2005).

No presente estudo, as informações obtidas pelas medidas de dissimilaridade genética estimadas a partir da distância de Mahalanobis ( $D^2$ ), sugerem que para a cultivar BRS Querência os principais mutantes indicados para cruzamentos seriam: “Mut Que 33”, “Mut Que 20”, “Mut Que 30”, “Mut Que 45” e “Mut Que 44”, pelo fato de terem apresentado valores máximos de dissimilaridade em relação ao controle. Já para a cv. BRS Fronteira, os mutantes com maiores valores de dissimilaridade, por consequência os mais indicados para cruzamentos são os mutantes “Mut Fro 1”, “Mut Fro 2”, “Mut Fro 9” e “Mut Fro 26”. Complementar a isto, a formação de grupos pelo método de Tocher (Tabela 2) e pelo gráfico bidimensional com base nos escores das duas primeiras variáveis canônicas (Figura 2) representam outra valiosa informação na escolha de genitores dentro de um programa de melhoramento, visto que na estatística multivariada, espera-se encontrar alto grau de similaridade intragrupo e dissimilaridade intergrupo (FREITAS et al., 2003)

É importante salientar que VC1 e VC2 explicaram 88,87% da variância total dos caracteres analisados. Conforme Cruz e Regazzi (2004), para uma interpretação satisfatória da variabilidade encontrada entre os genótipos é necessário que as duas primeiras variáveis canônicas permitam estimativas mínimas de 80% da variação total contida no conjunto de caracteres.

Assim como observado neste trabalho, técnicas multivariadas mostraram-se viáveis para auxiliar a seleção de genitores para cruzamentos em estudo da divergência genética na cultura do arroz (CHA-UM et al., 2010; BENITEZ et al., 2011; SOUZA, et al., 2009; LAGUERRE et. al., 2007; ROSA et. al., 2006; BROWN, 2005; MARTINS, A. F. et al., 2005), e várias outras espécies como do trigo (HAILU et al., 2006), do azevém (FREITAS et al., 2003), do tomate (SUINAGA, et al., 2003) e do feijão-de-vagem (ABREU et al., 2004).

Dentre os mutantes mais divergentes, destacaram-se aqueles que apresentaram alterações no ciclo da cultura, na altura de planta, no comprimento e largura da folha bandeira, no número de perfilhos e panículas, no comprimento de panícula e no peso de 1000 grãos.

Alterações no ciclo da cultura podem ser determinantes na produção de arroz no Rio Grande do Sul, pois cultivares com ciclo longo normalmente sofrem com estresse por frio na fase reprodutiva (CRUZ e MILACH, 2000). A redução deste parâmetro é muito almejada, principalmente na cultivar BRS Fronteira, já que está possui um ciclo médio de aproximadamente 135 dias (CUTRIM et al., 2006). Assim, a redução de aproximadamente 15 dias no ciclo da cultura observada nos mutantes “Mut Fro 1”, “Mut Fro 2”, “Mut Fro 9” e “Mut Fro 26” (oriundos desta cultivar) pode amenizar os efeitos causados por estresses abióticos e bióticos, uma vez que cultivares com ciclo reduzido permanecem por um período menor de tempo no campo, minimizando os efeitos prejudiciais do frio e dos patógenos. Outro fator importante a ser considerado na busca de cultivares de ciclo precoce é o menor volume de água utilizado para o seu cultivo.

A baixa estatura encontrada em “Mut Que 44”, “Mut Fro 58”, “Mut Fro 57” também é de interesse agrônomo, já que permite o uso de doses mais elevadas de nitrogênio, sem acamamento de plantas e aumento, conseqüentemente, de caracteres correlacionados diretamente com a produtividade (MAGALHÃES, 2007). Em geral, plantas altas são mais propensas ao acamamento, que também depende do diâmetro e resistência do colmo, intensidade dos ventos e disponibilidade de água (FONSECA et al. 2002). O aumento da produtividade pode ser conseguido com a redução na altura de planta, o que implica em seleção indireta para menor produção de matéria seca na parte aérea e, conseqüentemente, maior produção de grãos (KHUSH, 1995).

O caráter número de perfilhos é importante no melhoramento, uma vez que quanto mais perfilhos apresentar uma planta, maior é a possibilidade da mesma formar panículas férteis e, conseqüentemente, de produzir grãos. Nestes caracteres se destacaram os mutantes “Mut Que 30”, “Mut Fro 1”, “Mut Fro 31”, “Mut Fro 27”, “Mut Fro 58”, “Mut Fro 32”.

No entanto, plantas com menor número de perfilhos como “Mut Que 44” poderão ser promissoras, mediante ao aumento da densidade de plantio e a otimização da utilização dos fotoassimilados (MARTINS, et al., 2005).

Outros parâmetros como comprimento de panícula, número de panículas por planta e peso de mil grãos também apresentaram incremento em alguns mutantes (Mut Que 30”, “Mut Que 24”, “Mut Fro 9” e “Mut Fro 26”). Estes parecem ser muito importantes já que a produção de grãos na cultura do arroz é um caráter complexo, determinado pelos componentes primários: número de panículas/m<sup>2</sup>, número de grãos/panícula, e peso do grão (CARGNIN et al., 2010).

Considerando o exposto, os resultados obtidos apontam perspectivas de trabalhos futuros visando explorar a variabilidade encontrada entre os mutantes de arroz estudados.

## CONCLUSÕES

A técnica de irradiação de sementes utilizada foi efetiva na indução de mutações genéticas detectáveis;

Existe ampla dissimilaridade genética dos caracteres avaliados entre os mutantes e as cultivares de origem BRS Querência e BRS Fronteira, sendo os mutantes “Mut Que 44”, “Mut Que 30”, “Mut Que 33”, “Mut Fro 1”, “Mut Fro 2”, “Mut Fro 9”, “Mut Fro 26” e “Mut Fro 58” os mais promissores;

As técnicas multivariadas utilizadas foram parcialmente concordantes e auxiliam na discriminação dos genótipos;

O ciclo da cultura foi o caráter agrônômico que mais contribuiu para a variabilidade.

## REFERÊNCIAS

ABREU, F. B.; LEAL, N. R.; RODRIGUES, R.; AMARAL JR, A. T.; SILVA, D. J. H. Divergência genética entre acessos de feijão-de-vagem de hábito de crescimento indeterminado. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 3, p. 547-552, jul-set 2004.

BENITEZ, L. C.; PETERS, J. A.; BACARIN, M. A.; KOPP, M. M.; OLIVEIRA, A. C.de; MAGALHÃES JR, A. M. de.; BRAGA, E. J. B.. Tolerância à salinidade avaliada em genótipos de arroz cultivados *in vitro*. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.3, p. 330-337, mai/jun, 2010.

BERTAN, I. et al. Dissimilaridade genética entre genótipos de trigo avaliados em cultivo hidropônico sob estresse por alumínio. **Bragantia**, v. 65, n. 01, p. 55-63, 2006.

BEZERRA NETO, F. V. B. Descritores quantitativos na estimativa da divergência genética entre genótipos de mamoneira utilizando análises multivariadas. **Revista Ciência Agronômica**, v. 41, n. 02, p. 294-299, 2010.

BROWN, G. E. Exploration of relationships between physiological parameters and growth performance of rice (*Oryza sativa* L.) seedlings under salinity stress using multivariate analysis. **Plant and Soil**, v. 268, p. 51–59, 2005.

CARGNIN, A.; SOUZA, M. A. de; PIMENTEL, A. J. B.; FOGAÇA, C. M. Diversidade genética em cultivares de arroz e correlações entre caracteres agronômicos. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 57, n.1, p. 053-059, jan-fev, 2010.

CHA-UM, S.; ASHRAF, M.; KIRDMANEE, C. Screening upland rice (*Oryza sativa* L. ssp. *indica*) genotypes for salt-tolerance using multivariate cluster analysis. **African Journal of Biotechnology**, v. 9, n. 30, p. 4731-4740, Jul, 2010.

COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento da safra brasileira: Grãos – Safra 2012/2013 - Nono levantamento. Brasília: Conab, 2013. 30 p. Disponível em [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_06\\_06\\_09\\_09\\_27\\_boletim\\_graos\\_-\\_junho\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_06_06_09_09_27_boletim_graos_-_junho_2013.pdf). Acesso em 20 jul. 2013.

CRUZ, C. D. Programa Genes: **Aplicativo computacional em genética e estatística**. Versão Windows - 2007, Viçosa, UFV.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Editora UFV, 2004. 480 p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Viçosa: Editora UFV, 2003. 585 p.

CRUZ, R. P.; MILACH, S. C. K. Melhoramento genético para tolerância ao frio em arroz irrigado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 909-917, 2000.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A. J. **Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético**. Viçosa, UFV: Imprensa Universitária, 1997. 390p.

CUTRIM, V. dos A.; MOURA NETO, F. P.; RANGEL, P. H.; FAGUNDES, P. R. R.; MAGALHÃES JR, A. M. de; CAMPOS, G. W. de; NEVES, P. de C. F.; FONSECA, J. R.; MORAIS, O. P. de; BASSINELLO, P. Z. **BRS Fronteira: cultivar de arroz irrigado para os Estados do Rio Grande do Sul e São Paulo**. Santo Antônio de Goiás, GO: EMBRAPA-CNPAP, 2006. 4p. (EMBRAPA- CNPAP: Comunicado Técnico, 124).

EMBRAPA (2009) Centro Nacional de Pesquisa Arroz e Feijão. **Sistemas de Produção**. Disponível em: <<http://sistemasdeproducao.cnptia.embrapa.br/FontesHTML/Arroz/ArrozIrigadoTocantins/index.htm>>. Acessado em: 20 de maio 2012.

FEDERER, W.T. **Experimental design: Theory and application**. New York: McMillan, 1955. 544p.

FERRÃO, M. A. G.; VIEIRA, C.; CRUZ, C. D.; CARDOSO, A. A. Genetic divergence on common bean under tropical winter conditions. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 371, p. 1089-1098, 2002.

FONSECA, J. R.; CUTRIM, V. A.; RANGEL, P. H. N. **Descritores Morfo Agronômicos e Fenológicos de Cultivares Comerciais de Arroz de Várzeas**. Santo Antônio de Goiás, GO: Embrapa Arroz e Feijão, 2002. 25p. (Documentos, 141).

FREITAS, F. A. de; OLIVEIRA, A. C. de; CARVALHO, F. I. F. de; ZIMMER, P. D.; MATTOS, L. A. T. de; KOPP, M. M. Análise multivariada de populações de azevém (*Lolium multiflorum* L.) em diferentes regimes de água. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 1, p. 17-23, jan-mar, 2003.

FUMAGALLI, E.; BALDONI, E.; ABBRUSCATO, P.; PIFFANELLI, P.; GENGA, A.; LAMANNA, A.; CONSONNI, R. NMR Techniques Coupled with Multivariate Statistical Analysis: Tools to Analyse *Oryza sativa* Metabolic Content under Stress Conditions. **Journal Agronomy & Crop Science**, v.195, p. 77–88, 2009.

GAVABAR, M. G.; SHAKOURI, M. J.; KAPOURCHAL, S. A.; ASLANPOUR, M.; KHOSRAVI, E. Assessing an Ecological Production System for Rice Yield and Quality Improvement (*Oryza sativa* L. var. Hashemi). **International Research Journal of Applied and Basic Sciences**, v. 3, n. 1, p. 52-56, 2012.

HAILU, F.; MERKER, A.; SINGH, H. BELAY, G.; JOHANSSON, E. Multivariate analysis of diversity of tetraploid wheat germplasm from Ethiopia. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 53, p. 1089–1098, 2006.

KHUSH, G. S. Aumento do potencial genético de rendimento do arroz: perspectivas e métodos. In: Conferência internacional de arroz para a América Latina e o Caribe, Goiânia. **Arroz na América Latina: perspectivas para o incremento da produção e do potencial produtivo**. Goiânia: EMBRAPA-CNPAF, p.13-29, 1995.

LAGUERRE, M.; MESTRES, C.; DAVRIEUX, F.; RINGUET, J. AND BOULANGER, R. Rapid Discrimination of Scented Rice by Solid-Phase Microextraction, Mass Spectrometry, and Multivariate Analysis Used as a Mass Sensor. **Journal Agricultural Food Chemistry**, v. 55, p. 1077-1083, 2007.

MAGALHÃES JR. de, A. M. **Recursos genéticos de arroz (*Oryza sativa* L.) no Sul do Brasil**. 2007. 160p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitomelhoramento) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

MARTINS, A. F.; ZIMMER, P. D.; OLIVEIRA, A. C. de; CARVALHO, F. I. F. de; VIEIRA, E. A.; CARVALHO, M. F. de; MARTINS, L. F.; FONSECA, F. S. da. Variabilidade para caracteres morfológicos em mutantes de arroz. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 29, n. 6, p. 1215-1223, nov-dez, 2005

MOREIRA, R. M. P; FERREIRA, J. M.; TAKAHASHI, L. S. A.; VASCONCELOS, M. E. C.; GEUS, L. C.; BOTTI, L. Potencial agrônômico e divergência genética entre genótipos de feijão-vagem de crescimento determinado. **Ciências Agrárias**, v. 30, n. 1, p. 1051-1060, 2009.

MOREIRA, G. R.; SILVA, D. J. H.; PICANÇO, M. C.; PETERNELLI, L. A.; CALIMAN, F. R. B. Divergência genética entre acessos de tomateiro infestados por diferentes populações da traça-do-tomateiro. **Horticultura Brasileira**, Brasília, n. 23, p. 893-898, 2005.

OLIVEIRA, F. J et al. Divergência genética entre cultivares de caupi. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 05, p. 605-611, 2003.

RAO, R. C. **Advanced statistical methods in biometric research**. New York: John Wiley & Sons, 1952. 390p



RODRIGUES, L. N.; FERNANDES, P.D.; HANS, R. G.; APARECIDA, R.N. & CORREIA, K. G. Produção de arroz em condições de salinidade a partir de mudas formadas com e sem estresse salino. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 9, p. 95-100, 2005.

ROSA, M. S.; SANTOS, P. P. dos; VEASEY, E. A. Caracterização agromorfológica interpopulacional em *oryza glumaepatula*. **Bragantia**, Campinas, v. 65, n.1, p.1-10, 2006.

SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. **The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding**, v. 36, p. 237-245, 1981.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Pelotas, RS: SOSBAI, 2007.161p.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO (SOSBAI). **Recomendações Técnicas da Pesquisa para o Sul do Brasil**. Porto Alegre, RS: SOSBAI, 2010.188p.

SOUZA, J. R. de; FERREIRA, E.; CARGNELUTTI FILHO, A.;BOIÇA JR, A. L.; CHAGAS, E. F. das; MONDEGO, J. N. Divergência Genética de Cultivares de Arroz quanto à Resistência a *Tibraca limbativentris* Stål (Hemiptera: Pentatomidae). **Neotropical Entomology**, v. 38, n. 5, p. 671-676, set-out, 2009.

SUINAGA, F. A.; CASALI, V. W. D.; SILVA, D. J. H. da; PIKANÇO, M. C. Dissimilaridade genética de fontes de resistência de *Lycopersicon* SPP. A *Tuta absoluta* (MEYRICK, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 4, p. 371-376, out-dez, 2003

ZIMMER, P. D.; OLIVEIRA, A. C. de; CARVALHO, F. I. F. de; KOPP, M. M.; FREITAS, F. A. de; MATTOS, L. A. T. de. Dissimilaridade genética em arroz de sequeiro sob encharcamento. **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 9, n. 3, p. 201-206, jul-set, 2003.

## **CAPÍTULO 3 - ESTIMATIVA DA VARIABILIDADE E RELAÇÃO GENÉTICA DE GENÓTIPOS MUTANTES DE ARROZ COM BASE NO POLIMORFISMO DE MARCADORES AFLP**

### **INTRODUÇÃO**

O arroz (*Oryza sativa* L.) é o principal alimento para mais da metade da população mundial e, com a produção de 684,7 milhões de toneladas, ocupa posição de destaque entre os cereais cultivados, sendo superado em produção apenas pelo trigo e milho. O Brasil, com produção de 12,6 milhões de toneladas, é o nono produtor mundial de arroz e o maior produtor fora do continente asiático (FAO, 2011). Porém, frente à expectativa de aumento da população humana para nove bilhões em 2050, a produção de alimentos poderá ser um fator limitante para parte da população. Para evitar tal colapso, será necessário o aumento da produção de alimentos, em especial de cereais que são base para a alimentação mundial. Entretanto, as principais culturas de cereais têm sofrido problemas de restrição de variabilidade genética, tornando-se fator limitante nos programas de melhoramento que buscam aumento da produção e qualidade das culturas.

Já em 1928, Stadler demonstrou que os raios gamas podiam ser utilizados na indução de variabilidade genética na cultura da cevada, no entanto, mutações podem ser induzidas por vários outros fatores. Desde então, o aumento da variabilidade genética de várias culturas vem sendo realizada pelo uso de mutação, a qual pode possibilitar a obtenção de novas variedades com características diferenciadas (SHU e LAGODA, 2007; AHLÖOWALIA et al 2004; VAN HARTEN, 1998).

Nas últimas quatro décadas foram criadas aproximadamente 2.250 cultivares de diferentes espécies, cujas novas características foram atribuídas a variabilidade induzida por agentes mutagênicos, impactando significativamente na

produção das mesmas. No melhoramento genético vegetal a principal finalidade do uso da mutação é obter ganho para um ou dois caracteres de maior interesse agrônômico, sem alterar negativamente os demais, sendo um dos principais objetivos o aumento no rendimento de grãos (AHLOOWALIA et al., 2004).

Neste contexto, na orizicultura muitos projetos nacionais e internacionais têm atuado na produção de mutantes (HIROCHIKA et al, 2001;. LEUNG e AN, 2004,). No banco de dados Variety da FAO/IAEA Mutant (<http://www.mvd-iaea.org>, 27-12-2007), mais de 400 variedades mutantes já foram registradas.

As mutações induzidas são definidas como alterações herdáveis de ordem qualitativa e quantitativa no DNA, não derivadas de segregação genética ou recombinação. Como a taxa de mutação espontânea é muito baixa, a indução de mutações tem sido utilizada para gerar ou elevar a frequência de alelos novos, tanto por agentes mutagênicos químicos, como as substâncias alquilantes (etilmetanossulfonato) ou físicos, como as radiações ionizantes (PREDIERI, 2001). As alterações no DNA nuclear ou extranuclear podem resultar em mutações gênicas e cromossômicas, gerando variabilidade genética. Estas alterações têm contribuído significativamente para os programas de melhoramento de plantas em todo o mundo, resultando em um impacto notável na produtividade e valor econômico de algumas culturas (AHLOOWALIA et al., 2004; MALUSZYNSKI e SZAREJKO, 2005).

A avaliação fenotípica tem sido uma das estratégias utilizadas para identificar e caracterizar a variabilidade genética induzida. Entretanto, tal técnica é considerada como muito laboriosa e demorada quando comparada com outras técnicas como as baseadas em impressões digitais de DNA (fingerprinting varietal). Dentre as principais técnicas de caracterização molecular têm-se as baseadas em PCR, com o uso de marcadores do tipo RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA), AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeats), dentre outros.

Os marcadores co-dominantes são mais informativos quando comparados aos dominantes. Entretanto, tais marcadores são muito específicos produzindo poucos alelos por cada indivíduo, parâmetro influenciado pela ploidia, sendo necessário analisar um grande número de locos para dar maior cobertura ao genoma em estudo. Assim, lançar mão a técnica de AFLP, caracterizada como

dominante, é uma das melhores alternativas para a caracterização molecular, pois esta possibilita uma maior cobertura de análise do genoma. Além disto, quando comparada com a técnica de RAPD que também é dominante, a AFLP é considerada como mais eficaz na discriminação de diferentes genótipos não mutantes (POWELL et al., 1996) e na detecção de variações genéticas induzidas por agentes mutagênicos químicos e físicos (PATZAK, 2003; SAKER et al., 2006).

O nível de variação detectada usando técnicas AFLP depende da combinação das enzimas de restrição selecionadas, do número de combinações de *primers* utilizado e da distância genética entre os genótipos analisados. Diferentemente dos marcadores codominantes, marcadores AFLP permitem a detecção de variações de muitos loci simultaneamente, sendo amplamente utilizados para caracterizar variação genética entre genótipos com grau de parentesco diferenciados, especialmente entre aqueles com pequena distância genética, como geralmente ocorre entre as cultivares e os mutantes oriundos delas (GONZÁLEZ et al, 2008). Em arroz, muitos trabalhos com mutantes revelaram polimorfismo e mostraram a eficiência da técnica (LU et al, 2010; GONZÁLEZ et al, 2008; LI et al, 2007; YU et al; 2007)

Frente ao contexto, no presente trabalho, marcadores moleculares do tipo AFLP foram utilizados com o objetivo de obter uma estimativa da variabilidade e relação genética entre genótipos mutantes de arroz oriundos das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Material vegetal**

No presente estudo utilizou-se sementes das cultivares BRS Querência e BRS Fronteira, cedidas pela Embrapa Clima Temperado, Pelotas, Rio Grande do Sul. Amostras de sementes das duas cultivares foram submetidas diferentes doses de radiação gama (0, 200, 250, 300, 350 Gy), obtida por meio de diferentes tempos de exposição a radiação (15,24 Gy min<sup>-1</sup>). O tratamento radioativo foi realizado com fonte de Co<sup>60</sup> “Eldorado 78” (Atomic Energy of Canada Ltda) no Centro de Oncologia, Departamento de Radiologia, Faculdade de Medicina da Universidade

Federal de Pelotas (UFPEL). Sob cada dose de radiação foram submetidos amostras de 500 sementes com 13% de umidade relativa do grão. Posteriormente a irradiação, as sementes foram semeadas e cultivadas a campo, e na geração M3 selecionaram-se 10 plantas que apresentaram características fenotípicas diferenciadas em relação ao genótipo de referência para avaliação molecular. Destas sementes mutantes, três são oriundas da cultivar BRS Querência, genótipos identificados como “Mut Que 33”, “Mut Que 36” e “Mut Que 44”, e sete oriundas da cultivar BRS Fronteira, “Mut Fro 1”, “Mut Fro 9”, “Mut Fro 10”, “Mut Fro 14”, “Mut Fro 26”, “Mut Fro 57” e “Mut Fro 58”, além das cultivares que deram origem as sementes irradiadas.

### **Extração de DNA e análise AFLP**

O DNA genômico de cada amostra vegetal foi extraído a partir de folhas jovens completamente expandidas dos genótipos listados na Tabela 1. A extração de DNA foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Doyle e Doyle (1987), quantificado em gel de agarose (1%), corado com brometo de etídeo, e revelado sob luz ultravioleta.

A análise com marcadores AFLP foram realizadas de acordo com o protocolo descrito por Vos et al. (1995), utilizando o Kit AFLP Analysis System I (invitrogen). Para cada genótipo, uma alíquota contendo 150 ng de DNA foi digerida com as enzimas de restrição MseI e EcoRI, seguido da ligação de adaptadores e da pré-amplificação, com um nucleotídeo seletivo, conforme recomendação do fabricante do Kit. Nas amplificações finais foram utilizadas 13 combinações de oligonucleotídeos iniciadores, conforme descrito na tabela 1. Os produtos finais de amplificação foram submetidos à eletroforese por 2 h a  $9 \text{ V cm}^{-1}$ , em gel de poliacrilamida 6%, corados com nitrato de prata conforme descrito por Bassam et al. (1991).

### **Análise de dados**

Os perfis eletroforéticos de cada combinação AFLP foram analisados e codificados em uma matriz binária (1- presença e 0- ausência de banda). A matriz binária foi submetida a diferentes análises de variabilidade e relação genética.

### **Parâmetros de variabilidade genética**

Os parâmetros de variabilidade genética avaliados para cada combinação AFLP em todos os genótipos foram número de bandas polimórficas ( $n$ ), fração de *loci* polimórficos ( $\beta = n_p / (n_p + n_{np})$ , onde  $n_p$  é o número de alelos polimórficos e  $n_{np}$  o número de alelos não polimórficos), taxa efetiva multiplex ( $E = n\beta$ ), heterozigosidade esperada ( $H_e = 1 - \sum p_{ij}^2$ , sendo  $p_i$  a frequência alélica na população  $j^{\text{th}}$  para cada combinação AFLP) e o índice do marcador ( $MI = E H_e$ ). Ambas as análises descritas acima são propostas por Powell et al. (1996) para estimar parâmetros de variabilidade genética.

### **Relação genética entre genótipos**

A relação genética entre os genótipos de arroz mutantes e não mutantes foi elucidada através da análise de similaridade genética pelo coeficiente de Simple Matching e método de agrupamento UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Mean) (SNEATH e SOKAL, 1973). Os resultados do método UPGMA estão apresentados na forma de dendrograma. O grau de confiabilidade entre a matriz de similaridade genética e os resultados apresentados no dendrograma foi verificado pelo teste de Mantel ( $r$ ) (MANTEL, 1967) pelo uso de 1000 réplicas. Ambas as análises de relação genética, descritas acima foram conduzidas no software NTSYS-PC Ver. 2.1 (ROHLF, 2000). Além destas análises, conduziu-se o bootstrap com 1000 réplicas no software WINBOOT Ver. 1.0 (YAP e NELSON, 1996).

A análise de coordenadas principais (PCoA) foi conduzida para elucidar a estrutura genética dos genótipos deste estudo, em coordenadas cartesianas otimizadas (PCoord) de variância da similaridade genética. Obtendo-se a variação de cada coordenada e a variação acumulada. A representação desta análise está em um gráfico tridimensional. A análise e a representação gráfica foram também conduzidas no software NTSYS-PC pela sub-rotina EIGEN.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

### Variabilidade genética

Na análise dos 10 genótipos mutantes e das duas cultivares controle de arroz (BRS Querência e BRS Fronteira) foram empregados 13 combinações de oligonucleotídeos iniciadores AFLP, que resultaram na produção de 386 alelos polimórficos. O número médio de alelos polimórficos foi de 29,69 por combinação, sendo que a combinação M\_CTT/E\_AAC foi a mais informativa com 51 alelos polimórficos, e em outro extremo a combinação M\_CTT/ E\_ACT produziu apenas 11 alelos (Tabela 1).

O parâmetro beta ( $\beta$ ), o qual representa a medida da fração de *loci* polimórficos em relação ao total de *loci* em cada combinação AFLP, apresentou uma média de 7% de polimorfismo, sendo que as combinações M\_CAC/E\_AAC e M\_CTT/E\_AAC apresentaram as maiores porcentagens de polimorfismo (13%), já a combinação M\_CTT/E\_ACT, apresentou a menor (2%). A taxa efetiva multiplex ( $E$ ) tem como objetivo identificar o grau de informação de cada combinação AFLP com base no número de alelos observados e a sua fração polimórfica. Tal parâmetro foi proposto por Powell et al. (1996) como uma forma alternativa ao parâmetro de conteúdo de informação polimórfica utilizada em marcadores codominantes, onde  $E$  possibilitou a identificação da combinação M\_CTT/E\_AAC como a mais informativa (6,63). A heterozigosidade esperada ( $H_e$ ) de cada combinação apresentou valor máximo observado (0,63) em M\_CTC/E\_ACG e mínimo (0,21) em M\_CTT/E\_ACT.

O índice do marcador ( $M$ ) que é caracterizado como um produto da taxa efetiva multiplex e a heterozigosidade esperada, revelou que a melhor combinação foi M\_CAC/E\_AAC, com o índice de 3,96, seguido por M\_CTT/E\_AAC com 3,04. Ambos os parâmetros de variabilidade podem ser visualizados especificamente para cada combinação AFLP na Tabela 1 e na Figura 1. O parâmetro de índice do marcador tem como vantagem ao valor  $E$  por integrar a heterozigosidade esperada, possibilitando identificar a combinação de marcador com maior conteúdo de informação quando comparada com o parâmetro  $E$  apenas. Além disso, a melhor representação da variabilidade genética é influenciada pelo número de combinação de marcadores empregados para o estudo.

Tabela 1 - Combinações AFLP com seus respectivos parâmetros de variabilidade genética avaliados.

Combinação de primers	n	$\beta$	E	He
M_CAC E_AAC	50	0.13	6.5	0.61
M_CTC E_ACG	26	0.06	1.56	0.63
M_CTC E_ACA	40	0.10	4	0.54
M_CAC E_ACA	19	0.05	0.95	0.41
M_CAC E_ACG	14	0.03	0.42	0.46
M_CTC E_ACT	33	0.08	2.64	0.48
M_CTT E_AAC	51	0.13	6.63	0.46
M_CTT E_ACG	13	0.03	0.39	0.46
M_CTT E_ACA	27	0.06	1.62	0.45
M_CTT E_ACT	11	0.02	0.22	0.21
M_CAA E_ACG	24	0.06	1.56	0.49
M_CAA E_ACA	44	0.11	4.84	0.51
M_CAA E_ACT	33	0.08	2.64	0.60
Média	29,69	0.07		0.52
Total	386			

Nota: n- número de alelos polimórficos,  $\beta$ - fração de *loci* polimórficos, E- taxa efetiva multiplex e He- heterozigosidade esperada.



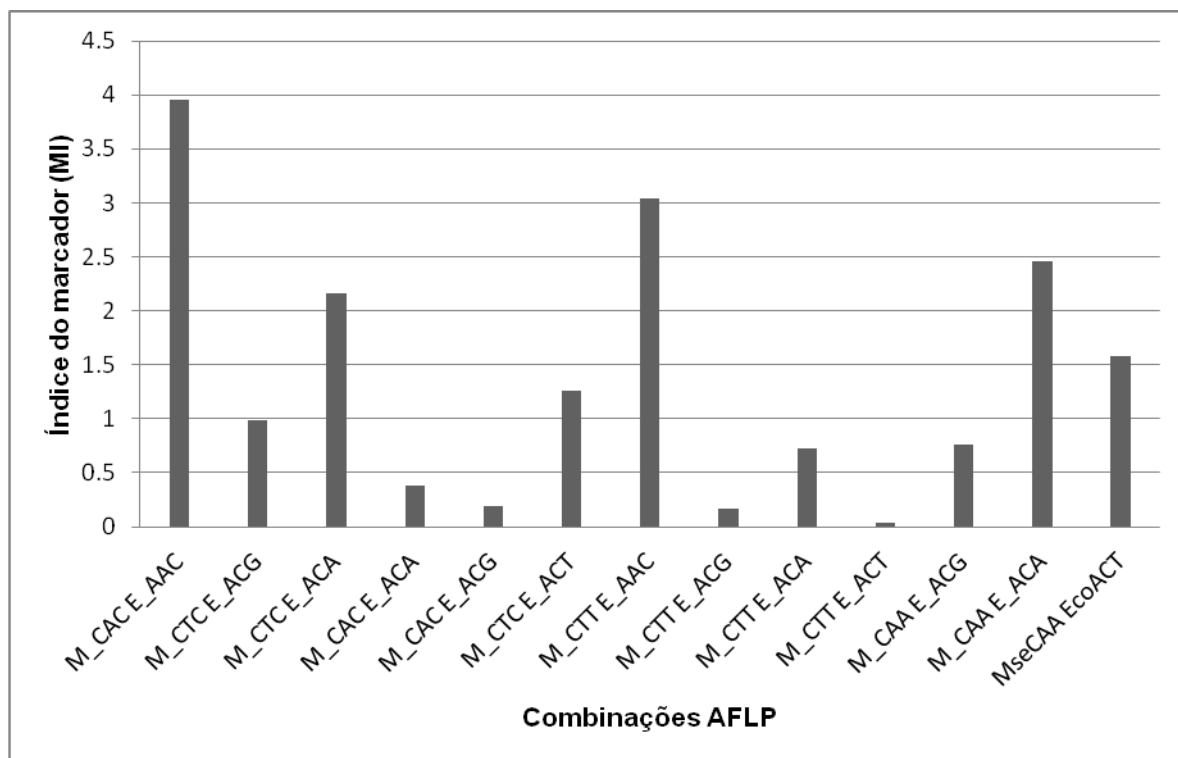


Figura 1 - Distribuição do MI (Índice do marcador) pelas 13 combinações AFLP.

Além da avaliação dos parâmetros de variabilidade genética por combinação AFLP descritos acima, avaliou-se o número de alelos polimórficos observados em cada genótipo. O mutante 40 (FMut40), derivado da cultivar BRS Fronteira, apresentou o menor número de alelos polimórficos (89), já o mutante 87 (FMut87), proveniente da mesma cultivar, apresentou o maior número de alelos com (263). Estes valores mínimos e máximos de alelos observados por genótipos são em relação ao número total que pode ser observado entre todas as combinações AFLP, ou seja, 367 alelos, sendo que a média entre os genótipos deste estudo foi de 188,58 alelos.

A variação no número de alelos polimórficos observados nos diferentes genótipos mutantes em relação aos não mutantes pode ser observado na Figura 2. As alterações no número de alelos nos genótipos mutantes em relação às cultivares testemunhas podem ser resultantes de mudanças estruturais do DNA em função de quebras, transposições, substituições, deleções, entre outras (DANYLCHENKO e SOROCHINSKY, 2005).

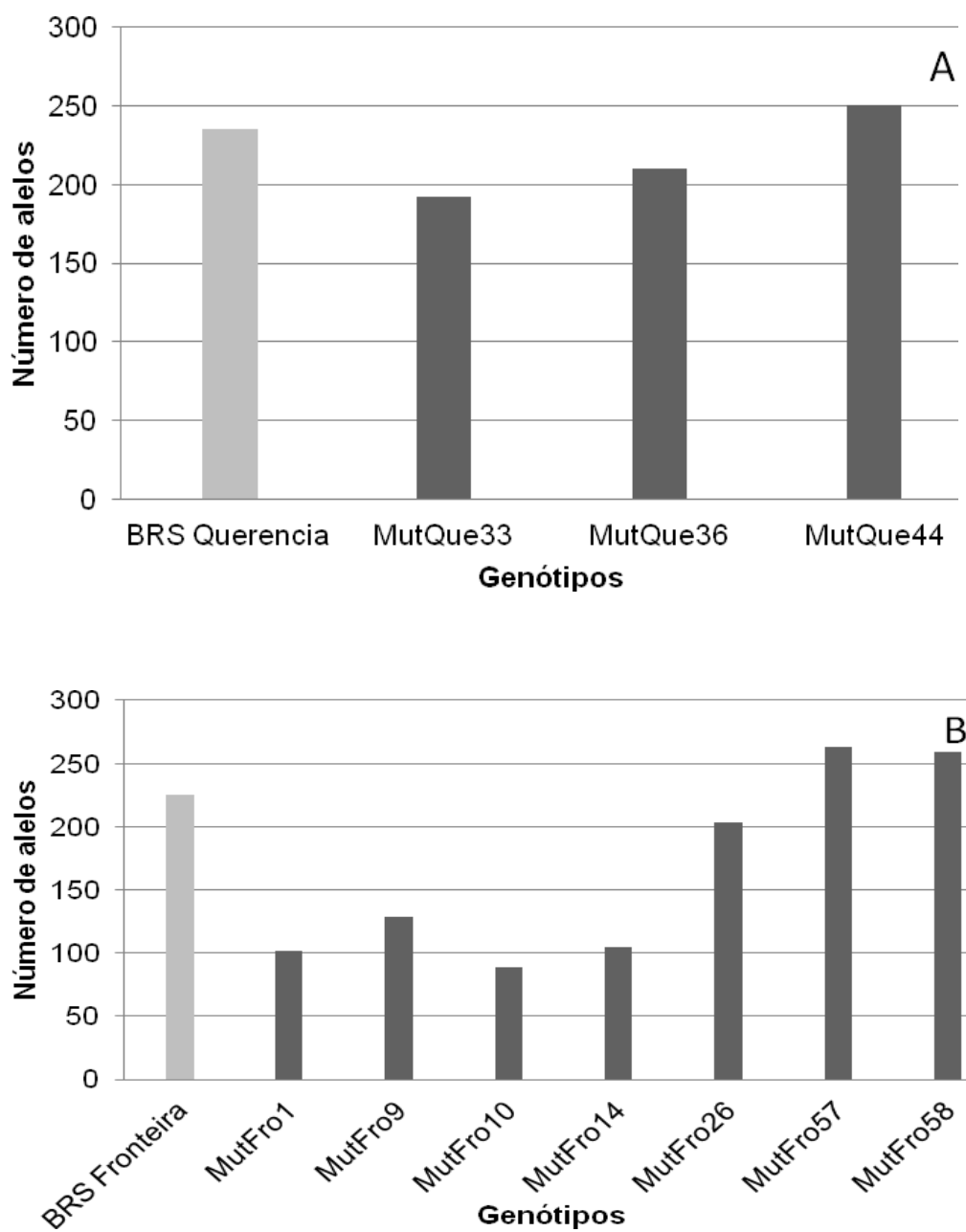


Figura 2 - Número de alelos observados de todas as combinações AFLP em cada genótipo de arroz. A- BRS Querência e seus respectivos mutantes e, B- BRS Fronteira com seus respectivos mutantes.

### **Relação genética entre genótipos**

A relação genética entre os genótipos de arroz pode ser observada pela análise de similaridade genética calculada pelo coeficiente Simple Matching, com base no polimorfismo gerado pelas 13 combinações de primers AFLP, e, representada graficamente no dendrograma (Figura 3). As combinações AFLP possibilitaram a discriminação de todos os genótipos. O teste de Mantel, o qual mede o grau de confiabilidade entre a matriz de similaridade genética e os resultados de agrupamento observados no dendrograma, revelou um coeficiente de correlação ( $r$ ) de 0,96, indicando uma excelente correlação de resultados. Os resultados de agrupamento UPGMA mostraram uma alta taxa de variabilidade genética entre os genótipos de arroz, a qual variou de 0,50 a 1,00 (Figura 3 e Tabela 3). Para Kosman e Leonard (2005), determinar a dissimilaridade genética entre indivíduos é considerado como um importante e decisivo ponto para a análise de agrupamento, pois diferentes coeficientes de similaridade genética podem produzir diferentes resultados. Assim a utilização do coeficiente Simple matching na técnica AFLP é o aconselhado por Laurentin (2008) para populações com indivíduos estreitamente relacionados, mostrando-se eficiente em nosso estudo para verificar a relação genética entre os genótipos de arroz mutantes e controles.

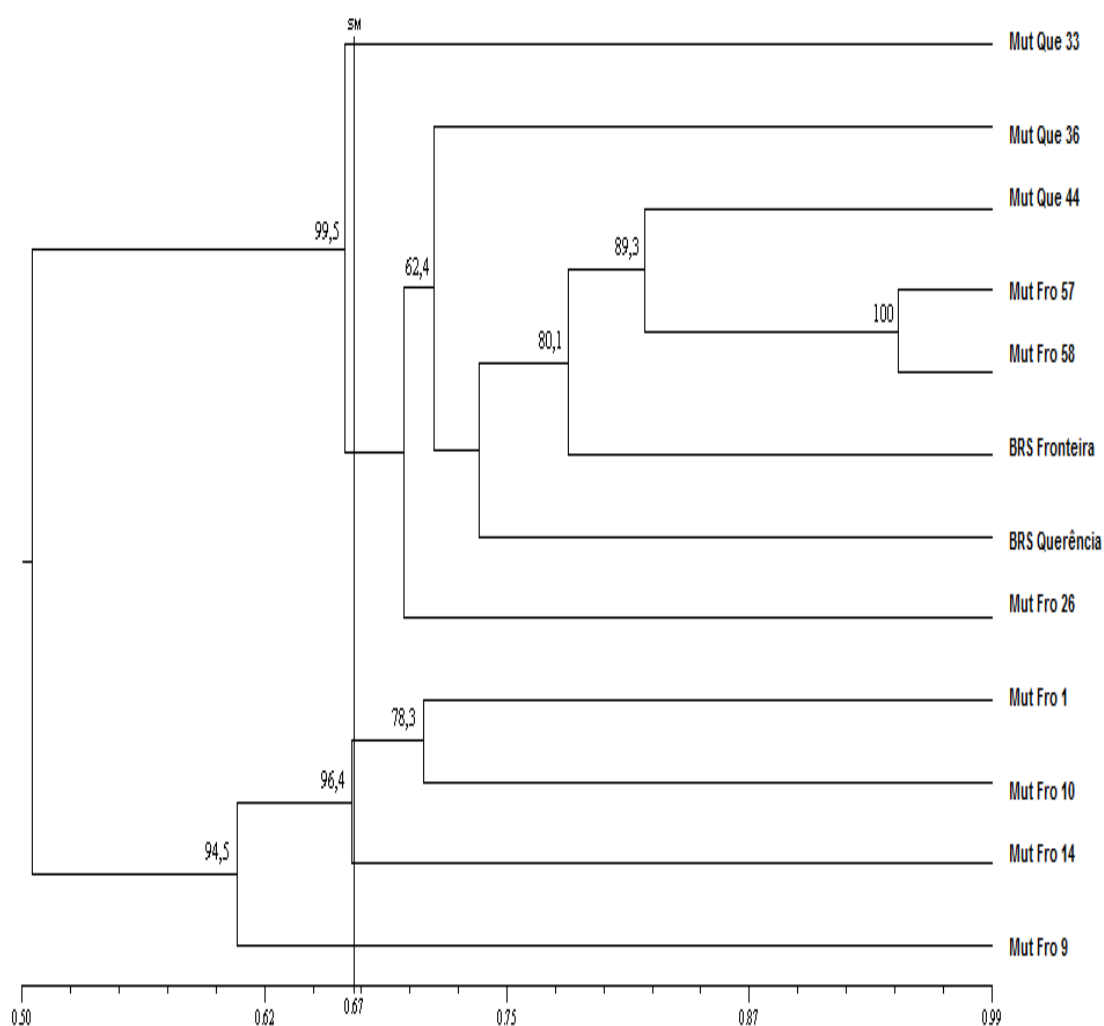


Figura 3 - Dendrograma gerado pelo método UPGMA, a partir da similaridade genética obtida pelo coeficiente de Simple Matching, dos 10 genótipos de arroz mutantes e dos dois controles.

A similaridade genética observada entre os genótipos controle das cultivares BRS Fronteira e BRS Querência foi de 0,68. Quando observada a variação da similaridade genética dos genótipos controles com seus respectivos mutantes, esta variou para BRS Fronteira de 0,49 (“Mut Fro 10”) a 0,78 (“Mut Fro 57” e “Mut Fro 58”), e para BRS Querência de 0,66 (“Mut Que 33”) a 0,77 (“Mut Que 44”) (Tabela 2). Os resultados deste estudo não apresentaram uma relação direta entre a dose de radiação gama e o grau de similaridade entre os genótipos controle e seus respectivos mutantes. Este resultado pode ser justificado pelas alterações genéticas aleatórias produzidas pela radiação ionizante, as quais são provenientes da ionização e excitação da molécula de DNA. A radiação ionizante pode promover dois

efeitos sobre o material hereditário: mutações genéticas pontuais e/ou quebras cromossômicas. Sendo que a mutabilidade pode contribuir com o aumento da variabilidade genética, sendo muito utilizada no passado e atualmente em diversos programas de melhoramento de várias espécies vegetais de importância agrícola.

Além do polimorfismo detectado entre os genótipos de arroz irradiados em relação aos controles, observados no presente trabalho, vários são os resultados obtidos pela radiação sobre distintas características morfológicas em vários estudos, como redução na altura de plantas mutantes (SILVA, et al., 2012; TABASUM et al., 2011; SHEHZAD et al., 2011; RASHID et al., 2009; MARTINS, et al., 2005), incremento no número de panículas por planta, no número de grãos por panícula, no número de perfilhos e na massa de 1000 grãos (SHEHZAD et al., 2011; MARTINS et al., 2005).

A similaridade genética média observada entre os genótipos foi de 0,67 a qual possibilitou a identificação de cinco grupos; um grande grupo abrangendo sete genótipos, representados pelas cultivares controles, os genótipos derivados da cv. BRS Querência, exceto “Mut Que 33”, e parte dos derivados da cv. BRS Fronteira; o segundo grupo identificado é representado pelos genótipos “Mut Fro 1” e “Mut Fro 10”, os demais genótipos apresentaram-se em grupos isolados (Figura 3). Os genótipos mutantes do grande grupo que apresentaram-se com a maior similaridade genética (“Mut Fro 57” e “Mut Fro 58”) mostraram uma resposta fenológica interessante, pois os valores de peso de mil grãos superior a ambos mostraram-se como superiores ao seu respectivo genótipo de origem e ao outro controle (dados não publicados). Além disso, o genótipo “Mut Fro 14” também apresentou valores similares aos genótipos mutantes relatados acima para o mesmo caractere de interesse, porém, com uma dissimilaridade mais alta (0,53, Tabela 2) quando comparado com seu genótipo controle.

Tabela 2 - Matriz de similaridade genética de Simple Matching dos 12 genótipos de arroz a partir dos alelos polimórficos das 13 combinações AFLP.

Gen.	MutQ33	MutQ36	MutQ44	BRS Querên.	BRS Front.	MutF1	MutF9	MutF10	MutF14	MutF26	MutF57	MutF58
MutQ33	1,00											
MutQ36	0,64	1,00										
MutQ44	0,70	0,77	1,00									
Querên.	0,66	0,72	0,77	1,00								
Frontei.	0,66	0,68	0,77	0,68	1,00							
MutF1	0,51	0,55	0,48	0,51	0,54	1,00						
MutF9	0,59	0,52	0,52	0,52	0,57	0,61	1,00					
MutF10	0,48	0,50	0,43	0,47	0,49	0,70	0,60	1,00				
MutF14	0,57	0,49	0,46	0,49	0,53	0,66	0,61	0,68	1,00			
MutF26	0,68	0,70	0,74	0,66	0,67	0,51	0,58	0,47	0,54	1,00		
MutF57	0,65	0,69	0,80	0,75	0,78	0,49	0,51	0,43	0,47	0,69	1,00	
MutF58	0,65	0,69	0,83	0,74	0,78	0,49	0,52	0,43	0,47	0,70	0,94	1,00

Além da análise de agrupamento hierárquica realizou-se a análise de coordenadas principais (PCoA), a qual tem como objetivo verificar a relação genética entre os genótipos em coordenadas cartesianas otimizadas de variância da matriz de similaridade genética (Figura 4). Esta análise tem sido recomendada e usada por diversos autores (CRUZ e CARNEIRO, 2006).

Os resultados da análise de PCoA corroboram com os obtidos pela análise de agrupamento UPGMA vista no dendrograma. A PCoord1 (coordenada principal), a PCoord2 e a PCoord3 explicam juntas 79,54% da variância da similaridade genética dos genótipos pelas três primeiras dimensões, 64,52%, 10,97% e 4,04%, respectivamente.

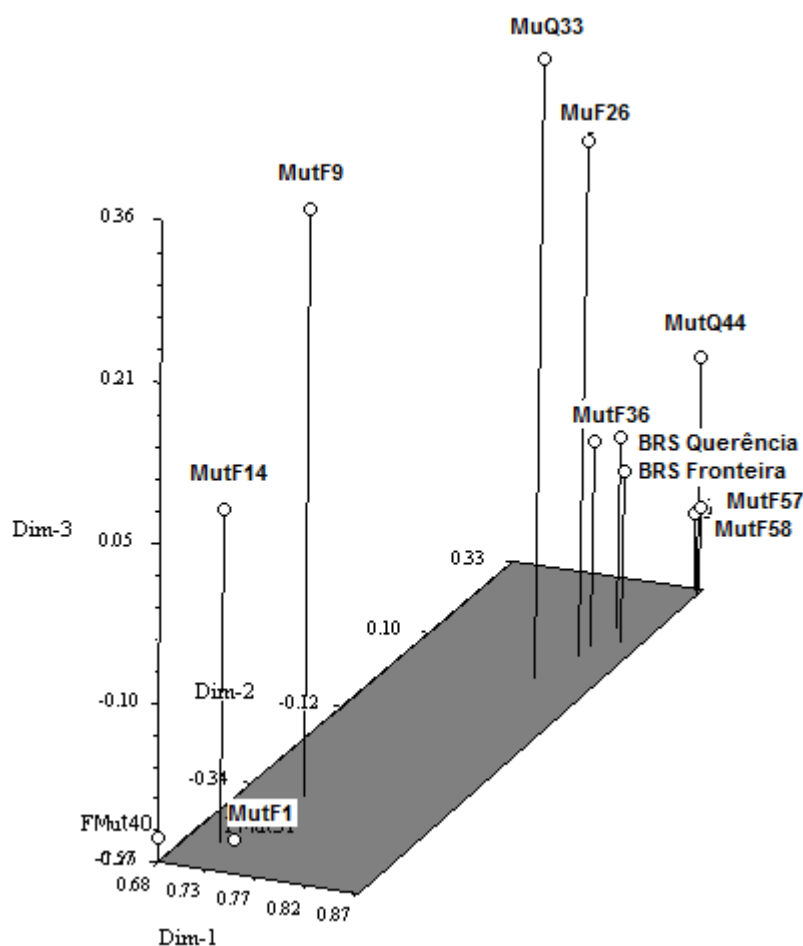


Figura 4 - Gráfico tridimensional representando as principais coordenadas que explicam 65,81% da variância dos dados de similaridade genética da matriz Simple Matching.

Dentre os fatores que geram variabilidade na natureza, um deles é a mutação espontânea, sendo que mutações podem ser induzidas por agentes químicos (LEE et al., 2010) e físicos (MONTALVAN e ANDO, 1998). Para Brock

(1971) a introdução de genótipos de outros países ou regiões, é considerada uma fonte convencional de variação genética para uma primeira fase de um programa de melhoramento vegetal; bem como a hibridação e a recombinação genética compreendem outra fonte de variação para segunda fase do programa. No entanto, muitas vezes novas fontes de variabilidade encontram-se limitadas em programas de fitomelhoramento, assim a utilização de mutação induzida pode ser considerada como uma importante alternativa para incrementar a variabilidade.

Em arroz, o melhoramento genético proveniente de mutantes pode ser considerado como bem sucedido na obtenção de novas cultivares com boas características agrônômicas, como resistência a estresse biótico e/ou tolerância a estresse abiótico, e na ampliação da variabilidade genética da cultura (ALVAREZ et al., 2000).

Muitos estudos de análise molecular de genótipos mutantes, utilizando outras classes de marcadores que não a AFLP, não conseguiram uma efetiva diferenciação entre genótipos, pois dependendo da classe, o marcador é muito específico e as mutações induzidas podem não ocorrer nestes *loci* onde o marcador é alvo de análise. Assim a detecção de um polimorfismo requer o uso de um sensível sistema marcador, devido a uma baixa frequência de mutações em *loci* específicos (WITKOWICZ et al., 2003). Neste contexto, a alta especificidade e poder de análise da técnica AFLP, permite a detecção de variabilidade genética em diversos *loci* simultaneamente, sendo esta amplamente utilizada em estudos de caracterização genética de diversas espécies vegetais, e na grande maioria das vezes possibilita discriminar os genótipos que são altamente similares fenotipicamente. Além disso, esta técnica tem sido relatada por seu potencial em detectar *hotspots* em arroz mutante (LI et al, 2007, YU et al, 2007), detecção de alterações genômicas em arroz transgênico produzidas por calos (LABRA et al., 2001), análise da variação somaclonal em plantas regeneradas de *Arabidopsis* (POLANCO e RUIZ, 2002), plantas de *Echinacea purpurea* micropropagadas (CHUANG et al., 2009), centeio (DE LA PUENTE et al., 2008), pupunha (STEINMACHER et al., 2007), em populações mutantes segregantes de pimenta, derivadas do tratamento com EMS (metanosulfonato etílico) (LEE et al., 2010), fingerprinting de sequencias de DNA altamente complexas, e podem ser utilizadas para o mapeamento de alta resolução (JONES et al. 1997). Em nosso estudo,



assim como nos relatados acima, esta técnica mostrou-se efetiva para a diferenciação dos genótipos controle e sua discriminação em relação aos respectivos genótipos mutantes.

## CONCLUSÕES

A utilização da radiação gama foi eficiente para induzir mutações sobre o material hereditário do arroz, sendo a técnica AFLP eficiente para a caracterização molecular;

A indução de variabilidade genética por radiação gama apresentou até 51% de dissimilaridade entre genótipos de mesma origem, e não tem relação direta com a dose de radiação recebida. Sendo os mutantes “Mut Que 33” e “Mut Fro 10” os mais divergentes;

Dentre os primers testados as combinações mais informativas foram M\_CAC E\_AAC e M\_CTT E\_AAC.

## REFERÊNCIAS

- AHLOOWALIA, B. S.; MALUSZYNSKI, M.; NICTERLEIN, K. Global impact of mutation-derived varieties. **Euphytica**, v.135, n.2, p. 187-204, 2004.
- ALVAREZ, A.; FUENTES, J.L.; DEUS, J.E.; DUQUE, M.C.; CORNIDE, M.T. Genetic diversity analysis in rice mutants using isozyme and morphological markers. **Cultivos Tropicales**, v. 21, p. 39-44, 2000.
- BASSAM, B.J.; CAETANO-ANOLLÉS, G.; GRESSHOFF, P.M. Fast and sensitive silver staining of DNA in polyacrylamide gels. **Anal Biochemistry**, New York, v. 196, p. 80-83, 1991.
- BROCK, R.D. The role of induced mutations in plant improvement. **Radiation Botany**, Great Britain, v.11, p.181- 196, 1971.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2.ed. Viçosa: UFV, 2006. 585p.
- CHUANG, S.J., CHEN, C.L., CHEN, J.J., CHOU, W.Y., SUNG, J.M. Detection of somaclonal variation in micro-propagated *Echinacea purpurea* using AFLP marker. **Scientia Horticulturae**, v.120, p.121-126, 2009.

DANYLCHENKO, O.; SOROCHINSKY, B. Use of RAPD assay for the detection of mutation changes in plant DNA induced by UV-B and Rays. **BMC Plant Biology**, v. 5, n.1, p. 1-2, 2005.

DE LA PUENTE, R.; GONZÁLEZ, A.; RUIZ, M.; POLANCO, C. Somaclonal variation in rye (*Secale cereale* L.) analyzed using polymorphic and sequenced AFLP markers. **In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant**, v. 44, p. 419-426, 2008.

DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus**, Gaithersburg, v.12, p.13-15, 1987.

FAO. FAOSTAT: food and agricultural commodities production. disponível em :<<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx>>. Acesso em 16 Agosto de 2011.

GONZÁLEZ, M.C.; RODRÍGUEZ, M.; PÉREZ, N. CRISTO, E.; LÓPEZ, Y.; CANALES, E.; BORRÁS, O. Cuban Rice Mutants Obtained from Protons Radiations. **Plant Mutation Reports**, v. 2, n. 1, p. 24-26, December, 2008.

HIROCHIKA, H. Contribution of the Tos17 retrotransposon to rice functional genomics. **Current Opinion in Plant Biology**, v. 4, p. 118–122, 2001.

JONES, C.J.; EDWARDS, K.J.; CASTAGLIONE, S.; WINFIELD, M. O.; SALA, F.; VAN DE WIEL, C.; BREDEMEIJER, G.; VOSMAN, B.; MATTHES, M.; DALY, A.; BRETTSCHEIDER, R.; BETTINI, P.; BUIATTI, M.; MAESTRI, E.; MALCEVSCHI, A.; MARMIROLI, N.; AERT, R.; VOLCKAERT, G.; RUEDA, J.; LINACERO, R.; VAZQUEZ, A.; KARP, A. Reproducibility testing of RAPD, AFLP and SSR markers in plants by a network of European laboratories. **Molecular Breeding**, v. 3, p. 381–390, 1997.

KOSMAN, E.; LEONARD, J. Similarity coefficients for molecular markers in studies of genetic relationships between individuals for haploid, diploid and polyploidy species. **Molecular Ecology**, v. 14, p. 415–424, 2005.

LABRA, M.; SAVINI, C.; BRACALE, M.; PELUCCHI, N.; COLOMBO, L.; BARDINI, M.; SALA, F. (2001) Genomic changes in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) plants produced by infecting calli with *Agrobacterium tumefaciens*. **Plant Cell Reports**, v. 20, p. 325-330, 2001.

LAURENTIN, H. Data analysis for molecular characterization of plant genetic

resources. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 56, p. 277-292, 2008.

LEE, J.; YOON, J.B.; HAN, J.H.; LEE, W. P.; KIM, S.H.; PARK, H.G. Three AFLP markers tightly linked to the genic male sterility ms3 gene in chili pepper (*Capsicum annuum* L.) and conversion to a CAPS marker. **Euphytica**, v. 173, p. 55-61, 2010.

LEUNG, H.; AN, G. Rice functional genomics: large scale gene discovery and applications for crop improvement. **Advances in Agronomy**, v. 82, p. 55–111, 2004.

LI, Y.; LIU, M.; CHENG, Z.; SUN, Y. Space environment induced mutations prefer to occur at polymorphic sites of rice genomes. **Advances Space Research**, v. 40, p. 523-527, 2007.

LU, J.Y.; ZHANG, W.L.; XUE, H.; PAN, Y.; ZHANG, C.H.; HE, X.H.; LIU, M. Changes in AFLP and SSR DNA polymorphisms induced by short-term space flight of rice seeds. **Biologia Plantarum**, v. 54, n. 1, p. 112-116, 2010.

MALUSZYNSKI, M.; SZAREJKO, I. Induced mutations in the green and gene revolutions. In: Tuberosa R, Phillips RL, Gale M (eds). **Proceedings of the International Congress**. In the wake of the double helix: from the green revolution to the gene revolution. Avenue media, Bologna, p. 403–425, 2005.

MANTEL, N. A. The detection of disease clustering and a generalized regression approach. **Cancer Research**, v. 27, p. 209-220, 1967.

MARTINS, A. F.; ZIMMER, P. D; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F. de; VIEIRA, E. A.; CARVALHO, M. F. de; MARTINS, L. F.; FONSECA, F. S. da. Variabilidade para caracteres morfológicos em mutantes de arroz. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v.29, n.6, p.1215-1223, nov-dez, 2005.

MONTALVAN, R.; ANDO, A. Effect of gamma-radiation and sodium azide on quantitative characters in rice (*Oryza sativa* L.). **Genetics and Molecular Biology**, v. 21, n.1, mar, 1998. Disponível em: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-47571998000100014&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-47571998000100014&script=sci_arttext)

PATZAK, J. Assessment of somaclonal variability in hop (*Humulus lupulus* L.) in vitro meristem cultures and clones by molecular methods. **Euphytica**, v. 131, p. 343–350, 2003.

POLANCO, C.; RUIZ, M. L. AFLP analysis of somaclonal variation in *Arabidopsis thaliana* regenerated plants. **Plant Science**, v. 162, p. 817-824, 2002.

POWELL, W.; MORGANTE, A.; ANDERE, C.; HANAFEY, M.; VOGEL, J.; TINGEY, S.; RAFALSKI, A. The comparison of RFLP, RAPD, AFLP and SSR (microsatellite) markers for germplasm analysis. **Molecular Breeding**, v. 2, p. 225–238, 1996.

PREDIERI, S. Mutation induction and tissue culture in improving fruits. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v. 64, n. 2 – 3, p. 185-210, 2001.

RASHID, M.; REN-HU, L.; WEI, J.; YONG-HAN, X.; FU-LIN, W.; YUE-ZHI, T.; JUN-MEI, W.; CHEEMA, A. A.; JIN-QING, C.; HE, G. Genomic diversity among Basmati rice (*Oryza sativa* L) mutants obtained through <sup>60</sup>Co gamma radiations using AFLP markers. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 24, p. 6777-6783, 15 Dec, 2009.

ROHLF, F. J. **NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system, version 2.1**. New York: Exeter Software, 2000. 83p.

SAKER, M. M.; ADAWY, S. S.; MOHAMED, A. A.; EL-ITRIBY, H. A. Monitoring of cultivar identity in tissue culture-derived date palms using RAPD and AFLP analysis. **Biologia Plantarum**, v. 50, n. 2, p. 198–204, 2006.

SHEHZAD, T.; ALLAH, A.; EL NABY, A.; ALLAH, A.; AMMAR, M. H.; ABDELKHALIK, A. F. Agronomic and molecular evaluation of induced mutant rice (*oryza sativa* L.) lines in Egypt. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 2, p. 1183-1194, 2011.

SHU, Q.Y.; LAGODA, P. J. L. Mutation techniques for gene discovery and crop improvement. **Molecular Plant Breeding**, v. 5, p. 193–195, 2007.

SILVA, A. S. da; DANIELOWSKI, R.; BRAGA, E. J. B.; DEUNER, S.; MAGALHÃES JR, A. M.; PETERS, J. A. Development of rice seedlings grown from pre-hydrated seeds and irradiated with gamma rays. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1093-1100, 2011.

SNEATH, P. H. A.; SOKAL, R. R. **Numeric Taxonomy: the principles and practice of numerical classification**. San Francisco: W. H. Freeman, 1973. 573p.

STADLER, L. J. Mutations in barley induced by X-rays and radium. **Science**, v. 68, n. 1756, p. 186–187, 1928.

STEINMACHER, D.A.; KROHN, N.G.; DANTAS, A. C. M.; STEFENON, V.M.; CLEMEN, C. R.; GUERRA, M. P. Somatic embryogenesis in peach Palm using the

thin cell layer technique: induction, morpho-histological aspects and AFLP analysis of somaclonal variation. **Annals of Botany**, v. 100, p. 699-709, 2007.

TABASUM, A.; CHEEMA, A. A.; HAMEED, A.; RASHID, M.; ASHRAF, M. Radio sensitivity of rice genotypes to gamma radiations based on seedling traits and physiological indices. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 2, p. 1211-1222, 2011.

VAN HARTEN, A. M. **Mutation breeding—theory and practical application**. Cambridge University Press, UK, 1998. 353p.

VOS, P.; HOGRES, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T.; HORNES, M.; FRITJERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acid Reserch**, v.23, p. 4407-4414, 1995.

WITKOWICZ, J.; URBANCZYK-WOCHNIAK, E.; PRZYBECKI, Z. AFLP marker polymorphism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) Near isogenic lines differing in sex expression. **Cellular and Molecular Biology Letters**, v. 8, p. 375-381, 2003.

YAP, I.V.; NELSON, R.J. **WinBoot: A program for performing bootstrap analysis of binary data to determine the confidence limits of UPGMA-based dendograms**, 1996.

YU, X.; WU, H.; WEI, L.J.; CHENG, Z.L.; XIN, P.; HUANG, C.L.; ZHANG, K.P.; SUN, Y.Q. Characteristics of phenotype and genetic mutations in rice after spaceflight. **Advances Space Research**, v. 40, p. 528-534, 2007.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A variabilidade genética constitui-se na essência dos processos evolutivos e do melhoramento vegetal, uma vez que, é imprescindível a presença desta para que a seleção natural e/ou artificial sejam efetivas. Além da variabilidade genética pré-existente no germoplasma, é possível a adição de variabilidade por meio de mutações artificiais, recombinações gênicas, transformação genética e mutações somaclonais. Há mais de 50 anos, diferentes estratégias vêm sendo utilizadas e muitas cultivares de arroz foram produzidos a partir de mutações induzidas e/ou seleção de constituições genéticas a partir de populações mutantes. Em muitos casos, uma mutação pontual pode corrigir ou melhorar alguns caracteres, permitindo a seleção de constituições genéticas superiores ainda nas primeiras gerações. Com esse objetivo, neste trabalho foi observada ampla variabilidade entre os genótipos, sendo obtidos mutantes com caracteres agrônômicos de interesse, como redução no ciclo da cultura, mudanças na arquitetura de planta (alterações na altura de plantas, no número de perfilhos, em panículas e folhas), bem como mutantes que apresentaram incremento no peso de grãos. Fora isto, a técnica AFLP foi eficiente para a caracterização molecular, revelando mais de 50% de dissimilaridade entre os genótipos. Assim, estes mutantes poderão se transformar em novas cultivares ou servirem para cruzamentos em programas de melhoramento e/ou estudos de ação gênica.

## REFERÊNCIAS

- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO (CONAB). Acompanhamento da safra brasileira: Grãos – Safra 2012/2013 - Nono levantamento. Brasília: Conab, 2013. 30 p. Disponível em [http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13\\_06\\_06\\_09\\_09\\_27\\_boletim\\_graos\\_-\\_junho\\_2013.pdf](http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/13_06_06_09_09_27_boletim_graos_-_junho_2013.pdf). Acesso em 20 jul. 2013.
- CORDEIRO, A. C. C. **Número de intercruzamentos na eficiência da seleção recorrente na cultura do arroz**. 2001.149p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas). Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.
- CORDEIRO, A. C. C. SOARES, A. A.; RAMALHO, M. A. P.; RANGEL, P. H. N. Effect of the number of intercrosses on grain yield in basic rice synthetic populations. **Euphytica**, v. 132, p. 79-86. 2003.
- CORDEIRO, A. C. C.; MEDEIROS, R. D. Desempenho produtivo de genótipos de arroz oriundos de hibridação interespecífica entre *oryza sativa* e *oryza glumaepatula*, em várzea de Roraima. Amazônia: **Ciência e Desenvolvimento**, Belém, v. 5, n. 10, p.133-141, jan-jun, 2010.
- CORDEIRO, A. C. C.; RANGEL, P. H. N. Avaliação de populações de arroz irrigado conduzidas por seleção recorrente em várzea de Roraima. **Revista Agro@ambiente** On-line, v. 5, n. 3, p. 182-187, setembro-dezembro, 2011.
- CRUZ, R. P.; MILACH, S. C. K. Melhoramento genético para tolerância ao frio em arroz irrigado. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 30, n. 5, p. 909-917, 2000.
- CUTRIM, V. dos A.; MOURA NETO, F. P.; RANGEL, P. H.; FAGUNDES, P. R. R.; MAGALHÃES JR, A. M. de; CAMPOS, G. W. de; NEVES, P. de C. F.; FONSECA, J. R.; MORAIS, O. P. de; BASSINELLO, P. Z. **BRS Fronteira: cultivar de arroz irrigado para os Estados do Rio Grande do Sul e São Paulo**. Santo Antônio de Goiás, GO: EMBRAPA-CNPAP, 2006. 4p. (EMBRAPA- CNPAP: Comunicado Técnico, 124).

FAGUNDES, P. R. R.; MAGALHÃES JR, A. M. de; FRANCO, D. F.; RANGEL, P. H.; CUTRIM, V. dos A.; NEVES, P. de C. F.; MOURA NETO, F. P.; SOARES, R. C. **BRS Querência: precocidade, produtividade e qualidade para a orizicultura gaúcha**. Pelotas, RS: EMBRAPA-CPACT, 2005. 6p. (EMBRAPA- CPACT: Circular Técnica, 47).

GONZÁLEZ, M.C.; RODRÍGUEZ, M.; PÉREZ, N. CRISTO, E.; LÓPEZ, Y.; CANALES, E.; BORRÁS, O. Cuban Rice Mutants Obtained from Protons Radiations. **Plant Mutation Reports**, v. 2, n. 1, p. 24-26, December, 2008.

GUNCKEL, J.E.; SPARROW, A.H. Ionizing radiation: Biochemical, physiological and morphological aspects of their effects on plants. In: Encyclopedia of Plant Physiology (Ed.) W. Ruhland. v. XVI, p. 555-611, Springer-verlag, Berlin, 1961.

HAJOS, N.M. Results of mutation induction in corn, pea and soybean at the department of genetics and plant breeding between. **Bulletin of the Szent István University**, Gödöllı, Hungary, v. 1, p. 50-57, 2009.

HAMEED, A., SHAH, T.M.; ATTA, B.M.; HAQ, M.A.; SYED, H. Gamma irradiation effects on seed germination and growth, protein content, peroxidase and protease activity, lipid peroxidation in desi and kabuli chickpea. **Pakistan Journal of Botany**, v. 40, p. 1033-1041, 2008.

LEE, Y.I., LEE, I.S.; LIM, Y.P. Variation sweet potato regenerates from gamma-rays irradiated embryogenic callus. **Journal Plant Biotechnology**, v. 4, p. 163-170, 2002.

LI, Y.; LIU, M.; CHENG, Z.; SUN, Y. Space environment induced mutations prefer to occur at polymorphic sites of rice genomes. *Science Direct*, v. 40, p. 523-527, 2007.

LU, J.Y.; ZHANG, W.L.; XUE, H.; PAN, Y.; ZHANG, C.H.; HE, X.H.; LIU, M. Changes in AFLP and SSR DNA polymorphisms induced by short-term space flight of rice seeds. **Biologia Plantarum**, v. 54, n. 1, p. 112-116, 2010.

MAGALHÃES JR. de, A. M. **Recursos genéticos de arroz (*Oryza sativa* L.) no Sul do Brasil**. 2007. 160p. Tese (Doutorado em Agronomia/ Fitomelhoramento) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2007.

MAJEED, A.; MUHAMMAD, Z. Gamma Irradiation Effects on Some Growth Parameters of *Lepidium sativum* L. **World Journal of Fungal and Plant Biology**, v. 1, n. 1, p. 08-11, 2010.



MALONE, G.; ZIMMER, P.D.; KOPP, M. M.; MATTOS, L. A. T. de; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de. Assessment of the genetic variability among rice cultivars revealed by amplified fragment length polymorphism (AFLP). **Revista Brasileira de Agrociência**, v. 12, n. 1, p. 21-25, 2006.

MARTINS, A. F.; ZIMMER, P. D; OLIVEIRA, A. C.; CARVALHO, F. I. F. de; VIEIRA, E. A.; CARVALHO, M. F. de; MARTINS, L. F.; FONSECA, F. S. da. Variabilidade para caracteres morfológicos em mutantes de arroz. **Ciência e Agrotecnologia**. Lavras, v.29, n.6, p.1215-1223, Nov./dez., 2005.

PRASHANTH, S.R.; PARANI, M.; MOHANTY, B. P.; TALAME, V.; TUBEROSA, R.; PARIDA, A. Genetic diversity in cultivars and landraces of *Oryza sativa* subsp. *indica* as revealed by AFLP Markers. **Genome**, v. 45, n. 3, p. 451-459, 2002.

RAMALHO, M. A. P; SANTOS, J. B dos; ZIMMERMANN, M. J. **Genética quantitativa em plantas autógamas: aplicações ao melhoramento do feijoeiro**. Goiânia:UFG,1993.271 p.

RANGEL, P. H. N. et al. **Coleta, caracterização e uso de germoplasma silvestre de arroz diplóide e tetraplóide (*Oryza spp.*) nativo do Brasil no melhoramento genético**. Cap 20,p. 586-631. In: FUNDAMENTOS PARA A COLETA DE GERMOPLASMA VEGETAL. Ed.Walter, B.M.T&Cavalcanti, T.B. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia,2005.778p.

RASHID, M.; REN-HU, L.; WEI, J.; YONG-HAN, X.; FU-LIN, W.; YUE-ZHI, T.; JUN-MEI, W.; CHEEMA, A. A.; JIN-QING, C.; HE, G. Genomic diversity among Basmati rice (*Oryza sativa* L) mutants obtained through <sup>60</sup>Co gamma radiations using AFLP markers. **African Journal of Biotechnology**, v. 8, n. 24, p. 6777-6783, 15 December, 2009.

SHEHZAD, T.; ALLAH, A.; EL NABY, A.; ALLAH, A.; AMMAR, M. H.; ABDELKHALIK, A. F. Agronomic and molecular evaluation of induced mutant rice (*oryza sativa* L.) lines in Egypt. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 2, p. 1183-1194, 2011.

SILVA, A. S.da; DANIELOWSKI, R.; BRAGA, E. J. B.; DEUNER, S.; MAGALHÃES JR, A. M.; PETERS, J. A. Radiossensibilidade em plântulas de arroz irrigado: potencial de crescimento e capacidade antioxidante. **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata, v. 111, n. 2, p. 83-90, 2012.

TABASUM, A.; CHEEMA, A. A.; HAMEED, A.; RASHID, M.; ASHRAF, M. Radio sensitivity of rice genotypes to gamma radiations based on seedling traits and physiological indices. **Pakistan Journal of Botany**, v. 43, n. 2, p. 1211-1222, 2011.

THEERAWITAYA, C.; TRIWITAYAKORN, K.; KIRDMANEE, C.; SMITH, D. R.; SUPAIBULWATANA, K. Genetic variations associated with salt tolerance detected in mutants of KDML105 (*Oryza sativa* L. spp. indica) rice. **Australian Journal of Crop Science**, v. 5, n. 11, p. 1475-1480, 2011.

VOS, P.; HOGRES, R.; BLEEKER, M.; REIJANS, M.; LEE, T.; HORNES, M.; FRITJERS, A.; POT, J.; PELEMAN, J.; KUIPER, M.; ZABEU, M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acid Reserch**, v.23, p. 4407-4414, 1995.

WITKOWICZ, J.; URBANCZYK-WOCHNIAK, E.; PRZYBECKI, Z. AFLP marker polymorphism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) Near isogenic lines differing in sex expression. **Cellular and Molecular Biology Letters**, v. 8, p. 375-381, 2003.

YU, X.; WU, H.; WEI, L. J.; CHENG, Z. L.; YIN, P.; HUANG, C. L.; ZHANG, K. P.; SUN, Y. Q. Characteristics of phenotype and genetic mutations in rice after spaceflight. *Science Direct*, v. 40, p. 528–534, 2007.

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

**Anexo 1:** Identificação dos genótipos mutantes, origem e doses de radiação utilizada para induzir a mutação.

Genótipo	Cultivar de origem	Dose de radiação (Gy)	Genótipo	Cultivar de origem	Dose de radiação (Gy)
“Mut Fro 1”	<b>BRS Fronteira</b>	350	“Mut Fro 31”	<b>BRS Fronteira</b>	200
“Mut Fro 2”	<b>BRS Fronteira</b>	200	“Mut Fro 32”	<b>BRS Fronteira</b>	300
“Mut Fro 3”	<b>BRS Fronteira</b>	200	“Mut Que 33”	BRS Querência	300
“Mut Fro 4”	<b>BRS Fronteira</b>	350	“Mut Fro 34”	<b>BRS Fronteira</b>	250
“Mut Fro 5”	<b>BRS Fronteira</b>	300	“Mut Fro 35”	<b>BRS Fronteira</b>	350
“Mut Fro 6”	<b>BRS Fronteira</b>	200	“Mut Que 36”	BRS Querência	350
“Mut Que 7”	BRS Querência	200	“Mut Que 37”	BRS Querência	300
“Mut Que 8”	BRS Querência	200	“Mut Que 38”	BRS Querência	350
“Mut Fro 9”	<b>BRS Fronteira</b>	300	“Mut Que 39”	BRS Querência	350
“Mut Fro 10”	<b>BRS Fronteira</b>	200	“Mut Que 40”	BRS Querência	250
“Mut Fro 11”	<b>BRS Fronteira</b>	200	“Mut Que 41”	BRS Querência	250
“Mut Fro 12”	<b>BRS Fronteira</b>	200	“Mut Que 42”	BRS Querência	250
“Mut Fro 13”	<b>BRS Fronteira</b>	200	“Mut Fro 43”	<b>BRS Fronteira</b>	300
“Mut Fro 14”	<b>BRS Fronteira</b>	300	“Mut Que 44”	BRS Querência	250
“Mut Fro 15”	<b>BRS Fronteira</b>	200	“Mut Que 45”	BRS Querência	200
“Mut Fro 16”	<b>BRS Fronteira</b>	300	“Mut Que 46”	BRS Querência	350
“Mut Que 17”	BRS Querência	200	“Mut Que 47”	BRS Querência	350
“Mut Fro 18”	<b>BRS Fronteira</b>	250	“Mut Que 48”	BRS Querência	300
“Mut Fro 19”	<b>BRS Fronteira</b>	350	“Mut Fro 49”	<b>BRS Fronteira</b>	250
“Mut Que 20”	BRS Querência	350	“Mut Fro 50”	<b>BRS Fronteira</b>	300
“Mut Que 21”	BRS Querência	300	“Mut Fro 51”	<b>BRS Fronteira</b>	300
“Mut Que 22”	BRS Querência	350	“Mut Fro 52”	<b>BRS Fronteira</b>	350
“Mut Que 23”	BRS Querência	200	“Mut Fro 53”	<b>BRS Fronteira</b>	250
“Mut Que 24”	BRS Querência	350	“Mut Fro 54”	<b>BRS Fronteira</b>	250
“Mut Que 25”	BRS Querência	250	“Mut Que 55”	BRS Querência	250
“Mut Fro 26”	<b>BRS Fronteira</b>	250	“Mut Fro 56”	<b>BRS Fronteira</b>	250
“Mut Fro 27”	<b>BRS Fronteira</b>	350	“Mut Fro 57”	<b>BRS Fronteira</b>	250
“Mut Fro 28”	<b>BRS Fronteira</b>	300	“Mut Fro 58”	<b>BRS Fronteira</b>	250
“Mut Fro 29”	<b>BRS Fronteira</b>	300	“Mut Que 59”	BRS Querência	250
“Mut Que 30”	BRS Querência	300			

Anexo 2: Médias das cultivares testemunhas (BRS Querências e BRS Fronteira) e dos 59 mutantes para 12 caracteres agrônômicos avaliados.

	AP	CC	EC	C FB	L FB	N PER	N PAN	C PAN	N G	N E E	P 1000	Ciclo
BRS Querência	97,0	71,8	3,9	31,7	1,9	16,5	15,7	33,4	170,3	68,9	24,2	113,0
BRS Fronteira	92,3	69,6	3,5	27,0	1,5	17,9	15,8	28,9	145,2	23,8	25,7	130,6
Mut Fro 1	93,4	68,8	4,1	31,9	1,48	23,2	20,4	30,0	184,8	36,6	25,7	84
Mut Fro 2	94,0	66,6	4,2	30,8	1,5	15,8	14,0	32,1	168	34,2	27,3	85
Mut Fro 3	94,2	68,2	4,2	33,2	1,52	14,4	14,0	30,3	167,2	33,8	26,56	91
Mut Fro 4	96,4	72,4	3,9	29,8	1,54	17,4	15,8	30,8	176,0	42,0	26,02	90
Mut Fro 5	91,0	65,2	4,2	31,6	1,58	14,4	14,0	31,44	161,2	49,8	26,34	93
Mut Fro 6	93,6	67,6	4,2	33,2	1,44	14,8	14,6	30,4	185,6	45,0	25,9	92
Mut Que 7	96,0	70,2	4,0	34,22	1,82	12,8	12,8	33,9	188,4	67,0	24,03	83
Mut Que 8	91,7	67,2	3,7	30,5	1,86	15,8	15,6	34,3	170,0	58,4	24,25	78
Mut Fro 9	95,4	69,6	4,1	34,8	1,88	14,0	12,0	33,9	194,8	80,8	24,41	83
Mut Fro 10	93,2	68,8	4,6	30,5	1,46	13,8	14,4	28,7	158,0	38,4	25,2	95
Mut Fro 11	94,8	69,2	4,1	32,8	1,44	17,6	16,8	31,4	182,6	29,0	26,23	92
Mut Fro 12	91,2	66,2	4,1	30,1	1,44	18,6	18,2	30,1	137,4	28,2	26,8	93
Mut Fro 13	92,4	67,8	3,9	25,4	1,5	14,2	14,2	28,7	153,8	25,6	26,54	97
Mut Fro 14	93,2	70,0	4,1	26,4	1,48	15,4	14,2	29,0	176,8	29,2	27,7	96
Mut Fro 15	90,4	66,2	4,0	32,4	1,54	17,0	16,4	29,3	145,4	39,0	25,72	94
Mut Fro 16	96,8	70,6	4,0	26,2	1,58	17,2	17,0	28,7	154,0	29,8	26,35	95
Mut Que 17	94,0	68,0	4,0	36,1	1,8	14,0	13,6	34,4	182,2	68,0	23,75	83
Mut Fro 18	89,6	67,6	3,9	31,4	1,74	19,2	19,4	28,8	156,4	45,6	25,87	95
Mut Fro 19	91,8	67,2	3,8	29	1,62	18,8	18,6	29,9	155,6	44,4	25,71	94
Mut Que 20	104,9	75,6	3,9	29,2	1,92	16,0	15,4	31,8	146,0	76,8	23,94	91
Mut Que 21	97,75	73,0	3,9	33,0	1,82	16,25	15,75	33,62	178,5	77,25	23,61	86
Mut Que 22	98,2	71,4	4,2	36,8	1,88	15,4	14,6	33,9	209,6	63,0	22,6	86
Mut Que 23	90,0	65,4	3,7	32,9	1,9	15,6	15,0	32,7	174,4	57,8	23,7	82
Mut Que 24	98,4	72,2	4,2	36,0	1,92	17,4	17,0	35,12	197,2	68,0	21,79	84
Mut Que 25	97,0	69,4	4,0	36,2	1,9	17,0	16,2	34,0	187,2	67,8	22,09	83
Mut Fro 26	97,2	69,0	3,9	30,6	1,8	15,0	14,6	35,4	165,0	60,4	23,27	82
Mut Fro 27	92,6	66,6	3,7	28,2	1,56	22,6	19,4	29,76	138,6	42,2	25,45	92
Mut Fro 28	94,0	66,0	3,8	25,4	1,5	17,2	17,0	29,1	117,8	51,8	23,88	96
Mut Fro 29	93,8	66,6	3,7	26,4	1,52	18,0	18,8	29,7	125,6	43,8	24,54	96

**Anexo 2:** Continuação - Médias das cultivares testemunhas (BRS Querências e BRS Fronteira) e dos 59 mutantes para 12 caracteres agronômicos avaliados.

	AP	CC	EC	C FB	L FB	N PE	N PA	C PA	N G	N E E	P 1000	Ciclo
Mut Que 30	93,0	65,0	4,42	34,4	1,88	21,0	20,2	35,6	173,6	98,8	23,23	88
Mut Fro 31	93,2	66,4	4,07	31,4	1,54	21,8	16,4	30,2	186,2	38,6	26,32	92
Mut Fro 32	94,0	65,8	4,16	33,4	1,56	19,6	18,0	30,4	161,8	18,8	27,1	90
Mut Que 33	100,6	76,2	4,19	23,9	2,26	15,0	14,0	31,6	208,6	33,8	22,94	76
Mut Fro 34	87,8	63,2	3,94	31,5	1,58	15,2	14,8	31,1	178,6	26,6	26,96	87
Mut Fro 35	88,2	72,2	4,05	29,0	1,54	16,0	14,8	30,9	166,2	20,6	26,98	88
Mut Que 36	101,0	75,0	4,37	31,6	1,92	14,0	12,8	34,0	161,8	63,0	24,96	82
Mut Que 37	100,6	74,0	4,23	35,0	1,92	14,6	13,0	34,8	197,6	35,2	25,2	82
Mut Que 38	103,0	74,8	4,55	36,9	2,04	15,2	12,8	32,6	175,4	32,0	24,22	82
Mut Que 39	102,0	75,2	4,11	31,4	2,0	15,2	12,8	34,3	169,6	34,6	24,34	85
Mut Que 40	101,2	72,0	4,32	36,6	2,0	13,2	11,8	33,2	189,6	35,4	23,74	84
Mut Que 41	100,6	73,8	4,02	35,6	1,86	13,6	13,8	32,4	138,0	28,4	23,28	83
Mut Que 42	99,2	72,6	4,2	32,6	2,02	15,0	14,2	34,9	208,6	39,6	24,59	83
Mut Fro 43	95,8	70,4	3,85	29,6	1,5	20,0	17,4	30,5	149,6	27,0	26,63	92
Mut Que 44	88,0	67,0	3,83	31,1	1,9	11,6	10,4	30,8	152,6	26,4	25,82	86
Mut Que 45	99,0	74,8	4,16	32,2	2,04	16,2	17,0	32,6	170,4	28,8	24,23	78
Mut Que 46	104,4	75,7	4,28	32,8	2,02	16,6	14,0	34,0	210,6	25,8	23,77	80
Mut Que 47	104,0	75,8	4,32	34,2	2	18,2	16,0	33,9	193,0	26,6	25,11	82
Mut Que 48	101,0	76,2	4,22	32,8	2,02	15,8	14,0	34,5	213,2	37,2	25,75	87
Mut Fro 49	96,0	68,6	4,15	33,8	1,58	17,8	16,6	30,6	135,4	57,0	26,33	94
Mut Fro 50	89,2	66,6	3,53	27,2	1,66	20,4	17,8	30,0	151,4	24,2	27,56	95
Mut Fro 51	99,0	71,8	4,23	32,0	1,56	19,0	19,2	31,1	169,0	34,2	28,79	96
Mut Fro 52	97,4	72,6	4,2	30,4	1,52	17,0	15,6	30,9	165,4	20,2	26,73	91
Mut Fro 53	95,2	71,0	4,21	34,0	1,48	19,2	18,4	31,2	174,8	27,2	27,31	93
Mut Fro 54	95,2	70,2	4,19	32,6	1,56	20,8	19,2	30,7	146,6	32,2	27,37	94
Mut Que 55	101,0	74,4	4,09	32,6	1,92	17,8	16,2	33,3	169,4	44,8	25,0	78
Mut Fro 56	89,6	68,8	3,92	33,0	1,6	16,8	16,6	30,0	155,0	24,2	27,33	97
Mut Fro 57	84,4	65,2	3,76	30,1	1,58	18,2	17,8	29,5	151,2	29,6	27,1	97
Mut Fro 58	85,8	66,4	3,91	31,8	1,62	25,2	23,8	29,2	130,4	30,0	27,47	96
Mut Que 59	93,6	69,2	4,2	33,4	1,82	18,8	16,2	33,6	162,6	57,8	22,71	81