**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Tolerância ao frio em germoplasma exótico de arroz na fase
reprodutiva (*Oryza sativa* L.)**

Diane Simon Rozzetto

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Genética e Melhoramento de Plantas

**Piracicaba
2015**

Diane Simon Rozzetto
Engenheira Agrônoma

Tolerância ao frio em germoplasma exótico de arroz na fase reprodutiva (*Oryza sativa* L.)

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **JOSÉ BALDIN PINHEIRO**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Genética e Melhoramento de Plantas

Piracicaba
2015

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA - DIBD/ESALQ/USP**

Rozzetto, Diane Simon

Tolerância ao frio em germoplasma exótico de arroz na fase reprodutiva (*Oryza sativa* L.) / Diane Simon Rozzetto. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2015.
83 p. : il.

Dissertação (Mestrado) - - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2014.

1. *Oryza sativa* 2. Banco de germoplasma 3. Diversidade genética 4. Plasticidade fenotípica I. Título

CDD 633.18
R893t

"Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte – O autor"

DEDICO

Àos meus pais

Claudino Rozzetto e

Noemia Simon Rozzetto

AGRADECIMENTOS

À Deus pela vida, pelas oportunidades e por ter me ajudado até aqui. Ao Prof. Dr. José Baldin Pinheiro pela orientação, exemplo profissional e amizade. À Prof^a. Dr^a Maria Imaculada Zucchi pelo apoio, amizade e por sempre dizer: “calma, vai dar certo”. Aos Pesquisadores do Projeto Arroz Irrigado da EPAGRI, em especial ao Dr Rubens Marschalek a quem congratulo não apenas pela parceria, apoio e orientação mas por ter sido exemplo profissional e um dos grandes incentivadores à minha dedicação a pesquisa. Aos assistentes de pesquisa Samuel Batista dos Santos e Geovani Porto que não mediram esforços possibilitando excelência na condução dos experimentos, e mais do que isso, pela amizade e confiança. À toda a equipe de apoio do Projeto Arroz Aduari, Cláudio, Gildo, José, Márcio, Oziel, Valdemar, Valdecir, sem os quais o êxito deste trabalho não teria sido alcançado. Aos estagiários que auxiliaram nas avaliações, especialmente ao Eng^o Agrônomo Bernardo Pazini meu “braço direito”. À Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” e ao Departamento de Genética pelo ensino de qualidade. Aos colegas e amigos do Laboratório de Diversidade Genética pela convivência, amizade, troca de ideias. Especialmente a Fabiani da Rocha que a desde o início da graduação me incentivou sendo exemplo de determinação e perseverança. À Camila, Mônica, João Paulo e Vanessa pelas constantes ajudas nas análises, correções e críticas na elaboração da dissertação. Aos amigos Carmelice e Evandro por “estar aqui quando cheguei” e com quem sempre pude contar. Em especial aos meus pais a quem empenho grande honra, por me ensinarem o que é o amor e por terem sempre me proporcionado o seu melhor; ao meu irmão a quem muito admiro e a toda a minha família com quem sempre pude contar e que compreendeu minha ausência.

EPÍGRAFE

" *Será que a vida é um Clichê?*

Às vezes ficamos olhando os contatos do nosso celular, whatsapp ou facebook e procuramos alguém pra conversar, queremos ouvir um clichê. Queremos ouvir que "estamos indo atrás dos nossos sonhos", "tudo vai dar certo", ou que "isso também passa", que "dificuldades vêm e vão". Será que a vida é um clichê? Sorrisos, lágrimas, pensamentos, atitudes, entusiasmo, arrependimento, desculpas... Ouvir um clichê nos acalma.

Para chegar onde queremos temos que largar mão de algumas coisas. Talvez não definitivamente, mas temos que mudar prioridades. Nosso trabalho exige muito e como consequência, temos que ficar longe da nossa família, dos nossos amigos, dói, mas muitas vezes não temos opção. Perdemos casamentos, formaturas, aniversários e até alguns amigos. Escolhas. Não tem como abraçar o mundo - Bem que eu gostaria.

Mesmo com pessoas ao nosso lado a solidão é nossa companhia. É difícil lidar com as opiniões "dos outros", com a falta de compreensão de quem nem nos conhece, e mesmo assim conseguir continuar sendo simples e leves. É muita cobrança em cima de alguém tão normal como uma fruta da feira. Diante de críticas, propostas e opiniões, precisamos manter o que a gente acha certo - é coisa para poucos - espero um dia ter maturidade para isso. Trabalhar com o que se ama e concretizar sonhos de forma que nossos "ideais" permaneçam ali sorridentes e esperançosos, é uma conquista. Às vezes, depois de um dia exaustivo de aula e/ou trabalho, chegamos em casa e ficamos quietos, sozinhos. Para nos sentirmos menos sós, abrimos a janela só para ouvir os carros passarem... Não há solidão que não precise sucumbir a uma televisão, um rádio ligado ou a um barulho de rua com "gostinho" de abraço.

Criamos uma rotina, simplesmente para nos apaziguar e, assim, não convivemos com a própria "loucura". Rotina é isso: pensar pouco e agir muito. Pensar demais talvez seja procrastinar sonhos e realizações. Volta e meia - quando paramos para pensar pra onde estamos dirigindo - surgem dúvidas e questionamos se o caminho que estamos seguindo é realmente o certo. A gente sabe o mistério que é ser quem somos. Não tem como sermos inteiramente certos das escolhas, nem colocar as expectativas dos outros em uma caixa - sempre haverá um pouco de frustração. Espero um dia ler esse texto e saber que tudo que eu imaginei que iria conquistar foi concretizado. E se não acontecer, que eu não me arrependa das minhas escolhas. E também que eu sempre saiba admitir minhas fraquezas e lembrar que elas não poderão me dominar, mesmo assim, serão companheiras até o fim.

E que todos os dias eu não me importe apenas com o que estou fazendo e sim para quem estou fazendo.

"Porque dEle, por Ele, e para Ele, são todas as coisas" Romanos 11:36
Diane Simon Rozzetto.

SUMÁRIO

RESUMO.....	11
ABSTRACT	13
LISTA DE FIGURAS	15
LISTA DE TABELAS	17
1 INTRODUÇÃO	19
1.1 Objetivos	20
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	21
2.1 Importância econômica do arroz	21
2.2 Classificação botânica e origem	22
2.3 O arroz no Brasil	23
2.4 Desenvolvimento da planta	24
2.5 Exigências climáticas	24
2.6 Tolerância a baixas temperaturas	26
2.7 Base genética e fontes de variabilidade para tolerância ao frio	29
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Avaliação da tolerância ao frio dos acessos japoneses no período reprodutivo	33
3.1.1 Instalação e condução do experimento	33
3.1.2 Caracterização e avaliação dos acessos – Primeiro experimento	35
3.1.3 Caracterização e avaliação dos acessos – Segundo experimento	36
3.2 Análise dos dados	36
4 RESULTADOS	41
4.1 Primeiro experimento	41
4.2 Segundo experimento	49
5 DISCUSSÃO	55
5.1 Primeiro experimento	53
5.2 Segundo experimento	60
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	63
REFERÊNCIAS	65
ANEXOS	72

RESUMO

Tolerância ao frio em germoplasma exótico de arroz na fase reprodutiva

Os efeitos negativos da ocorrência de baixas temperaturas sobre o arroz são de difícil controle e manejo, por ser um fator imprevisível. Embora não seja uma tarefa fácil, em diversas regiões do mundo, já foram desenvolvidas cultivares com adequada tolerância ao frio. O caminho para o desenvolvimento de cultivares deve envolver, a adoção de várias estratégias para tornar o processo de melhoramento desse caráter ágil e preciso. O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética existente entre os acessos de arroz da subespécie *Japonica* do Banco de Germoplasma da ESALQ/USP e caracterizá-los a fim de identificar fontes de tolerância ao frio durante a fase reprodutiva. O trabalho foi conduzido em dois anos agrícolas sendo o primeiro experimento em 2013 e o segundo em 2014. No primeiro experimento, foi feita a identificação da diversidade genética por caracteres agromorfológicos e a avaliação do seu rendimento em condições de estresse por baixas temperaturas na fase reprodutiva. A divergência genética entre os acessos foi quantificada por meio de análises estatísticas multivariadas, sendo que foi utilizada a distância generalizada de Mahalanobis. O método de agrupamento utilizado foi o algoritmo de otimização de Tocher e foi feita análise de componentes principais para determinar as variáveis que mais contribuíram para a variabilidade dos acessos. No segundo experimento, os genótipos que apresentaram bom desempenho foram avaliados novamente a fim de identificar aqueles tolerantes ao frio na fase reprodutiva. Foi observada a presença de variabilidade genética para os caracteres avaliados. No primeiro experimento, os acessos japoneses apresentaram em média maior rendimento e massa de mil grãos e menor esterilidade quando comparados com as cultivares comerciais, indicando possível existência de fontes de tolerância ao frio na fase reprodutiva. Considerando simultaneamente as variáveis analisadas, de acordo com o algoritmo de otimização de Tocher, os acessos e cultivares foram reunidos em 37 grupos de similaridade. Os genótipos avaliados no segundo experimento apresentaram elevada esterilidade (próxima a 100%). No entanto, deve-se destacar que foram registradas temperaturas críticas baixas (inferiores a 15°C) ao longo de quase todo o ciclo, especialmente durante o período reprodutivo.

Palavras-chave: *Oryza sativa*; Banco de germoplasma; Diversidade genética; Plasticidade fenotípica; Japônica

ABSTRACT

Evaluation of cold tolerance for japonica rice germoplasm at the reproductive phase

Being an unpredictable factor, the negative effects of occurrence of low temperatures on rice are difficult to control and managed. Although it is not an easy task, in various regions of the world, cultivars have been developed with adequate cold tolerance. The path to the development of cultivars should involve the adoption of various strategies to make the process of improvement of this character more agile and precise. The objective of this study was to evaluate the genetic diversity among rice accessions of Japonica subspecies of the Germplasm Bank of ESALQ / USP and characterize them morphological in order to identify sources of cold tolerance during the reproductive phase. The work was conducted in two years with the first trial in 2013 and the second in 2014. In the first trial, the identification of the genetic diversity of agronomic characters and the evaluation of its performance under stress conditions by low temperatures in the reproductive phase. The genetic divergence among accessions was quantified by means of multivariate statistical analysis, using the Mahalanobis distance. The clustering method used was Tocher optimization algorithm and it was also performed made principal component analysis to determine the variables that contributed the most to the variability of accessions. In the second trial, the genotypes that performed better were evaluated again in order to identify those that were cold tolerant in the reproductive phase. It was observed the presence of genetic variability for all the characters. In the first trial, the Japanese accessions showed on average higher yield and thousand grain weight, and also less sterility compared to commercial cultivars, which may indicate the existence of cold tolerance sources in the reproductive phase. Considering the variables analyzed, according to the Tocher optimization algorithm, accessions and cultivars were divided into 37 groups of similarity. The genotypes used in the second test showed high sterility (close to 100%). However, it should be noted that low critical temperatures were recorded (below 15 ° C) over almost the entire cycle, especially during the breeding season.

Keywords: *Oryza sativa*; Germplasm bank; Genetic diversity; Phenotypic plasticity; Japonica

LISTA DE FIGURAS

- Figura 3.1 - a) Semeadura dos acessos em caixas de madeira contendo solo; b) Mudanças de arroz para transplante em campo 34
- Figura 3.2 - Visão do experimento conduzido no campo experimental do Projeto Arroz Irrigado da EPAGRI - Estação Experimental de Itajaí no primeiro experimento para caracterização agromorfológica de 192 acessos japoneses e 4 cultivares brasileiras de arroz 34
- Figura 3.3 - Visão do experimento conduzido no campo experimental do Projeto Arroz Irrigado da EPAGRI - Estação Experimental de Itajaí no segundo experimento para caracterização agromorfológica de 26 acessos japoneses e 4 cultivares brasileiras de arroz 35
- Figura 4.1 - Exemplo de contraste entre genótipos quanto ao ciclo e altura de planta; plantas em plena floração com amarelecimento de folhas - sintoma típico de incidência de frio 43
- Figura 4.2 - Representação gráfica dos componentes principais 1 e 2 em relação aos caracteres ciclo de planta (dias) - CIC; número de perfilhos por planta – NP; comprimento da folha bandeira (cm) – CFB; largura da folha bandeira (cm) – LFB; comprimento de panícula (cm) – CP; esterilidade (%) - EE; massa de mil grãos (g) – MMG; rendimento de grãos (kg.ha^{-1}) – REND; avaliados no primeiro experimento em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas 45
- Figura 4.3 - Dados gráficos referentes a temperatura ($^{\circ}\text{C}$) tomados da estação meteorológica de superfície automática do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia - alocado na Estação Experimental de Itajaí, durante o primeiro experimento 51
- Figura 4.4 - Dados gráficos referentes a Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) tomados da estação meteorológica de superfície automática do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia - alocado na Estação Experimental de Itajaí, durante o segundo experimento 52

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Temperaturas críticas mínima, máxima e ótima para o crescimento e desenvolvimento do arroz.....	25
Tabela 4.1 - Resumo da análise de variância, média geral e valores extremos para os caracteres ciclo de planta (dias) - CIC; número de perfilhos por planta – NP; comprimento da folha bandeira (cm) – CFB; largura da folha bandeira (cm) – LFB; comprimento de panícula (cm) – CP; esterilidade (%) EE; massa de mil grãos (g) – MMG; rendimento de grãos (kg.ha ⁻¹) – REND; avaliados no primeiro experimento em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas	42
Tabela 4.2 - Estimativa dos componentes da variância, coeficiente de determinação genética e acurácia para os nove caracteres avaliados em 192 acessos japoneses e 4 cultivares brasileiras de arroz no primeiro experimento	44
Tabela 4.3 - Autovalores de cada componente principal e variância acumulada em relação a variância total avaliados em a cada componente principal avaliados em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas no primeiro.....	44
Tabela 4.4 - Conjunto de autovetores associados aos caracteres e a cada componente principal avaliados no primeiro experimento em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas	46
Tabela 4.5 - Agrupamento determinado pelo algoritmo de otimização de Tocher considerando a Distância de Mahalanobis geradas por nove variáveis avaliadas em 192 acessos japoneses e 4 cultivares brasileiras de arroz no primeiro experimento	47
Tabela 4.6 - Resumo da análise de variância, média geral e valores extremos para os caracteres Esterilidade (%) EE e Massa de grãos (g) - MG, avaliados segundo experimento em 26 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas	48
Tabela 4.7 - Temperaturas médias obtidas por meio da estação meteorológica de superfície automática do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia - alocado na EPAGRI/Estação Experimental de Itajaí durante a condução dos experimentos com arroz nos anos 2013 e 2014.....	53

1 INTRODUÇÃO

O arroz (*Oryza sativa* L.) é um dos cereais de maior importância social e econômica no mundo, sendo considerado a base nutricional para grande parte da população visto que seu consumo médio gira em torno de 57 kg.habitante.ano⁻¹ (FAO, 2014). A cultura desempenha papel estratégico na solução de questões de segurança alimentar, além de apresentar potencial para o aumento da produção, podendo assim participar diretamente no combate à fome no mundo (BARATA, 2005). A estimativa para a safra 2014 é de uma produção de 714,9 e 479,4 milhões de toneladas a base de casca e beneficiado, respectivamente em uma área de 161,5 milhões de hectares. Espera-se que haja um incremento de 0,41% na produção e de 0,57% na área plantada para a próxima safra. Por outro lado, é esperado que o setor apresente uma redução de 0,16% no rendimento (UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - USDA, 2014).

A espécie *O. sativa* é uma planta de origem tropical, cultivada em diversas regiões do mundo, sob diferentes condições climáticas e sistemas de produção (ARTACHO; MEZA; ALCALDE, 2011). Fageria (2007) destaca a versatilidade desta cultura por possuir alta adaptabilidade a diversos tipos de ambiente podendo ser cultivada desde locais ao nível do mar até elevadas altitudes, em ambientes secos ou alagados. Sua ampla faixa de cultivo (que se estende desde a latitude 50° N até 40° S) abrange áreas tropicais, subtropicais e temperadas.

Devido à extensa área geográfica a qual a cultura normalmente é submetida, podem ocorrer temperaturas desfavoráveis ao seu desenvolvimento. A temperatura é um fator de natureza abiótica e de difícil previsão, de acordo com Yoshida (1981) a faixa ideal para o desenvolvimento do arroz gira em torno de 20 e 30 °C (Tabela 2.1). Temperaturas inferiores a estas podem ocasionar estresse e tem sido um dos fatores limitantes do rendimento e da qualidade de grãos de arroz. Os efeitos negativos de sua ocorrência são de difícil controle no manejo, assim, a tolerância genética das cultivares é extremamente importante para estabilizar o rendimento de grãos nas áreas sujeitas à ocorrência de frio (CRUZ, 2001).

O Departamento de Genética da ESALQ/USP possui um banco de germoplasma de arroz com cerca de 450 acessos, oriundos de diversas instituições de pesquisa tanto do Brasil quanto do exterior. De acordo com relatos feitos pelo Prof. Dr Akihiko Ando, cerca de 190 pertenciam ao Instituto de Arroz de Sequeiro do

Japão – atualmente extinto. É importante salientar que os genótipos do Japão são provenientes de regiões com latitude semelhante ao sul do Brasil, onde se concentra a maior parte da produção nacional e onde é comum a ocorrência de baixas temperaturas na época de cultivo. Estudos indicam que genótipos de várias regiões do Japão apresentam bom desempenho mesmo em condições de baixas temperaturas (TAKAHASHI, 1997).

1.1 Objetivos

O objetivo deste trabalho foi avaliar a diversidade genética existente entre os acessos de arroz da subespécie *Japonica* do Banco de Germoplasma da ESALQ/USP e caracterizá-los a fim de identificar fontes de tolerância ao frio entre esses acessos de arroz durante sua fase reprodutiva.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Importância econômica do arroz

O arroz apresenta grande importância para a nutrição humana, ficando em segundo lugar atrás apenas do trigo. Atualmente, é base alimentar em diversas regiões do mundo como na Ásia por exemplo. É importante destacar que a China é o maior produtor de arroz do mundo, no entanto não participa ativamente do mercado mundial uma vez que grande parte de sua produção é destinada para consumo interno. Desta forma a Tailândia é o principal exportador seguido da Índia que atualmente é o segundo maior produtor e exportador de arroz (FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE / UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE - FAS/USDA, 2014).

Na safra 2014, os países do Mercosul deverão produzir 16 milhões de toneladas, sendo o Brasil responsável por mais de 78% desta produção. É importante destacar que este é um dos produtos em que o governo brasileiro tem dado maior importância no que se refere a políticas agrícolas devido a sua relevância na segurança alimentar. Com relação ao consumo, o Brasil demanda cerca de 12 milhões de toneladas, este fato o caracteriza como o maior consumidor do Mercosul (COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO - CONAB, 2014).

O mercado brasileiro apresentou considerável crescimento nos últimos anos. Entre as safras de 1990/91 e 2012/13 houve um incremento de cerca de 21% devido ao aumento de produtividade do setor. O grande impulsionador para este crescimento nacional foi o Rio grande do Sul que aumentou 88% sua produção entre 1990/91 e 2012/13 e atualmente é responsável por dois terços de toda a produção do grão no país. O Brasil, está entre os dez principais produtores mundiais de arroz, com cerca de 11 milhões de toneladas para um consumo de 11,7 milhões de toneladas base casca. Essa produção é oriunda de dois sistemas de cultivo: irrigado e de sequeiro. O Brasil durante muitos anos foi exportador de arroz. Na década de 80 passou a importar pequenas quantidades (5% da demanda total) e, a partir de 1989/90, se tornou um dos principais importadores deste cereal, chegando a 2 milhões de toneladas, em 1997/98, quando atingiu, uma média superior a 10% da demanda interna. A lacuna entre a produção e o consumo anual de arroz irrigado, à partir da década de 90, passou a ser suprida, principalmente pelo Uruguai e Argentina, que responderam por cerca de 85 a 90% das importações

brasileiras. Esses dois países com produção de arroz do tipo agulhinha de alta qualidade, custos de produção menores, juros mais competitivos de financiamento, carga tributária mais branda, fretes e custos de comercialização inferiores aos do Brasil, além da proximidade geográfica e associados a uma taxa de câmbio favorável até o final de 1998, alavancaram rapidamente sua produção, com vistas ao mercado brasileiro. O Brasil atualmente encontra-se entre os dez maiores importadores, absorvendo cerca de 5% do volume das exportações mundiais. O consumo médio de arroz no Brasil varia de 74 a 76 Kg/habitante/ano, tomando-se por base o grão em casca. Atualmente, o consumo está estagnado, apenas acompanhando o crescimento populacional (CONAB, 2014).

2.2 Classificação botânica e origem

O gênero *Oryza* pertence a Tribo *Oryzeae*; subfamília *Oryzoideae* e Família *Poaceae*. Possui diversas espécies silvestres e duas espécies cultivadas sendo que a espécie *O. glaberrima* está presente em alguns países da África e a espécie *O. sativa*, é amplamente cultivada em todo o mundo. As subespécies de *O. sativa* são classificadas em *Indica* e *Japonica* (CHANG, 1976).

Estudos demonstram que este gênero surgiu há cerca de 130 milhões de anos na Gondwana que posteriormente se separou dando origem a África, Austrália, América, Ásia e Antártica. Diante disso explica-se o fato de haver espécies de arroz em todos os continentes exceto no continente antártico (KHUSH, 1997). É provável que sua domesticação tenha iniciado há pelo menos 9 mil anos e pode ter ocorrido de maneira independente em diversas regiões do mundo. O arroz foi cultivado primeiramente em solo seco, e o processo de alagamento e transplante de mudas foi iniciado na China tornando este cereal domesticado.

Segundo Oka e Morishima (1997) as hipóteses mais prováveis indicam que *i*) o arroz *Indica* deve ter se originado de uma espécie silvestre no sul da China e o arroz *Japonica* teria se originado a partir desta; ou *ii*) a origem da subespécie *Indica* está associada a espécies silvestres que ocorriam em áreas de várzea e a origem da subespécie *Japonica* a partir de espécies que ocorriam em áreas de solo seco.

Considerando a distribuição geográfica, os acessos de *Indica* são comumente conhecidos como arroz irrigado cultivados tipicamente na Ásia Tropical e os de *Japonica* são encontrados em regiões de clima temperado, em elevadas altitudes no sul e em áreas de sequeiro no sudoeste do continente asiático (GARRIS et al.,

2005). Deve-se destacar que estudos conduzidos por Garriss et al. (2005) com o uso de marcadores SSR confirmaram que a subespécie *Japonica*, encontrada em Java, é um tipo intermediário, geneticamente próximo a *Indica* e por isso é chamado *Javanica*.

A domesticação de *O. sativa* ocorreu por muitos séculos e este processo resultou em diversas variedades de arroz. Como consequência disso ocorreu mudança em características morfológicas e fisiológicas. A variação também ocorre com relação à tolerância a estresses bióticos, como doenças e insetos, e abióticos, como seca e frio. Segundo Khush (1997), estima-se que existam mais de 120 mil variedades armazenadas em bancos de germoplasma no mundo todo.

2.3 O arroz no Brasil

Evidências indicam que o arroz foi introduzido no Brasil pelos portugueses por volta de 1550. No início do século XX já havia um grande número de variedades cultivadas no país, algumas introduzidas, outras originadas aqui mesmo. Estas variedades que sofrem seleção e são adaptados para as condições ambientais brasileiras são chamadas tradicionais ou crioulas e serviriam no futuro como importantes fontes de genes para o melhoramento da cultura, visto que são fontes inestimáveis de variabilidade (PEREIRA, 2002).

No Brasil o programa de melhoramento de arroz iniciou em 1937 no Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) e logo em seguida foi criado o Instituto Rio-Grandense de Arroz (IRGA). Em 1974 foi implantado o Programa de Melhoramento de Arroz da Embrapa (FONSECA et al., 2005). Entre as décadas de 1970 e 1980, as cultivares tradicionais foram substituídas por outras desenvolvidas pelo International Rice Research Institute (IRRI) que introduziu outra de porte baixo adaptadas a áreas alagadas, o que proporcionou em um significativo aumento de produtividade (CASTRO et al., 1999). Em 1976 teve início o programa de melhoramento genético de arroz irrigado em Santa Catarina na Epagri – Estação Experimental de Itajaí (Empasc), havendo sido antecedida pelo IPEAS (MA) – Estação Experimental de Urussanga, em 1970. Desde então a Epagri, sucessora da Empasc, lançou 18 cultivares para cultivo em Santa Catarina, o que foi decisivo para elevar a produtividade no Estado. Estas cultivares são plantadas em cerca de 95% da área de arroz irrigado do Estado, tendo seu cultivo disperso também por outras regiões

orizícolas do país, alcançando inclusive outros países como Paraguai, Argentina, Bolívia e Venezuela (MARSCHALEK et al., 2008)

2.4 Desenvolvimento da planta

Não é correto relacionar o desenvolvimento da planta à sua idade cronológica uma vez que pode apresentar grande variação em função do genótipo e das condições edafoclimáticas a que ela foi submetida. Desta forma, é necessário identificar com precisão os estágios de desenvolvimento por meio do uso de escalas apropriadas. Assim, é possível entender melhor o desenvolvimento da planta e inferir sobre a melhor época para aplicação de práticas de manejo, fazer avaliações bem como as fases em que ocorrem condições meteorológicas adversas tais como baixas temperaturas que causam estresses a planta e podem comprometer seu rendimento ou qualidade (SOCIEDADE BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO - SOSBAI, 2012)

Diversas escalas fenológicas foram propostas para o arroz. Dentre elas, a mais utilizada é a proposta por Counce, Keisling e Mitchell (2000). Esta escala identifica os principais estágios de desenvolvimento da planta e divide seu ciclo de vida basicamente em três períodos: *i)* estágio de plântula; *ii)* estágio vegetativo e *iii)* estágio reprodutivo (Anexo A).

i) Estágio de plântula: Durante esta fase, o desenvolvimento e a emergência das plântulas podem ser limitados dentre outros fatores, pela temperatura que pode afetar o estande de plantas quando estiver abaixo do ideal.

ii) Estágio vegetativo: após o estabelecimento inicial, a planta de arroz começa a diferenciar sua estrutura foliar, formando uma folha em cada nó de forma alternada no colmo e começa a emitir perfilhos.

iii) Estágio reprodutivo: este período inicia quando o meristema apical se diferencia em primórdio floral e termina quando os grãos estão completamente formados e prontos para a colheita. Neste estágio ocorre a divisão das células-mãe do grão de pólen, este é um dos períodos mais críticos para o desenvolvimento da planta já que é muito dependente da temperatura. A ocorrência de estresse devido a baixas temperaturas (inferior a 17°C) pode comprometer o desenvolvimento do grão de pólen, e conseqüentemente a fecundação das flores (COUNCE; KEISLING; MITCHELL, 2000).

2.5 Exigências climáticas

Os níveis de produtividade de arroz na região Sul do Brasil estão entre os mais altos do país. No entanto, em alguns anos ocorreram decréscimos na produtividade devido a condições meteorológicas adversas. A ocorrência de baixas temperaturas e disponibilidade de radiação solar durante as fases críticas da planta são fatores que estão muito relacionados a essa queda de produtividade.

A temperatura é um dos elementos climáticos de maior importância para o crescimento e rendimento do arroz. A Tabela 2.1 apresenta as temperaturas críticas mínima, máxima e ótima para o crescimento e desenvolvimento do arroz sendo que cada fase fenológica tem as suas temperaturas críticas (YOSHYDA, 1981).

Tabela 2.1 - Temperaturas críticas mínima, máxima e ótima para o crescimento e desenvolvimento do arroz

Fases de desenvolvimento	Temperatura crítica (C°) ¹		
	Mínima	Máxima	Ótima
Germinação	10	45	20-35
Emergência estabelecimento	12-13	35	25-30
Desenvolvimento da raiz	16	35	25-28
Alongamento da folha	7-12	45	31
Perfilhamento	9-16	33	25-31
Diferenciação do primórdio floral	15	35	25-30
Emergência da panícula	15-20	38	25-28
Antese	22	35	30-33
Maturação	12-18	30	20-25

¹ Refere-se a temperatura média diária do ar, com exceção da fase de germinação
Fonte: Yoshida (1981)

O arroz não tolera temperaturas muito altas nem muito baixas, entretanto a sensibilidade varia em função da fase fenológica. A planta de arroz é mais sensível a baixas temperaturas na fase de prefloração, mais especificamente na microsporogênese (estágio R2 da escala de Counce, Keisling e Mitchell (2000)). A segunda fase mais sensível é a floração (antese - estágio R4 da escala de Counce, Keisling e Mitchell, 2000). Os genótipos respondem diferentemente em relação a tolerância ao frio, a faixa crítica para induzir esterilidade é 15 a 17°C para genótipos

tolerantes e 17 a 19°C para os sensíveis, sendo que em geral, os da subespécie *Japonica* são mais tolerantes que a subespécie *Indica*. É importante destacar que a ocorrência de altas temperaturas (superiores a 35°C) também podem levar a esterilidade de espiguetas e a fase mais sensível para este acontecimento é a floração. Outro elemento que exerce papel fundamental é a temperatura do solo nas fases iniciais da cultura especialmente na germinação e emergência. A temperatura ideal é 20 a 35 °C e as temperaturas críticas mínima e máxima são 10 e 45°C respectivamente (YOSHIDA, 1981).

2.6 Tolerância a baixas temperaturas

Um dos problemas para a cultura do arroz é a ocorrência de temperaturas baixas em diversos países produtores (CASTILLO; ALVARADO, 2002) bem como no Sul do Brasil (CRUZ; MILACH, 2000). Cultivares modernas da subespécie *Indica*, são sensíveis ao frio, muitas vezes tem seu desempenho prejudicado. Devido a isso a maioria das cultivares utilizadas em regiões de clima temperado pertence à subespécie *Japonica* (MACKILL; LEI, 1997).

A Região Sul do Brasil, principal produtora brasileira de arroz, apesar de apresentar elevados índices médios de produtividade (acima de 5 t.ha⁻¹), sofre grande variação ao longo dos anos, isto se deve especialmente as condições climáticas. A ocorrência de baixas temperaturas durante as fases críticas de desenvolvimento está relacionada a oscilações na produtividade (STEINMETZ et al., 2005). Se o estresse ocorrer na fase de implantação da cultura, falhas no estande podem ser observadas. Se a incidência de frio ocorrer mais tarde, na fase reprodutiva, pode provocar esterilidade prejudicando o rendimento. Sendo assim, a utilização de cultivares tolerantes a baixas temperaturas poderia contornar o problema (TORRES TORO, 2006). O ponto de partida para o desenvolvimento de cultivares tolerantes para essa região está no uso de ferramentas disponíveis para conhecimento e identificação de fontes de tolerância no germoplasma existente (CRUZ; MILACH, 2000).

Em diversos países a incidência de baixas temperaturas vem sendo estudada há tempo no cultivo do arroz. O IRRI conduz experimentos em parceria com institutos do mundo todo no intuito de encontrar genótipos com tolerância ao frio. Estratégias de seleção vem sendo desenvolvidas pelos programas de melhoramento

tanto no desenvolvimento de cultivares adaptadas para esses locais, quanto para a avaliação de bancos de germoplasma (KANEDA; BEACHELL, 1972). Entre os principais países que desenvolvem estes estudos, Yoshida (1981) destaca a Austrália, a China, a Colômbia, o Nepal e os Estados Unidos. No Japão podem ocorrer temperaturas próximas a zero na semeadura e negativas na colheita. A intensidade e duração do estresse bem como o estágio de desenvolvimento em que as plantas são afetadas pelo frio variam entre os países. Este fato torna o melhoramento para esta característica dependente de cada situação específica. Embora a incidência de frio no Brasil não seja tão severa, a região Sul responsável pela maior parte da produção nacional do grão, sofre com a ocorrência de temperaturas entre 10 e 18° C durante o cultivo, podendo causar prejuízos de até 25% (CRUZ; MILACH, 2000). Devido a isso, é necessário o desenvolvimento de estratégias de seleção e variedades adaptadas para estas condições.

Diversos fatores estão relacionados com o dano provocado devido à incidência de frio, além da duração e intensidade do referido estresse, o manejo da cultura, a cultivar utilizada (SOUZA, 1990), o nível nutricional das plantas (OKABE; TORIYAMA, 1972) e principalmente o estágio de desenvolvimento em que as elas se encontram. De maneira geral a planta de arroz é sensível a baixas temperaturas durante todo o seu ciclo de desenvolvimento. No entanto, alguns estágios são mais críticos, entre eles destacamos a germinação e o desenvolvimento inicial das plântulas e o reprodutivo (microsporogênese e antese) (YOSHIDA, 1981).

Durante o período de germinação, os sintomas de dano mais observados são o atraso e consequente diminuição na porcentagem de germinação. Já no estágio de plântula, pode ocorrer atraso no desenvolvimento, redução na estatura e amarelecimento das folhas (BOSETTI, 2012).

Durante a fase de desenvolvimento reprodutivo, as consequências são exposição incompleta da panícula, esterilidade e manchas nas espiguetas (SOUZA, 1990). Há indícios de que a esterilidade ocorre pela inviabilidade de pólen devido a ocorrência de frio durante a formação da célula mãe do grão de pólen (microsporogênese – sendo este apontado como o período mais crítico (YOSHIDA, 1981; MACKILL et al., 1996) ou devido à ocorrência de frio no período do florescimento (antese) prejudicando a deiscência das anteras e crescimento do tubo polínico, resultando assim na baixa fecundação de espiguetas (SOUZA, 1990).

A seleção de plantas para a resistência ao frio em campo é uma tarefa difícil. Por ser um fator de natureza abiótica é difícil prever quando irá ocorrer e qual será a intensidade e duração. Além do mais, é difícil isolar o efeito da temperatura de outros efeitos e quando o frio ocorre, o grau de dano observado em um genótipo depende do estágio de desenvolvimento em que ele se encontra no momento da ocorrência do estresse. Este fato torna imprecisa a seleção simultânea de vários genótipos em campo (CRUZ; MILACH, 2000). Mesmo assim, Shinada et al. (2013) tem usado a seleção fenotípica em campo.

Em cada estágio de desenvolvimento, são utilizados diferentes níveis de estresse e diferentes caracteres para avaliar a tolerância ao frio. A escolha do estágio de desenvolvimento no qual testar a tolerância depende de quando ocorre o problema do frio na região de cultivo para a qual o programa de melhoramento está voltado.

A dificuldade de seleção para esta característica em campo levou a necessidade de se utilizar condições climáticas controladas, possibilitando exercer maior controle sobre a intensidade e duração de baixas temperaturas. Por exemplo, na microsporogênese, a tolerância ao frio pode ser medida por meio da porcentagem de fertilidade ou espiguetas estéreis. As temperaturas utilizadas nos testes variam de 15 a 20°C por três a cinco dias (KHAN; MACKILL; VERGARA, 1986; KAW, 1991; ROZZETTO et al., 2013).

Embora seja um fator de difícil controle principalmente quando se deseja avaliar tolerância ao frio no período reprodutivo, uma alternativa é realizar semeadura tardia dos genótipos, no intuito de coincidir o estágio de microsporogênese com a época mais provável de ocorrência de frio. A exemplo do que vem sendo feito pela Epagri desde 2007/08. A Epagri iniciou atividades relacionadas a este carácter na safra 2007/08, sendo que nos últimos anos, experimentos foram conduzidos em nível de laboratório, câmara fria, e também ensaios de campo. Foram conduzidos, anualmente, experimentos, tanto nas condições extremas do outono inverno de Itajaí, quanto semeadura em época de plantio normal (primavera), em áreas de elevada altitude. Em todos eles se confirma a existência de variabilidade para tolerância a temperaturas baixas. Testes semelhantes, em nível de campo, tem sido conduzidos na província de Yunnan (China), e são considerados essenciais devido à existência de condições confiáveis de seleção para tolerância ao frio em sítios de elevada altitude, que são úteis para

testar extensivamente grandes populações. Ao longo dos últimos anos a Epagri selecionou materiais promissores, tendo como objetivo verificar o comportamento produtivo de genótipos sob condições de cultivo em região de elevada altitude, com temperatura média mais baixa, e risco de frio na fase reprodutiva (MARSCHALEK et al., 2013).

Da mesma forma, Schmidt (2009) conduziu experimentos em campo durante o período de outono-inverno, a fim de caracterizar fenotipicamente genótipos que possivelmente apresentem tolerância a baixas temperaturas. E, por meio destes experimentos avaliou a viabilidade de pólen e a produtividade de linhagens oriundas de população RIL Chorinho x Amaro (sendo que Chorinho apresenta suscetibilidade e Amaro tolerância ao frio).

É importante considerar que não há garantia de que a temperatura ocorrerá na intensidade e duração suficiente para se fazer uma seleção precisa dos genótipos. Além do mais as diferenças de ciclo que existem entre diferentes genótipos pode tornar esta prática inviável (BLUM, 1988).

2.7 Base genética e fontes de variabilidade para tolerância ao frio

Estudos realizados anteriormente compararam várias cultivares de arroz pertencentes às subespécies *Indica* e *Japonica*, quanto à tolerância ao frio, durante os estágios de desenvolvimento vegetativo e reprodutivo. Os resultados demonstraram que a tolerância ao frio foi maior no grupo *Japonica* que no grupo *Indica* (LI; VISPERAS; VERGARA, 1981; SHAHI; KHUSH, 1986). A partir destes resultados, pode-se inferir que existe fonte de variabilidade genética para tolerância ao frio e que estas podem ser utilizadas para transferir o caráter para cultivares sensíveis ou para introdução direta (SRINIVASULU; VERGARA, 1988). A primeira alternativa parece ser mais adequada já que a segunda alternativa depende da adaptação do genótipo ao ambiente e principalmente da aceitabilidade fenotípica de características como tipo e qualidade de grão do genótipo.

A genética da tolerância ao frio em arroz tem sido estudada separadamente em cada estágio de desenvolvimento da planta. Isto se deve ao fato de que foram observadas grandes variações quanto à tolerância nesses estágios. Desta forma pode-se inferir que a herança para esse caráter tem controle poligênico.

Conforme observado em diversos estudos, a herança da tolerância ao frio em arroz apesar de ser controlada por vários genes, possui herdabilidade alta (STHAPIT; WITCOMBE, 1998; KAW, 1991; KHAN; MACKILL; VERGARA, 1986). Esses resultados indicam que os caracteres de tolerância avaliados são de fácil seleção e incorporação nos genótipos adaptados, no entanto muitas dificuldades ainda existem. Estudos demonstram que a tolerância ao frio em arroz nos estágios vegetativo e reprodutivo é governada por fatores genéticos diferentes e que atuam em direções opostas (KAW; KHUSH, 1986; SHAHI; KHUSH, 1986) resultando em um genótipo tolerante ao frio em determinado estágio e sensível em outro. Isso ocorre provavelmente pelo fato de diferentes genes de tolerância e mecanismos fisiológicos estarem envolvidos em cada estágio. Esta falta de correlação entre um estágio e outro torna o melhoramento para essa característica bastante complicado quando o objetivo é incorporar tolerância em vários estágios (DATTA; SIDDIQ, 1983), se este for o caso, a seleção deverá ser realizada separadamente em cada um deles.

Apesar de não ser uma tarefa fácil, já foram obtidas variedades tolerantes em locais onde o problema é mais sério. O ponto de partida para isso foi o uso de ferramentas disponíveis para o conhecimento do germoplasma existente nos programas de melhoramento. A existência de variabilidade é essencial para que avanços no melhoramento de arroz para tolerância ao frio no sul do Brasil sejam obtidos, sendo a caracterização de acessos um ponto importante. Uma vez identificados genótipos com tolerância, esses podem ser introduzidos ou usados em hibridações.

Levando em conta a estagnação dos patamares de produtividade e a necessidade de se incorporar novas combinações alélicas às linhagens-elite, deve ser destacada a importância da manutenção de bancos de germoplasma. Estes são a fonte de genes para incremento da produtividade agrícola, além do mais preservam a diversidade das espécies cultivadas (TANKSLEY; MCCOUCH, 1997). Entre as espécies comerciais o arroz possui uma das maiores coleções de germoplasma. A maior diversidade genética de arroz é mantida nos bancos de germoplasma no IRRI, localizado nas Filipinas, com 80.617 acessos, e no WARDA (West África Rice Development Association) em Bouaké, Cote d'Ivoire, com 14.917 acessos. No Brasil, o maior banco de germoplasma é mantido na Embrapa – CENARGEN em Brasília, DF, com 4.000 acessos, sendo que, rotineiramente, é feito

a caracterização morfológica e molecular (FERREIRA, 2006). Essa acessível coleção de germoplasma pode proporcionar ganhos genéticos para a cultura com significativas contribuições para o melhoramento (NI; COLOWIT; MACKILL, 2002).

O uso desses recursos é uma importante estratégia para incorporação de variabilidade genética nos programas de melhoramento podendo gerar novas cultivares e ampliar a base genética permitindo novas combinações alélicas (MCCOUCH, 2005). A caracterização e discriminação dos acessos de um banco de germoplasma, é de grande importância para determinar a variabilidade genética existente nos acessos e para fornecer informações para a escolha de genótipos como genitores dos programas de pré-melhoramento e melhoramento. Para isso o emprego de caracteres agromorfológicos associados a técnicas multivariadas tem sido amplamente utilizadas a fim de quantificar as distâncias existentes entre os genótipos (MARCHIORO et al., 2003). Neste contexto, os estudos de dissimilaridade proporcionam informações a respeito das diferenças e semelhanças entre genótipos. O uso de métodos que agrupem os genótipos pode ser uma alternativa para análise e interpretação dos dados (CRUZ; CARNEIRO, 2006).

3 MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi dividido basicamente em dois experimentos. Primeiramente foi feita a identificação da diversidade genética por caracteres agromorfológicos no germoplasma de arroz da subespécie *Japonica*, bem como a avaliação do seu rendimento em condições de estresse por baixas temperaturas na fase reprodutiva. No segundo experimento, os genótipos que apresentaram bom desempenho foram avaliados novamente a fim de confirmar sua possível tolerância ao frio na fase reprodutiva.

3.1 Avaliação da tolerância ao frio dos acessos japoneses no período reprodutivo

3.1.1 Instalação e condução do experimento

O experimento para avaliação e caracterização dos acessos japoneses de arroz do banco de germoplasma da ESALQ/USP foi conduzido na Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina/Estação Experimental de Itajaí (EPAGRI/EEI), localizada no município de Itajaí/SC. As semeaduras foram realizadas nos meses de fevereiro e transplante das mudas em março, de modo que a fase reprodutiva da cultura coincidissem com o período de ocorrência de baixas temperaturas na região Sul do país.

A semeadura foi feita em caixas de madeira contendo solo (Figura 3.1a). Quando as plântulas estavam com 3-4 folhas estas foram transplantadas a campo (Figura 3.2b).

No primeiro experimento foram avaliados os 192 acessos japoneses do banco de germoplasma da ESALQ/USP. As parcelas foram de 2 linhas com 1,5 m de comprimento e espaçamento de 0,5 m entre linhas. O delineamento experimental utilizado foi em Alpha Látice com 6 blocos e 3 repetições.

Figura 3.1 – a) Semeadura dos acessos em caixas de madeira contendo solo; b) Mudras de arroz para transplante em campo

Os tratos culturais e fitossanitários foram realizados de acordo com as recomendações técnicas para a cultura (SOCIEDADE SUL BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO - SOSBAI, 2012). Foram realizadas aplicações de fungicida periodicamente ao longo do ciclo, de modo a prevenir a incidência de qualquer doença fúngica, já que os sintomas dessa podem ser confundir a clorose tipicamente causada por frio. A figura 3.2 apresenta uma visão do experimento conduzido no campo experimental do Projeto Arroz Irrigado da EPAGRI/EEI.

Figura 3.2 – Visão do experimento conduzido no campo experimental do Projeto Arroz Irrigado da EPAGRI - Estação Experimental de Itajaí no primeiro experimento para caracterização agromorfológica de 192 acessos japoneses e 4 cultivares brasileiras de arroz, no ano de 2013

No segundo experimento o número de acessos utilizados foi reduzido onde foram avaliados 26 acessos que se mostraram promissores no experimento anterior ou seja que tiveram bom desempenho para a tolerância ao frio (Figura 3.3). O

delineamento utilizado foi de blocos aleatorizados com 4 repetições. Sendo que as parcelas foram compostas de duas linhas de 2 metros de comprimento espaçadas em 0,5 m entre si.

Figura 3.3 – Visão do experimento conduzido no campo experimental do Projeto Arroz Irrigado da EPAGRI - Estação Experimental de Itajaí no segundo experimento para caracterização agromorfológica de 26 acessos japoneses e 4 cultivares brasileiras de arroz no ano de 2014

3.1.2 Caracterização e avaliação dos acessos – Primeiro experimento

A caracterização e avaliação dos acessos foi feita de acordo com alguns descritores indicados pelo IBPGR-IRRI Rice Advisory Committee (1980), alterados por Fonseca; Rangel e Prabhu, (1981) e por Fonseca e Bedendo (1984).

Os descritores utilizados foram os seguintes:

a) Em nível de parcela:

- Número de dias para o florescimento (NDF) - número de dias ocorridos da semeadura até quando 50% das panículas estão floridas;
- Ciclo total da planta (CIC) – compreende o período entre a germinação e a maturação completa, quando 85-90% das espiguetas estão maduras. Isso permite classificar o genótipo em um dos grupos de maturação precoce (até 105 dias), semi-precoce (de 106 a 120 dias), médio (de 121 a 135 dias), semi-tardio (de 136 a 150 dias) e tardio (acima de 150 dias);
- Massa de mil grãos (MMG) - determinada em balança de precisão em gramas. É a média de cinco amostras de 1000 grãos com umidade de 13%;

- Rendimento de grãos (REND) – determinada pela pesagem dos grãos colhidos na parcela útil, após limpeza e secagem uniforme, com umidade corrigida para 13%, em kg.ha⁻¹.

b) Em uma amostra de 5 plantas por parcela útil:

- Altura do colmo da planta (AP) - dada pela medida em centímetros do colmo desde o solo até a inserção da panícula realizada logo após a floração;
- Número de perfilhos (NP) – obtido em contagem realizada após a floração;
- Comprimento da folha bandeira (CFB) - refere-se à medida do limbo foliar, em centímetros, da lígula ao ápice da folha bandeira, realizada após a floração;
- Largura da folha bandeira (LFB) – medida, em centímetros, da região de maior largura do limbo da folha bandeira, realizada após a floração;
- Comprimento da panícula (CP) - medida em centímetros da inserção da panícula no colmo até a inserção da última espiguetas, realizada após a colheita;
- Número de Grãos (NG) - obtido pela contagem do número total de grãos por panícula;
- Número de grãos cheios (NGC) - contagem de grãos cheios por panícula;
- Número de Grãos vazios (NGV) - contagem de grãos vazios por panícula;
- Esterilidade (EE) - percentagem de grãos vazios em relação ao total de grãos na panícula.

3.1.3 Caracterização e avaliação dos acessos – Segundo experimento

Os genótipos que apresentaram desempenho promissor na safra anterior (primeiro experimento) foram avaliados novamente em nível de parcela no segundo experimento, quanto à esterilidade e massa de grãos.

3.2 Análise dos dados

Os dados obtidos nos dois experimentos foram submetidos a análise de variância separadamente, para por meio do PROC GLM do programa de análises estatísticas SAS 9.3 (SAS INSTITUTE, 2012). Os seguintes parâmetros foram estimados: variância fenotípica (σ_p^2), variância ambiental (σ_e^2), variância genética (σ_g^2), herdabilidade (h^2) e acurácia.

Análises multivariadas

A divergência genética entre os acessos foi quantificada por meio de análises estatísticas multivariadas, sendo que foi utilizada a distância generalizada de Mahalanobis e método de agrupamento de Tocher, citado por Rao (1952). Para determinação das variáveis que mais contribuem para a variabilidade dos acessos procedeu-se a análise de componentes principais.

Matrizes de distância

As médias ajustadas de cada acesso em relação aos caracteres estudados e a matriz de dispersão obtidas por meio do procedimento de análise de variância foram utilizadas para o cálculo da distância generalizada de Mahalanobis. As distâncias de Mahalanobis foram estimadas utilizando a seguinte expressão (eq. 1):

$$\hat{D}_{ii'}^2 = \sum_j (Z_{ij} - Z_{i'j})^2 \quad (1)$$

Onde:

$\hat{D}_{ii'}$: é a distância generalizada de Mahalanobis entre os genótipos i e i' ;

$Z_{ij} - Z_{i'j}$: é a diferença entre os genótipos i e i' em relação a j -ésima variável;

e,

Z_{ij} : é a variável transformada padronizada (não correlacionada) ou seja, a média do i -ésimo genótipo em relação à j -ésima variável com variância igual a 1.

Foi construída a matriz de dissimilaridade a partir das distância obtidas entre os pares de genótipos, para o primeiro experimento a fim de analisar a divergência entre os acessos.

Análise de agrupamento

Os acessos foram agrupados pelo algoritmo de otimização de Tocher, para isso é identificado um par de genótipos mais similares na matriz de dissimilaridade para formar o grupo inicial. A partir deste par, são incluídos outros genótipos no grupo sendo adotado o critério de que a média da medida de dissimilaridade dentro de cada grupo deve ser menor que as distâncias médias entre quaisquer grupos. É importante salientar que o acréscimo de um genótipo em um grupo sempre aumenta o valor médio da distância dentro do grupo. Desta forma pode-se dizer que o

genótipo é incluído em determinado grupo através da comparação entre o acréscimo no valor médio da distância dentro do grupo e um nível máximo permitido, que será o valor máximo da medida de dissimilaridade, encontrado no conjunto das menores distâncias envolvendo cada genótipo.

Análise de componentes principais

A análise de componentes principais (PCA do inglês *Principal Components Analysis*), segundo Resende (2007) consiste em uma técnica de transformação linear para redução da dimensionalidade em conjunto de dados multivariados. É amplamente utilizada na área experimental para o descarte de variáveis redundantes, dispersão gráfica entre outros. Componentes principais de um conjunto de variáveis constituem novas variáveis com as seguintes propriedades: *i)* são funções lineares das variáveis originais; *ii)* são não correlacionadas umas com as outras; *iii)* explicam sucessivamente o máximo da variação original. A partir da decomposição da matriz de covariância os componentes principais são dados por $PC_i = v_i y$, em que y é vetor das variáveis originais, v_i é o autovetor i associado ao autovalor λ_i , com $v_i' v_i = 1$. Assim, os pesos das variáveis em cada componente principal é dado pelos elementos do autovetor correspondente e o somatório do quadrado desses pesos para um componente principal equivale a 1. A variância de cada PC é dada pelo correspondente autovalor.

Ordenando os autovalores em ordem decrescente, tem-se que o primeiro PC associado ao primeiro autovalor ordenado e respectivo autovetor explica a maior parte da variação total, seguido pelo segundo e assim sucessivamente. Para um determinado número de termos ou componentes, $m < v$, grande parte da variação total é explicada por um pequeno número das novas variáveis. PC's com autovalores próximos a zero não contribuem com informação adicional àquela já retida nos primeiros componentes principais e podem ser descartados sem perda de informação, e a dimensionalidade dos dados é reduzida.

Para proceder a análise de componentes principais é empregada a seguinte sequência de cálculos. *i)* obtenção das matrizes de médias e correlações; *ii)* cálculo dos autovalores e autovetores; *iii)* cálculo da proporção acumulada da variação total explicada pelos componentes principais e respectivos autovalores; *iv)* determinação dos escores dos componentes principais associados a todos os indivíduos da análise; *v)* cálculo das correlações entre as variáveis e os componentes principais;

vi) dispersão gráfica dos escores associados aos 2 ou 3 primeiros componentes principais (RESENDE, 2007). A análises de para obtenção dos componentes principais foram feitas utilizando o software JMP (SAS INSTITUTE, 2012).

4 RESULTADOS

4.1 Primeiro experimento

Estatísticas descritivas, análise de variância e estimativas de parâmetros genéticos

Na Tabela 4.1 tem-se um resumo da análise de variância, a média geral e valores extremos para os caracteres avaliados no primeiro experimento nos 192 acessos e as médias das quatro cultivares utilizadas como testemunhas. Houve diferença significativa a 5% de significância pelo teste F para todas as características, exceto comprimento de panícula. Indicando que existe variabilidade genética entre os genótipos para os caracteres avaliados.

Tabela 4.1 - Resumo da análise de variância, média geral e valores extremos para os caracteres ciclo de planta (dias) - CIC; número de perfilhos por planta – NP; comprimento da folha bandeira (cm) – CFB; largura da folha bandeira (cm) – LFB; comprimento de panícula (cm) – CP; esterilidade (%) EE; massa de mil grãos (g) – MMG; rendimento de grãos (kg.ha⁻¹) - REND, avaliados no primeiro experimento em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas

Causas variação	CIC		NP		AP		CFB		LFB		CP		EE		MMG		REND	
	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM
Acesso	183	87,9*	195	26,6*	195	1428,7*	195	59,8*	195	0,16*	193	21,72 ^{NS}	183	344,7*	183	192,7*	192	1310515*
Bloco(rep)	15	20,2*	15	30,6*	15	906,4*	15	31,3*	15	0,10*	15	124,8*	15	44,8 ^{NS}	15	158,9*	15	2629385*
Repetição	2	273,1*	2	120,3*	2	588,4*	2	81,5*	2	0,05*	2	32,6*	2	1434,2*	2	254,0*	2	4581548*
Erro	352	16,8	425	4,5	425	770,7	424	13,9	424	0,06	407	32,1	355	1508,9	354	254,9	400	4702110
	552		647		637		636		636		617		555		554		609	
R ²		0,75		0,75		0,47		0,68		0,55		0,42		0,91		0,42		0,86
C.V. **		3,41		13,91		24,10		13,50		15,73		22,76		20,07		45,84		28,33
Mín acesso		107,06		9,57		83,51		20,18		1,29		13,13		11,50		19,63		0,00
Máx acesso		129,19		29,43		197,79		48,42		3,53		42,02		99,91		41,96		4865,71
Méd acesso		120,20		15,30		115,10		27,70		1,60		21,20		44,40		30,70		2177,40
Chorinho		126,82		14,03		122,99		34,11		1,70		20,58		94,72		23,52		227,74
IAC165		128,23		15,09		123,01		29,09		1,65		19,67		82,89		26,14		360,60
IAC25		114,94		11,70		129,43		28,23		1,61		21,75		36,66		33,75		2708,03
Irga417		119,61		20,64		76,71		28,04		1,31		21,95		85,19		22,21		844,95
Média(test)		122,40		15,36		113,03		29,87		1,57		20,99		74,86		26,40		1035,33

*significativo a 5% pelo teste F; ^{NS}: não significativo

**Coeficiente de variação

Os acessos japoneses quando comparados com as cultivares comerciais no primeiro experimento apresentaram em média maior rendimento (2177,44 e 1035,33 kg.ha⁻¹ para acessos e testemunhas respectivamente), massa de mil grãos (30,7 e 26,4 g) e menor esterilidade. A esterilidade observada foi de 74,8% para as cultivares e 44,4% para os acessos. Para as demais características agromorfológicas avaliadas as diferenças médias entre acessos e testemunhas foram de menor magnitude embora sejam nítidos os contrastes existentes entre os genótipos avaliados indicando grande variabilidade genética (Figura 4.1).

Figura 4.1 – a) Plantas em plena floração com amarelecimento de folhas - sintoma típico de incidência de frio; b) Exemplo de contraste entre genótipos quanto ao ciclo e altura de planta

Na Tabela 4.2 estão contidas as estimativas da variância fenotípica (σ_p^2), variância ambiental (σ_e^2), variância genotípica (σ_g^2), herdabilidade (h^2) e acurácia para os caracteres avaliados no primeiro experimento. A estimativa de h^2 variou entre 0,11 e 0,83, sendo que foi maior para os caracteres rendimento de grãos (0,75) e esterilidade (0,83), e menores para massa de mil grãos e comprimento de panícula (ambos com 0,11).

Tabela 4.2 - Estimativa dos componentes da variância, coeficiente de determinação genética e acurácia para os nove caracteres avaliados em 192 acessos japoneses e quatro cultivares brasileiras de arroz no primeiro experimento, 2013

Característica	σ_F^2	σ_e^2	σ_g^2	h^2	Acurácia
Ciclo de planta	43,67	18,46	25,22	0,58	0,76
Número de perfilhos	12,39	5,96	6,44	0,52	0,72
Altura da planta	965,21	765,01	200,20	0,21	0,46
Comprimento da folha					
bandeira	29,83	14,96	14,87	0,50	0,71
Largura da folha					
bandeira	0,10	0,07	0,03	0,32	0,57
Comprimento da					
panícula	26,91	23,90	3,01	0,11	0,33
Esterilidade	539,76	90,57	449,19	0,83	0,91
Massa de mil grãos	218,66	194,06	24,61	0,11	0,34
Rendimento de grãos	1720788	423378	1297410	0,75	0,87

Os demais caracteres como largura e comprimento de folha bandeira bem como o ciclo e número de perfilhos por planta, apresentaram média a baixa h^2 , (0,32; 0,21; 0,58 e 0,52 respectivamente).

De modo geral os valores apresentados indicaram elevada acurácia para os caracteres. Este fato demonstra que existe grande correlação entre os valores estimados para a maioria deles.

Análise de componentes principais

Na Figura 4.2, observa-se as correlações entre os caracteres estudados com base na análise de componentes principais. Neste gráfico estão representadas as projeções das nove variáveis avaliadas e bem como seu círculo de correlações. A qualidade de representação de uma variável pode ser avaliada diretamente traçando-se um círculo unitário e variáveis posicionadas próximas ao plano projetam-se junto a circunferência. Assim pode-se dizer que as variáveis REND, EE, CFB e NP estão bem representadas nesse plano, pois encontram-se próximas da circunferência unitária. CFB, EE e CIC estão fortemente correlacionadas entre si, sendo assim, pode-se dizer que por estar diretamente relacionado ao desenvolvimento vegetativo, quanto maior o ciclo maior será o crescimento foliar, resultando num maior comprimento de folha bandeira. Da mesma forma quanto maior o ciclo maior a chance de coincidir com a ocorrência de baixas temperaturas no período reprodutivo crítico, o que pode ter resultado na maior esterilidade observada. Também foi constatada forte correlação positiva entre REND e MMG, bem como AP, LFB e CP. É importante destacar que NP apresentou forte correlação negativa com estas três últimas variáveis. Da mesma forma pode ser observada forte correlação negativa entre as variáveis REND e EE, em outras palavras, quanto menor a esterilidade observada, maior o rendimento esperado.

Figura 4.2 – Representação gráfica dos componentes principais 1 e 2 em relação aos caracteres ciclo de planta (dias) - CIC; número de perfilhos por planta – NP; comprimento da folha bandeira (cm) – CFB; largura da folha bandeira (cm) – LFB; comprimento de panícula

(cm) - CP, esterilidade (%) EE; massa de mil grãos (g) – MMG; rendimento de grãos (kg.ha⁻¹) - REND, avaliados na safra 2013 em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas

Os quatro primeiros componentes explicam mais de 70% da variação (Tabela 4.3). No entanto, seguindo o critério de normalização de Kaiser (1960) a variação total pode ser explicada com base em três componentes haja vista que este critério leva em conta a retenção de autovalores maiores do que 1.

Tabela 4.3 – Autovalores de cada componente principal e variância acumulada em relação a variância total avaliados em a cada componente principal avaliados em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas no primeiro experimento

Componente	Autovalores	Variância (%)	Variância % Acumulada
1	3,18	35,39	35,39
2	1,39	15,52	50,92
3	1,01	11,19	62,11
4	0,92	10,19	72,30
5	0,74	8,25	80,55
6	0,72	7,97	88,52
7	0,56	6,24	94,76
8	0,37	4,08	98,83
9	0,10	1,61	100

A Tabela 4.4 compreende o conjunto de autovetores associados a cada componente principal avaliados no primeiro experimento em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas. Esta análise demonstra que os caracteres esterilidade (0,48), comprimento de folha bandeira (0,47) e rendimento de grãos (-0,45) foram os que mais contribuíram para a formação do primeiro componentes principal. Na formação do segundo componente principal, os caracteres que mais influenciaram foram: altura de planta (0,47) e número de perfilhos (-0,46), enquanto a massa de mil grãos (0,67) e largura da folha bandeira (0,46) foram os caracteres que apresentaram maiores contribuições para formar o terceiro componente principal.

Tabela 4.4 - Conjunto de autovetores associados aos caracteres e a cada componente principal avaliados no primeiro experimento em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas

Caráter*	Componente								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
NP	-0,29	-0,46	0,13	0,17	0,28	-0,16	0,74	0,02	-0,03
AP	0,21	0,47	-0,02	-0,18	0,65	-0,52	0,07	-0,01	0,02
CFB	0,47	-0,02	0,01	0,15	-0,05	0,06	0,14	0,85	-0,06
LFB	0,25	0,38	0,46	-0,32	-0,14	0,43	0,48	-0,20	-0,03
CP	0,22	0,25	0,23	0,80	-0,25	-0,26	0,06	-0,26	-0,01
CIC	0,29	-0,30	0,25	0,24	0,60	0,45	-0,30	-0,17	-0,12
EE	0,48	-0,26	-0,28	-0,07	-0,05	-0,02	0,14	-0,22	0,74
MMG	-0,15	0,37	-0,67	0,30	0,19	0,46	0,25	-0,02	-0,02
REND	-0,45	0,24	0,37	0,15	0,15	0,16	-0,14	0,29	0,66

* NP – número de perfilhos; AP – altura de planta; CFB – comprimento de folha bandeira; LFB- largura de folha bandeira; CP – comprimento da panícula; CIC – ciclo de planta; EE – esterilidade; MMG – massa de mil grãos; REND – rendimento de grãos avaliados no primeiro experimento em 192 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas

Análise de agrupamento

Considerando simultaneamente as variáveis analisadas, de acordo com o algoritmo de otimização de Tocher, os acessos e cultivares foram reunidos em 37 grupos de similaridade sendo que 12 genótipos (11 acessos e a cultivar IRGA417) não agruparam (grupos XVI a XXXVII). O primeiro e o segundo grupo abrangeram 7 e 11 acessos, respectivamente. É importante destacar que o maior número de acessos ficou contido nos grupos III com 17 acessos, IV com 15 acessos e IX com 16 acessos. A partir do primeiro experimento, foram selecionados 26 acessos que apresentaram ou maior rendimento, o sendo que para isso foram considerados aqueles que sofreram estresse por frio durante a microsporogênese e/ou antese.

Tabela 4.5 - Agrupamento determinado pelo algoritmo de otimização de Tocher considerando a Distância de Mahalanobis geradas por nove variáveis avaliadas em 192 acessos japoneses e quatro cultivares brasileiras de arroz no primeiro experimento

Grupo	Nº	Genótipos de arroz
I	7	170J; 27J; 230J; 200J; 191J; 205J; 269J
II	11	118J; 250J; 279J; 299J; 48J; 274J; 12.1; 125J; 159J; 202J; CHORINHO*
III	17	38J; 57J ; 41J ; 393J; 78J ; 260J; 314J; 394J; 331J ; 330J; 365J; 25J; 397J; 209J; 320J; 144J; 70J
IV	15	203J; 263J; 107J; 147J; 311J; 264J; 289J; 338J; 410J; 418J; 197J; 133J ; 387J; 408J ; 271J
V	12	273J; 301J; 252J; 139J; 308J; 401J; 317J; 206J; 130J; 35J; 335J; 92J;
VI	5	113J; 199J; 150J; 131J ; 259J
VII	10	127J; 136J; 383J; 290J; 117J; 153J; 79J; 82J; 352J; 400J
VIII	13	286J ; 69J; 217J ; 176J; 188J; 112J; 213J; 50J; 24J ; 278J; 248J; 156J; 382J
IX	16	276J; 55J; 312J; 325J; 6J ; 409J; 183J; 395J; 357J; 29J; 356J; 177J; 302J; 304J; 364J; 8J
X	14	268J; 284J; 336J ; 23J; 235J; 246J; 121J ; 2J; 129J; 339J; 256J ; 45J; 189J; 228J
XI	7	175J; 380J; 367J; 239J; 186J; 3J; 14J
XII	5	315J ; 407J; 287J; 164J; 221J
XIII	7	285J; 42J; 384J; 374J; 174J; 293J; 229J
XIV	8	369J; 378J; 36J; 74J; 171J; 386J; 216J; 389J
XV	6	310J ; 402J ; 16J; 80J; 322J; 52J
XVI	4	122J; 40J; 368J; 261J
XVII	3	134J; 140J; 179J
XVIII	7	337J; 99J; 236J; 172J; 219J; IAC25* ; 110J
XIX	2	280J; 56J
XX	3	160J; 413J; 218J
XXI	3	391J; IAC165* ; 237J
XXII	3	370J; 68J; 346J
XXIII	2	165J; 373J
XXIV	2	277J; 54J
XXV	2	355J; 379J
XVI	1	106J
XVII	1	119J
XVIII	1	12JB06
XXIX	1	173J
XXX	1	1J
XXXI	1	214J
XXXII	1	245J
XXXIII	1	257J
XXXIV	1	294J
XXXV	1	295J
XXXVI	1	415J
XXXVII	1	IRGA417*

Genótipos selecionados para cultivo no segundo experimento estão identificados em negrito;
Cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas estão identificadas em negrito seguidas de *

4.2 Segundo experimento

Na Tabela 4.6 é apresentado o resumo da análise de variância, e média geral para os caracteres esterilidade (%) - EE e massa de grãos (g) - MG, avaliados no segundo experimento em 26 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas. Os genótipos apresentaram uma MG de aproximadamente 24 g e esterilidade próxima a 100%, e não houve diferença significativa a 5% entre os genótipos para estas características.

Tabela 4.6 - Resumo da análise de variância e média geral para os caracteres Esterilidade (%) EE e Massa de grãos (g) - MG, avaliados no segundo experimento em 26 acessos de arroz e 4 cultivares brasileiras utilizadas como testemunhas

Causa variação	EE ¹			MG ²		
	GL	SQ	QM	GL	SQ	QM
Genótipo	29	0,631	0,021 ^{NS}	20	5,818	0,290 ^{NS}
Bloco	3	0,067	0,022 ^{NS}	3	0,044	0,014 ^{NS}
Erro	87	1,089	0,012	17	7,666	0,450
Total	119	1,788		40	14,275	
Média³	99,24%			24,13 g		

¹ Dados transformados por $\arcsen \sqrt{\%}$

² Dados transformados por $\arcsen \sqrt{x}$

³ A média geral da massa de grãos foi estimada para 1000 grãos

^{NS}: não significativo a 5% pelo teste F;

Nas Figuras 4.3 e 4.4 estão plotados os dados referentes as temperaturas do ar (°C) que ocorreram ao longo do desenvolvimento dos genótipos conduzidos respectivamente no primeiro e segundo experimento. Estes dados foram obtidos por meio da estação meteorológica de superfície automática do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia - alocado na EPAGRI/Estação Experimental de Itajaí (Latitude -26.950924°; Longitude -48.762031° e 10 metros de altitude).

Durante o primeiro experimento as temperaturas médias mensais variaram entre 5 (média mínima registrada no mês de julho) e 29°C (média máxima registrada no mês de março) ao longo do ciclo sendo que durante o período de florescimento as temperaturas médias mínimas giraram em torno de 16°C (meses abril e maio) – de acordo com dados obtidos por meio do INMET, sumarizados na Tabela 4.7.

Com relação ao segundo experimento pode ser verificado que a variação de temperatura foi menor em relação ao ano anterior (28 °C em média máxima em março e 13 °C média mínima de abril a julho). No entanto, devemos destacar que foram registradas temperaturas críticas baixas (inferiores a 15°C) ao longo de quase todo o ciclo, especialmente durante o período reprodutivo (Tabela 4.7).

Figura 4.3 – Dados gráficos referentes a Temperatura (°C) tomados da estação meteorológica de superfície automática do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia - alocado na Estação Experimental de Itajaí, durante A) todo ciclo de desenvolvimento (19/02 a 11/07/2013) e B) o estágio de pleno florescimento (30/04 a 28/06/2013) dos 192 acessos japoneses e 4 cultivares de arroz cultivados no primeiro experimento. Fonte: INMET

Figura 4.4 – Dados gráficos referentes a Temperatura (°C) tomados da estação meteorológica de superfície automática do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia - alocado na Estação Experimental de Itajaí, durante A) todo ciclo de desenvolvimento (07/03 a 29/07/2014) e B) o estágio de pleno florescimento (27/05 a 26/06/2014) dos genótipos de arroz cultivados no segundo experimento. Fonte: INMET

Tabela 4.7 – Temperaturas médias obtidas por meio da estação meteorológica de superfície automática do INMET - Instituto Nacional de Meteorologia - alocado na EPAGRI/Estação Experimental de Itajaí durante a condução dos experimentos com arroz nos anos 2013 e 2014

Mês	2013			2014		
	T °C	T °C	T °C	T °C	T °C	T °C
	Máxima*	Média*	Mínima*	Máxima*	Média*	Mínima*
Março	29	20	16	28	20	16
Abril	24	20	16	24	16	13
Maio	20	20	16	20	16	13
Junho	16	12	11	20	16	13
Julho	16	12	5	20	16	13

Fonte: INMET

* Médias mensais de temperaturas Máxima Média e Mínima

5 DISCUSSÃO

5.1 Primeiro experimento

Variabilidade dos acessos

A observação e compreensão da variabilidade genética presente em bancos de germoplasma é de extrema importância, pois permite a sua utilização em programas de melhoramento. Deve ser considerado que ampliar a variabilidade genética é a base para o desenvolvimento de qualquer variedade. Para isso é primordial caracterizar genótipos (tanto variedades tradicionais quanto acessos presentes em bancos de germoplasma) a fim de conhecer suas características para possível utilização no desenvolvimento de novas cultivares. Em outras palavras, pode-se dizer que o êxito nos programas de melhoramento depende diretamente da variabilidade genética existente (SHING, 1989).

Os acessos japoneses estudados apresentaram variabilidade genética para as características avaliadas (Tabela 4.1). Estes dados corroboram aos encontrados por Bosetti (2012) em estudo conduzido a fim de avaliar a diversidade genética em germoplasma de arroz japonês utilizando marcadores moleculares e agromorfológicos. Da mesma forma, foram observadas em geral elevada acurácia, o que possibilita eficiência no processo seletivo. De acordo com Cargnelutti Filho et al. (2012), estimativas de herdabilidade, coeficientes de determinação, valor do teste F e acurácia seletiva, são os parâmetros mais adequados à identificação de genótipos superiores.

Comparar genótipos em experimentos de campo nos programas de melhoramento de plantas é uma prática essencial, portanto muito comum. Para selecionar os melhores genótipos e descartar os menos promissores, é importante identificar diferenças entre genótipos mesmo que relativamente pequenas. Assim, é fundamental que os experimentos tenham elevada precisão experimental de modo que seja feita uma adequada discriminação entre os genótipos. Neste sentido foram apresentadas por Resende e Duarte (2007) bases teóricas de estatística indicando que dentre outros parâmetros a acurácia seletiva é adequada para avaliar a precisão experimental de experimentos de competição de genótipos e estabelecer faixas de precisão experimental. Ficou evidenciado que por estar associado a maiores variabilidades genéticas e, a menores variâncias residuais o referido parâmetro é

mais adequado que o coeficiente de variação apresentado por Pimentel-Gomes (1990) e Costa, Seraphin e Zimmermann (2002). Da mesma forma, Cargnelutti Filho et al. (2012) testando medidas de precisão experimental e número de repetições em experimentos de genótipos de arroz irrigado são adequadas para avaliação nestes experimentos. Em suma, estes valores revelam condições favoráveis para a seleção e possibilitam ganhos genético consideráveis.

Características da planta

A média de altura de plantas observada no primeiro experimento foi de 115,10 cm entre os acessos, variando entre 83,51 e 197,79 cm. Zafar et al. (2004) observou padrões similares a estes em variedades tradicionais paquistanesas (média de 101,53 cm em média com uma variação de 65 a 130,4 cm). No estudo de variedades tradicionais coletadas na África, de variedades aromáticas em países como Afeganistão, Myanmar, Vietnã, Índia e Camboja e acessos filipinos de arroz do Banco de Germoplasma do Departamento de Genética da ESALQ (SANINI et al., 2008; HIEN et al., 2007; MATA, 2010) a maioria dos genótipos também apresentou altura elevada. Em contrapartida a amplitude observada para a altura de planta foi menor do que em variedades tradicionais (que variou entre 52 a 210 cm) coletadas na região de Yunnan, China que é considerado um dos centros de diversidade do arroz (ZENG et al., 2003).

A elevada altura média observada neste estudo contrasta com aquela observada por Bosetti (2012) em acessos japoneses, que caracterizou a maioria deles como semi-anãs. Este fato pode estar relacionado a diferenças ambientais a que os genótipos foram submetidos, sendo que no presente estudo eles foram conduzidos em área de arroz irrigado por inundação e no outro foi em sistema de sequeiro. Fica nítido a elevada influência do ambiente na expressão desse caráter, o que pode ser atribuído à natureza quantitativa do mesmo.

O comprimento da folha bandeira variou de 20,12 a 48,42 com média de 27,70 cm e a largura de 1,29 a 3,53 e 1,60 cm em média, demonstrando uma amplitude superior ao comprimento e largura de folha bandeira das testemunhas (28,04 a 34,11 e 1,31 a 1,70 respectivamente). Zeng et al. (2003) observaram maior amplitude para os acessos de Yunnan que variaram 0,7 a 3 cm de largura e 10 a 65 cm de comprimento.

Ciclo

A maioria dos genótipos apresentou ciclo precoce e intermediário (Tabela 4.1). O ciclo médio foi de aproximadamente 120 dias para os acessos, variando de 107 a 129, e 122 para as testemunhas. Estes dados estão de acordo com os valores observados por Bosetti (2012) avaliados nas safras 2007/08 e 2008/09 em sistema de sequeiro. Padrões similares de distribuição foram observados quando avaliados acessos africanos (SANINI et al., 2008) e paquistaneses (ZAFAR et al., 2014).

De modo geral as variedades precoces apresentam um ciclo de aproximadamente 10 dias inferior as de ciclo intermediário. Como consequência, mostram potencial produtivo ligeiramente inferior. Contudo, este tipo de variedade permite estabelecer no planejamento da lavoura, o escalonamento adequado do plantio e colheita, adequando a disponibilidade de infra-estrutura. Estas variedades podem ser uma alternativa para o plantio em regiões sujeitas à ocorrência, com maior frequência, de períodos de baixas temperaturas, nas fases mais críticas da cultura.

Esterilidade

Os acessos japoneses apresentaram esterilidade média inferior as cultivares utilizadas como testemunhas. Foi observada uma média de 44,4% nos acessos e 74,86% nas cultivares (Tabela 4.1). Desta forma, alguns acessos tiveram esterilidade inferior a 15%. Segundo Cruz e Millach (2000) tal característica está diretamente associada a tolerância dos genótipos ao frio na fase de desenvolvimento reprodutivo.

Conforme relatado em diversos trabalhos, no período reprodutivo são observados os danos mais graves no que se refere a ocorrência de frio. Foi observado um grande número de espiguetas vazias, fato este que pode ser atribuído a não fertilização devido a indeiscência de anteras e/ou imaturidade de grãos de pólen. De acordo com Souza (1990), os sintomas mais evidentes de dano pelo frio são má exposição das panículas, mancha nas espiguetas e principalmente esterilidade de grãos. Durante a formação do grão de pólen (microsporogênese) o frio inviabiliza o pólen, já no florescimento (antese) a fecundação das espiguetas é prejudicada devido a problemas na deiscência de anteras e crescimento do tubo polínico (YOSHIDA, 1981; CRUZ; MILACH, 2000).

Massa de mil grãos

A massa de mil grãos apresentou grande variação entre os acessos (19,63 a 41,96 g) e uma média de 30,70 g (Tabela 4.1). A maioria dos acessos apresentou valores em torno da média. Bosetti (2012) encontrou valores similares variando de 1,99 a 3,8g na massa de cem sementes, em outras palavras pode-se inferir que os valores encontrados em seu trabalho foram de aproximadamente 19,9 a 38 g para massa de mil grãos. Zeng et al. (2003), encontraram maior amplitude em variedades tradicionais de Yunnan sendo que a variação girou em torno de 20 a 52 g na massa de mil grãos.

Rendimento

O rendimento médio observado nos acessos foi cerca de 47% superior as testemunhas. Conforme pode-se observar na Tabela 4.1 os acessos apresentaram rendimento de 2177,40 e as testemunhas 1035,33 kg.ha⁻¹. Deve ser destacado que alguns acessos apresentaram rendimento médio superior a 4000 kg.ha⁻¹. Assim sendo, pode-se dizer que existe entre os acessos avaliados possíveis fontes de tolerância a baixas temperaturas, com potencial razoável de produtividade.

Contribuição das características para a variabilidade

A técnica dos componentes principais tem a vantagem de possibilitar a avaliação da importância de cada caráter estudado sobre a variação total disponível entre os genótipos avaliados. Por meio dela é possível descartar caracteres que contribuem pouco para a discriminação do material avaliado (IEZZONI; PRITTIS, 1991). O uso deste método facilitou a identificação de componentes que melhor representam o efeito dos caracteres avaliados sobre a resistência de genótipos de arroz ao frio. Analisando a primeira componente principal, pode-se verificar que foram atribuídos maiores pesos para EE, CFB e REND, indicando que estas são as variáveis mais importantes quanto a resistência ao frio. Conforme discutido anteriormente, a esterilidade de espiguetas pode ocorrer devido a inviabilidade de pólen causada pela ocorrência de frio no período de microsporogênese, quando o grão de pólen está sendo formado. Este período corresponde aproximadamente aos 7 a 14 dias que antecedem a antese. Este fato também pode ser explicado pela incidência de frio no período do florescimento (antese) em que prejudica a deiscência das anteras e o

crescimento do tubo polínico, consequentemente há uma redução na fecundação de espiguetas (SOUZA, 1990; YOSHIDA, 1981; MACKILL et al., 1996). Deve ser destacado que a esterilidade de espiguetas pode explicar a variação no rendimento de grãos. Estes resultados corroboram aos encontrados por Walter (2010) que atribuiu grande parte da variação no rendimento de grãos nos diferentes cenários climáticos com base no número total de espiguetas produzidas e pela esterilidade de espiguetas causada por temperaturas extremas. Sendo que, a alta esterilidade de espiguetas causada pelo frio contribuiu para o menor rendimento de grãos.

A última folha a surgir em cada colmo denomina-se folha bandeira, suas características são de grande relevância na caracterização e descrição varietal (BOSETTI, 2012; MATA, 2010). Conforme apresentado anteriormente, os genótipos diferiram quanto a largura e comprimento da folha bandeira e este último contribuiu para um dos maiores pesos no Primeiro Componente Principal.

Com relação a segunda componente as variáveis altura de planta e número de perfilhos foram as mais importantes, em função do maior peso atribuído a elas. A variável altura de planta apresenta uma relação causa efeito com a variável rendimento de grãos. Da mesma forma, a capacidade de perfilhamento é um dos componentes que influencia diretamente no do rendimento. Esta característica depende de diversos fatores dentre eles a variedade e faz com que o arroz tenha uma resposta elástica à densidade de semeadura, podendo compensar baixas populações de plantas com maior número de perfilhos emitidos por planta (MARCHESAN et al., 2005).

Análise de Agrupamento

A análise de agrupamento permitiu identificar alguns grupos de acessos similares para as variáveis analisadas (Tabela 4.5). A utilização de técnicas de análise multivariada para agrupar os acessos é de grande importância para a determinação de acessos divergentes com potencial de originar populações com ampla variabilidade genética. Além do mais é uma importante ferramenta visto que pode evitar duplicatas em bancos de germoplasma.

Conforme pode ser visualizado na Tabela 4.5, foram formados 37 grupos de similaridade. Deve ser considerado que 12 genótipos (11 acessos e a cultivar IRGA417) ficaram sozinhos em seu grupo (grupos XVI a XXXVII), e houve 8 grupos contendo 2 ou 3 genótipos. Este fato indica ampla diversidade entre os acessos

japoneses. É importante destacar que o maior número de acessos ficou contido nos grupos III com 17 acessos, IV com 15 acessos e IX com 16 acessos, demonstrado assim grande similaridade entre eles. Todas as testemunhas comerciais utilizadas foram alocadas em diferentes grupos, sendo que as mais contrastantes foram as cultivares Chorinho alocada no grupo II e IRGA417 no último grupo (grupo número XXXVII).

5.2 Segundo experimento

A massa de mil grãos é o componente de produção com maior efeito no aumento do rendimento da cultura do arroz. Em contrapartida, a esterilidade de espiguetas é o componente do rendimento que mais influencia na sua redução. Sendo que estas duas variáveis devem ser priorizadas em programas de melhoramento da cultura (MARCHESAN et al., 2005).

Conforme discutido anteriormente, a tolerância ao frio no período reprodutivo pode ser avaliada por meio da percentagem de grãos estéreis nas plantas submetidas ao frio no referido estágio (CRUZ; CARNEIRO, 2006). Estudos realizados revelam que, tanto a intensidade quanto a duração da temperatura são determinantes para a esterilidade das espiguetas. A duração do estresse é de grande importância, visto que temperaturas de 12 °C podem não induzir esterilidade se ocorrerem em período inferior a dois dias, em contrapartida, podem levar a uma esterilidade de até 100% de esterilidade quando a exposição for superior a seis dias (YOSHIDA, 1981). Conforme pode ser verificado na Tabela 4.6, todos os genótipos avaliados no segundo experimento apresentaram esterilidade média de mais de 99% e não houve diferença significativa entre eles. É possível que a ocorrência de temperaturas muito baixas - inferiores a 15 °C - ou durante um intervalo de tempo muito grande - superior a 7 dias - (Figura 4.4) tenha ocasionado condições intensas de estresse, não sendo possível a identificação de genótipos com elevada tolerância no período reprodutivo no segundo experimento.

O fator frio é de difícil controle no campo e pode inviabilizar os trabalhos de seleção. Desde 2007/08 a EPAGRI tem conduzido experimentos em condições de campo durante o outono e inverno - época imprópria de cultivo do arroz - expondo centenas de genótipos de arroz a baixas temperaturas na fase reprodutiva, porém estas ocorrências climáticas são imprevisíveis (SCHMIDT, 2009).

Embora, nas regiões produtoras de arroz no Brasil não seja comum a ocorrência de temperaturas extremas, a tolerância ao frio tem sido considerada um dos objetivos para os programas de melhoramento. Isto se deve ao fato de que nos Estados do Rio Grande do Sul e Santa Catarina anualmente ocorrem prejuízos devido à ocorrência do estresse nos estágios críticos da cultura. A principal limitação trazida pelo frio no Rio Grande do Sul se dá no período vegetativo devido à dificuldade de estabelecimento da cultura. Já em Santa Catarina o problema maior ocorre no período reprodutivo especialmente em algumas regiões de maior altitude (MARSCHALEK et al., 2013).

Mesmo sendo o maior produtor fora da Ásia (FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE / UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE – FAZ/USDA 2014), no Brasil ainda existem poucos trabalhos de pesquisa referentes a incidência de baixas temperaturas na cultura do arroz. É importante destacar que diversos fatores contribuem para esta situação, dentre eles destaca-se a dificuldade de instalar pesquisas de campo. O estresse por frio é de natureza abiótica e imprevisível, e os efeitos negativos da ocorrência são de difícil controle, isso torna a tolerância genética das cultivares extremamente importante para estabilizar o rendimento de grãos nessas áreas.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os genótipos testados apresentaram comportamento diferenciado para tolerância a baixas temperaturas, indicando que existe variabilidade genética entre os mesmos para o referido caráter. Os acessos japoneses quando comparados com as cultivares comerciais no primeiro experimento apresentaram em média maior rendimento, massa de mil grãos e menor esterilidade. No entanto, no segundo experimento, todos os genótipos avaliados apresentaram elevada esterilidade (próxima a 100%). Deve ser destacado que foram registradas temperaturas críticas baixas (inferiores a 15°C) ao longo de quase todo o ciclo, especialmente durante o período reprodutivo. Por ser imprevisível, os efeitos negativos da ocorrência de baixas temperaturas sobre o arroz são de difícil manejo. Embora não seja uma tarefa fácil, em diversas regiões do mundo, já foram desenvolvidas cultivares com tolerância adequada. Assim, o caminho para o desenvolvimento de cultivares tolerantes às condições de baixas temperaturas deve envolver, a adoção de várias estratégias para tornar o processo de melhoramento desse caráter mais ágil e preciso. Verificou-se a existência de genótipos promissores com base no primeiro experimento sendo eles: 6J; 24J; 41J; 52J; 57J; 78J 106J; 119J; 121J; 131J; 133J; 173J; 217J; 221J; 229J; 256J; 260J; 286J; 310J; 315J; 331J; 336J; 402J; 408J; 415J.

REFERÊNCIAS

- ARTACHO, R.C.F.; MEZA, F.; ALCALDE, J.A. Evaluation of the ORYZA2000 growth model under nitrogen-limited conditions in an irrigated Mediterranean environment. **Chilen Journal of Agricultural Research**, Chillán, v. 71, n. 1, p. 23-33, 2011.
- BARATA, T. **Caracterização do consumo de arroz no Brasil**: um estudo na Região Metropolitana de Porto Alegre. 2005. 91 p. Dissertação (Mestrado em Agronegócios) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.
- BOSETTI, F. **Diversidade genética em germoplasma de arroz japônês utilizando marcadores moleculares e agromorfológicos**. 2012. 183 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.
- BLUM, A. **Plant breeding for stress environments**. Boca Raton: CRC Press, 1988.
- CARGNELUTTI FILHO, A.; MARCHESAN, E.; SILVA, L.S. da; TOEBE, M. Medidas de precisão experimental e número de repetições em ensaios de genótipos de arroz irrigado. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 47, p. 336-343, 2012.
- CASTILLO, D.; ALVARADO, R. Caracterización de germoplasma de arroz para tolerancia a frío en la etapa de germinación. **Agricultura Técnica**, Chillán, v. 62, n. 4, p. 596-605, 2002.
- CASTRO, E.M. de; BRESEGHELLO, F.; RANGEL, P.H.N.; MORAIS, O. P. de Melhoramento do arroz. In: BOREM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1999. p. 95-130.
- CHANG, T.T. The origin, evolution, cultivation, dissemination, and diversification of Asian and African rices. **Euphytica**, Wageningen, v. 25, p. 425-444, 1976.
- COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileira 2014**. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/OlalaCMS/uploads/arquivos/14_09_10_14_35_09_boletim_graos_setembro_2014.pdf>. Acesso em: 21 out. 2013.
- COSTA, N.H.A.D.; SERAPHIN, J.C.; ZIMMERMANN, F.J.P. Novo método e classificação de coeficientes de variação para a cultura do arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 37, p. 243-249, 2002.
- COUNCE, P.A.; KEISLING, T.C.; MITCHELL, A.J. A uniform, objective and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, Madison, v. 40, n. 2, p. 436-443, 2000.
- CRUZ, C.D. **Programa GENES**: análise multivariada e simulação. Viçosa: Ed. UFV, 2006. 175 p.
- CRUZ, C.D.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. Viçosa: Ed. UFV, 2006. 585 p.

CRUZ, R.; 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, R.P. **Bases genéticas da tolerância ao frio em arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2001. 155 p. Tese (Doutorado em Fitotecnia) – Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2001.

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

FAGERIA, N.K. Nutrient management for improving upland rice productivity and sustainability. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, Philadelphia, v. 32, p. 2603-2629, 2001.

FAO. **FAOSTAT**: rice market monitor. Disponível em: <<http://www.fao.org/economic/est/publications/rice-publications/rice-market-monitor-rmm/en/>>. Acesso em: 21 out. 2014.

FERREIRA, M.E. Molecular analysis of gene Banks for sustainable conservation and increased use of crop genetic resources. In: RUANE, J.; SONNINO, A. **The role of biotechnology in exploiting and protecting agricultural genetic resources**. Roma: FAO, 2006, p. 121-128.

FONSECA, J.R.; BEDENDO, I.P. **Características morfológicas, agronômicas e fenológicas de algumas cultivares de arroz**. Goiânia: EMBRAPA, CNPAF, 1984. 58 p. (EMBRAPA. CNPAF. Boletim de Pesquisa, 3).

FONSECA, J.R.; BRONDANI, C.; BRONDANI, R.P.V.; RANGEL, P.H.N. Recursos genéticos do arroz. In: SANTOS, A.B. dos (Ed.). **A cultura do arroz no Brasil**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA, Arroz e Feijão, 2005. p. 257-288.

FONSECA, J.R.; RANGEL, P.H.N.; PRABHU, A.S. **Características botânicas e agronômicas de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.)**. Goiânia: EMBRAPA, CNPAF, 1981. 33 p. (EMBRAPA.CNPAF. Circular Técnica, 14).

FOREIGN AGRICULTURAL SERVICE / UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE. Disponível em: <<http://www.fas.usda.gov/>>. Acesso em: 21 out. 2014.

GARRIS, A.J.; TAI, T.H.; COBURN, J.R.; KRESOVICH, S.; MCCOUCH, S. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. **Genetics**, Austin, v. 169, n. 3, p. 1631-1638, 2005.

IEZZONI, A.F.; PRITTS, M.P. Applications of principal component analysis to horticultural research. **Horticultural Science**, Alexandria, v. 26, n. 4, p. 334-338, 1991.

INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/>>. Acesso em: 12 nov. 2014.

INTERNACIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Descriptors for rice (*Oryza sativa* L.)**. Los Baños: IRRI; IBPGR, 1980. 21 p.

KAISER, H.F. The application of electronic computers to factor analysis. **Educational and Psychological Measurement**, Santa Barbara, v. 20, p. 141-151, 1960.

KANEDA, C.; BEACHELL, H.M. Resistance of Japonica x Indica breeding lines to low temperatures. In: INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Rice breeding**. Los Baños, 1972. p. 541-545.

KAW, R.N. Genetic parameters of cold tolerance in rice. **Indian Journal of Genetics**, New Delhi, v. 51, p. 59-65, 1991.

KAW, R.N.; KHUSH, G. Combining ability for low temperature tolerance in rice. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 1., 1986, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: IRRI, 1986. p. 93-612.

KHAN, D.R.; MACKILL, D.J.; VERGARA, B.S. Selection for tolerance to low temperature sterility at anthesis in rice. **Crop Science**, Madison, v. 26, p. 694-698, 1986.

KHUSH, G.S. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. **Plant Molecular Biology**, Amsterdam, v. 35, p. 25-34. 1997.

LI, T.G.; VISPERAS, R.M.; VERGARA, B.S. Correlation of cold tolerance at different growth stages in rice. **Acta Botanica Sinica**, Beijing, v. 23, p. 203-207, 1981.

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

MACKILL, D.J.; COFFMAN, W.R.; GARRITY, D.P. **Rainfed lowland rice improvement**. Manila: IRRI, 1996. 242 p.

MARKEZAN, E.; MARTIN, T.N.; SANTOS, F.M. dos; CAMARGO, E.R. Análise de coeficiente de trilha para os componentes de produção em arroz. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 35, n. 5, p. 1027-1033, 2005.

MARCHIORO, V.S.; CARVALHO, F.I.F.; OLIVEIRA, A.C.; CRUZ, P.J.; LORENCETTI, C.; BENIN, G.; SILVA, J.A.G.; SCHMIDT, D.A.M. Dissimilaridade genética entre genótipos de aveia. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 27, n. 2, p. 285-294, 2003.

MARSCHALEK, R.; VIEIRA, J.; ISHIY, T.; SCHIOCCHET, M. A.; BACHA, R. E. Melhoramento genético de arroz irrigado em Santa Catarina. **Agropecuária Catarinense**, v. 21, p. 54-56, 2008.

MARSCHALECK, R.; SCHIOCCHET, M.A.; KNOUBLAUCH, R.; STUKER, H.; EBERHARDT, D.S.; ROZZETTO, D.S.; PORTO, G.; SANTOS, S.B. Seleção de genótipos de arroz irrigado adaptados à região de elevada altitude, sujeitas a baixas temperaturas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 8., 2013, Santa Maria. **Anais...** Uberlândia: SBMP, 2013. v. 1. p. 2209-2213.

MATA, T.L. **Diversidade genética em germoplasma de arroz filipino identificada por marcadores moleculares e caracteres agromorfológicos**. 2010. 99 p.

Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2010.

MCCOUCH, S.R. Diversifying selection in plant breeding. **Plos Biology**, San Francisco, v. 2, p. 1507-1512, 2005.

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

OKA, H. I.; MORISHIMA, H. Wild and cultivated rice. In: MATSUO, T.; FUTSUHARA, Y.; KIKUSHI, F.; YAMAGUCHI, H. (Ed.). **Science of the rice plant**. Tokyo: Food and Agriculture Police Research Center, 1991. v. 3, p. 88-111.

OKABE, S.; TORIYAMA, K. Tolerance to cool temperatures in Japanese rice varieties. In: INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE. **Rice breeding**. Los Baños, 1972. p. 529-531.

PEREIRA, J.A. **Cultura do arroz no Brasil**: subsídios para a sua história. Teresina: Embrapa Meio-Norte, 2002. 226 p.

PIMENTEL-GOMES, F. **Curso de estatística experimental**. 13. ed. Piracicaba: Nobel, 1990. 468 p.

RANGEL, P.H.N.; GUIMARÃES, E.P.; NEVES, P.C.F. Base genética das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 31, n. 5, p. 349-357. 1996.

RAO, C. R. **An advanced statistical method in biometric research**. New York, Ed. John Wiley e Sons, p. 390, 1952.

RESENDE, M.D.V. **Matemática e estatística na análise de experimentos e no melhoramento genético**. Colombo: Embrapa Florestas, 2007. 561 p.

RESENDE, M.D.V. de; DUARTE, J.B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 37, p. 182-194, 2007.

ROZZETTO, D.S.; MRSCHALEK, R.; EBERHARDT, D.S.; RAIMONDI, J.V.; SANTOS, S.B.; PORTO, G.; PAZINI, B.S.; SOUZA, N.M. Tolerância ao frio em genótipos de arroz irrigado expostos a baixas temperaturas em câmara de crescimento no estágio reprodutivo. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 8., 2013, Santa Maria. **Resumos...** Santa Maria, 2013. p. 185-188.

SANINI, K.A.; FAWOLE, I.; GUEI, R.G.; OJO, D.K.; SOMADO, E.A.; TIA, D.T.; OGUNBAYI, S.A.; SANCHEZ, I. Geographical patterns of phenotypic diversity in *Oryza sativa* landraces of Côte d'Ivoire. **Euphytica**, Wageningen, v. 160, p. 389-400, 2008.

SAS INSTITUTE. **SAS language and procedures**: usage; version 9.3. Cary, 2012. 1 CD-ROM.

SCHMIDT, A.B. **Desenvolvimento de painéis multiplex de marcadores microssatélites e mapeamento de QTLs de tolerância à seca e ao frio em linhagens puras recombinantes de arroz (*Oryza sativa* L.)**. 2009. 353 p. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

SHAHI, B.B.; KHUSH, G.S. Genetic analysis of cold tolerance in rice. In: INTERNATIONAL RICE GENETICS SYMPOSIUM, 1, 1986, Los Baños. **Proceedings...** Los Baños: IRRI, 1986. p. 429-435.

SHINADA, H.; IWATA, N.; FUJINO, K. Genetical and morphological characterization of cold tolerance at fertilization stage in rice. **Breeding Science**, v. 63, p. 197-204, 2013.

SHING, S.P. Pattern of variation in cultivated dry bean. **Annual Report of the Bean Improvement Cooperative**, East Lansing, v. 31, p. 180-182, 1989.

SOCIEDADE SUL-BRASILEIRA DE ARROZ IRRIGADO. **Arroz Irrigado: recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil**. Itajaí, 2012. 176 p.

SOUZA, P.R. Alguns aspectos da influência do clima temperado sobre a cultura do arroz irrigado, no sul do Brasil. **Lavoura Arrozeira**, Porto Alegre, v. 43, n. 389, p. 9-11, 1990.

SRINIVASULU, K.; VERGARA, B.S. Screening of upland and short duration rice varieties for cold tolerance at seedling emergence stage. **Oryza**, Cuttack, v. 25, p. 87-90, 1988.

STEINMETZ, S.; WREGE, M.S.; HERTER, F.G.; REISSER JÚNIOR, C.; FERREIRA, J.S.A.; MATZENAUER, R.; MALUF, J.R.T. **Macrozoneamento climático para o arroz irrigado no Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2005. 20 p. (Embrapa Clima Temperado. Documentos, 137).

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

TAKAHASHI, N. Inheritance of seed germination and dormancy. In: MATSUO, T.; FUSUHARA, Y.; KIKUCHI, F.; YAMAGUCHI, H. **The science of the rice plant**, Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1997. v. 3: Genetics, p.348-359.

TANKSLEY, S.D.; MCCOUCH, S.R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. **Science**, Washington, v. 277, n. 5329, p. 1063-1066.1997.

TORRES TORO, E.A. **Avaliação de linhagens de arroz (*Oryza sativa* L.) suscetíveis e tolerantes a baixas temperaturas em cruzamentos dialélicos parciais**. 2006. 143 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2009.

WALTER, L.C. **Simulação do rendimento de grãos de arroz irrigado em cenários de mudança climática**. 2010. 67 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2010.

YOSHIDA, S. Growth and development of the rice plant. In: _____. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños, 1981. chap. 1, p. 1-63. (IRRI. Research Paper Series, 1).

ZENG, Y.; SHEN, S.; LI, Z.; YANG, Z.; WANG, X.; ZANG, H. WEN, G. Ecogeographic and genetic diversity based on morphological characters of indigenous rice (*Oryza sativa* L.) in Yunnan, China. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 50, p. 567-577, 2003.

ANEXOS

ANEXO A – Estágios de desenvolvimento com identificadores morfológicos. Plântula
(continua)

Estádio	S0	S1	S2	S3
Identificador morfológico	Semente não embebida de água	Emergência do coleóptilo ¹	Emergência da radícula ¹	Emergência do perfil do coleóptilo ²
Ilustração				

ANEXO A – Estágios de desenvolvimento com identificadores morfológicos.
Vegetativo - VF significa folha bandeira e o número subsequente representa o nó anterior a ela

(continuação)

Estádio	V1	V2	V3	V4
Identificador morfológico	Formação do colar na 1ª folha completa (folha 1) do colmo principal	Formação do colar na 2ª folha do colmo principal	Formação do colar na 3ª folha do colmo principal	Formação do colar na 4ª folha do colmo principal
Ilustração				
Estádio	V5	V6	V7	V8
Identificador morfológico	Formação do colar na 5ª folha do colmo principal	Formação do colar na 6ª folha do colmo principal	Formação do colar na 7ª folha do colmo principal	Formação do colar na 8ª folha do colmo principal
Ilustração				

ANEXO A – Estágios de desenvolvimento com identificadores morfológicos.

Vegetativo - VF significa folha bandeira e o número subsequente representa o nó anterior a ela

(continuação)

Estádio	V9 (VF-4) ²	V10 (VF-3) ²	V11 (VF-2) ²
Identificador morfológico	Formação do colar na 9ª folha do colmo principal	Formação do colar na 10ª folha do colmo principal	Formação do colar na 11ª folha do colmo principal
Ilustração			
Estádio	V12 (VF-1) ²	V13 (VF) ²	
Identificador morfológico	Formação do colar na 12ª folha do colmo principal	Formação do colar na 13ª folha (folha bandeira) do colmo principal	
Ilustração			

ANEXO A – Estágios de desenvolvimento com identificadores morfológicos.
Reprodutivo

(continuação)

Estádio	R0	R1	R2	R3
Identificador morfológico	Início do desenvolvimento da panícula	Formação das ramificações da panícula	Formação do colar da folha bandeira	Exercção da panícula; ponta da panícula está acima do colar da folha bandeira
Ilustração				

Estádio	R4	R5	R6
Identificador morfológico	Uma ou mais espiguetas na panícula do colmo principal atingiu a antese	Pelo menos uma cariopse da panícula do colmo principal está alongando até a extremidade da casca	Pelo menos uma cariopse da panícula do colmo principal alongou-se até a extremidade da casca
Ilustração			

ANEXO A – Estágios de desenvolvimento com identificadores morfológicos.
Reprodutivo

(conclusão)

Estádio	R7	R8	R9
Identificador morfológico	Pelo menos um grão da panícula do colmo principal apresenta casca amarela	Pelo menos um grão da panícula do colmo principal apresenta casca marrom	Todos os grãos que atingiram o estágio R6 apresentam casca marrom
Ilustração			

Fonte: Adaptado de Counce Keisling e Mitchell (2000)

ANEXO B - Acessos japoneses pertencentes ao Banco de Germoplasma de arroz
cultivado do Departamento de Genética da ESALQ/USP

(continua)

Acesso	Nome do Acesso	Status*	Tipo*
001J	Kunihikari Mochi	Landrace	Sequeiro
002J	Senshou	Landrace	Sequeiro
003J	Fukuton	Landrace	Sequeiro
006J	Ezo Wase	Landrace	Sequeiro
008J	Shin Hakaburi	Desconhecido	Desconhecido
12B06J	Senshou Ibaragi 1	Desconhecido	Desconhecido
014J	Yamanoi	Melhorado	Sequeiro
016J	Namekata Mochi	Landrace	Sequeiro
023J	Sonobe Mochi	Landrace	Sequeiro
024J	Wase Mochi	Landrace	Sequeiro
025J	Seion Uruchi	Landrace	Sequeiro
027J	Gaisen Mochi	Landrace	Sequeiro
029J	Shiro Hige	Desconhecido	Desconhecido
035J	Kinkabou	Landrace	Sequeiro
036J	Nakaahara Mochi	Desconhecido	Desconhecido
038J	Nourin Mochi	Desconhecido	Desconhecido
040J	Toukyo Hirayama	Desconhecido	Desconhecido
041J	Iwata Hata Mochi	Desconhecido	Desconhecido
042J	Susono Mochi	Desconhecido	Desconhecido
045J	Mitsukasane	Landrace	Sequeiro
048J	Mie	Landrace	Sequeiro
050J	Wase Esoshima Mochi	Desconhecido	Desconhecido
052J	Mizuhoshi	Landrace	Irrigado
054J	Kyuushuu	Landrace	Sequeiro
055J	Oohata Mochi	Landrace	Sequeiro
056J	Miyako	Landrace	Irrigado
057J	Yoridashi	Landrace	Irrigado
068J	Nourin 24	Desconhecido	Desconhecido
069J	Saitama Senshou	Melhorado	Sequeiro
070J	Kirishima	Landrace	Sequeiro
074J	Aichi Rikutou 1	Melhorado	Sequeiro
078J	Yonoyuki Mochi	Landrace	Sequeiro
079J	Dango Mochi	Landrace	Sequeiro
080J	Sangoku	Landrace	Sequeiro
082J	Terenzu	Landrace	Sequeiro

Informações referentes à Status e Tipo foram pesquisadas no site do National Institute of Agrobiological Science - NIAS. As informações de código e nome do acessos são de registros do banco de germoplasma de arroz do Departamento de Genética da ESALQ/USP.

ANEXO B - Acessos japoneses pertencentes ao Banco de Germoplasma de arroz
cultivado do Departamento de Genética da ESALQ/USP

(continuação)

Acesso	Nome do Acesso	Status*	Tipo*
092J	Iwate Kurumi Wase1	Melhorado	Sequeiro
099J	Eika Ine	Landrace	Sequeiro
106J	Araki 2	Landrace	2Sequeiro/3Irrigado
107J	Oiran	Landrace	Sequeiro
110J	Mikuni No Homare	Landrace	Sequeiro
112J	Japão 1	Desconhecido	Desconhecido
113J	Kyuushuu	Landrace	Sequeiro
117J	Gaisen Ibaragi 1	Desconhecido	Desconhecido
118J	Kurombo	Desconhecido	Desconhecido
119J	Shiotsuka Wase	Landrace	Sequeiro
121J	Nourin 5	Desconhecido	Desconhecido
122J	Chiyoda Wase	Landrace	Sequeiro
125J	Touzan Mochi	Desconhecido	Desconhecido
127J	Hakamuri 20	Melhorado	Sequeiro
129J	Esojima Mochi	Landrace	Sequeiro
130J	Esojima	Desconhecido	Desconhecido
131J	Mino	Landrace/Melhorado	Sequeiro/Irrigado
133J	Nourin Mochi	Desconhecido	Desconhecido
134J	Suzume Shirazu	Desconhecido	Desconhecido
136J	Nourin Mochi	Desconhecido	Desconhecido
139J	Nourin Mochi 1	Desconhecido	Desconhecido
140J	Nourin Mochi 17	Desconhecido	Desconhecido
144J	Miyamae Okute	Landrace	Sequeiro
147J	Kukutomi	Desconhecido	Desconhecido
150J	Atoshirazu	Landrace	Sequeiro
153J	Col/Fuzui/1965	Desconhecido	Desconhecido
156J	Tachiminori	Melhorado	Sequeiro
159J	Minami Hata Mochi	Desconhecido	Desconhecido
160J	Gaisen Mochi	Landrace	Sequeiro
164J	No Mochi	Landrace	Sequeiro
165J	Takasago Wase	Landrace	Sequeiro
170J	Tanaka Yakan	Landrace	Sequeiro
171J	Oosumi	Melhorado	Sequeiro

Informações referentes à Status e Tipo foram pesquisadas no site do National Institute of Agrobiological Science - NIAS. As informações de código e nome do acessos são de registros do banco de germoplasma de arroz do Departamento de Genética da ESALQ/USP.

ANEXO B - Acessos japoneses pertencentes ao Banco de Germoplasma de arroz
cultivado do Departamento de Genética da ESALQ/USP

(continuação)

Acesso	Nome do Acesso	Status*	Tipo*
172J	Oohataho	Landrace	Sequeiro
173J	Nourin 11	Desconhecido	Desconhecido
174J	Col/Miyazaki/1963	Desconhecido	Desconhecido
175J	Tomoe Mochi	Landrace	Sequeiro
176J	Shinshuu Wase	Landrace	Sequeiro
177J	Nourin 16	Desconhecido	Desconhecido
179J	Urasan 1	Melhorado	Sequeiro
183J	Yashino Mochi	Desconhecido	Desconhecido
186J	Kirishima	Landrace	Sequeiro
188J	Chiba Senshou	Melhorado	Sequeiro
189J	Okabo	Landrace	Sequeiro/Irrigado
191J	Col/Fuzui/1965	Desconhecido	Desconhecido
197J	Toga	Landrace	Sequeiro
199J	Kahee	Landrace	Sequeiro
200J	Hitachi Nishiki	Landrace	Sequeiro
202J	Ooba Kirishima	Landrace	Sequeiro
203J	Horarin	Landrace	Sequeiro
205J	Matsuyama	Landrace	Sequeiro
206J	Taishou Mochi	Landrace	Sequeiro
209J	Kangyouho	Desconhecido	Sequeiro
213J	Japão 2	Desconhecido	Desconhecido
214J	Kaneko Mochi	Landrace	Sequeiro
216J	Iwate Kurumi Wase1	Melhorado	Sequeiro
217J	Col/Miyazaki/1963	Desconhecido	Desconhecido
218J	Toukyo Kaneko	Desconhecido	Desconhecido
219J	Gaisen (4x)	Desconhecido	Desconhecido
221J	Ishikawa	Desconhecido	Sequeiro
228J	Tariu Saku Mochi	Desconhecido	Desconhecido
229J	Col/Tokushima/1967	Desconhecido	Desconhecido
230J	Miyanishiki	Landrace/Melhorado	Sequeiro/Irrigado
235J	Hatamurasaki	Melhorado	Sequeiro
236J	Toga	Landrace	Sequeiro
237J	Rikutou Shinriki 1	Melhorado	Sequeiro

Informações referentes à Status e Tipo foram pesquisadas no site do National Institute of Agrobiological Science - NIAS. As informações de código e nome do acessos são de registros do banco de germoplasma de arroz do Departamento de Genética da ESALQ/USP.

ANEXO B - Acessos japoneses pertencentes ao Banco de Germoplasma de arroz
cultivado do Departamento de Genética da ESALQ/USP

(continuação)

Acesso	Nome do Acesso	Status*	Tipo*
246J	Mizugirai Mochi	Landrace	Sequeiro
248J	Col/Tokushima/1967	Desconhecido	Desconhecido
250J	Jouon	Landrace	Sequeiro
252J	Oota Wase	Landrace	Sequeiro
256J	Shizuoka	Desconhecido	Desconhecido
257J	Hiderishirazu	Landrace	Sequeiro/Irrigado
259J	Iwate Ryoan 1	Desconhecido	Desconhecido
260J	Kozo	Landrace	Sequeiro
261J	Kahei	Landrace	Sequeiro
263J	Tamasari 3	Melhorado	Sequeiro
264J	Miyakonojoo Mochi	Landrace	Sequeiro
268J	Ookuma Nishiki	Desconhecido	Desconhecido
269J	Nourin Mochi 6	Desconhecido	Desconhecido
271J	Taishou Nishiki	Landrace	Sequeiro
273J	Shina Mochi	Landrace	Sequeiro
274J	Nagae Wase	Melhorado	Sequeiro
276J	Arabiya Mochi	Desconhecido	Desconhecido
277J	Tozo Mochi	Desconhecido	Desconhecido
278J	Urasar	Desconhecido	Desconhecido
279J	Ootama	Landrace	Sequeiro/Irrigado
280J	Okabo Mochi	Landrace	Sequeiro
284J	Furuwase	Desconhecido	Desconhecido
285J	Hirakawa Okute	Landrace	Sequeiro
286J	Nourin 7	Desconhecido	Desconhecido
287J	Oiran	Landrace	Sequeiro
289J	Shinhoku Daiou Mochi	Desconhecido	Desconhecido
290J	Riku Araki	Landrace	Sequeiro
293J	Suzume Shirazu	Desconhecido	Desconhecido
294J	Col/Miyazaki/1963	Desconhecido	Desconhecido
295J	Hideshirazu Mochi	Desconhecido	Desconhecido
299J	Japão 3	Desconhecido	Desconhecido
301J	Nourin Mochi 4	Desconhecido	Desconhecido
302J	Kazusa Wase	Landrace	Sequeiro

Informações referentes à Status e Tipo foram pesquisadas no site do National Institute of Agrobiological Science - NIAS. As informações de código e nome do acessos são de registros do banco de germoplasma de arroz do Departamento de Genética da ESALQ/USP.

ANEXO B - Acessos japoneses pertencentes ao Banco de Germoplasma de arroz
cultivado do Departamento de Genética da ESALQ/USP

(continuação)

Acesso	Nome do Acesso	Status*	Tipo*
310J	Senshou	Landrace	Sequeiro
311J	Shindai Okoshi	Landrace	Sequeiro
312J	Col/Ooita/1964	Desconhecido	Desconhecido
314J	Taiwan Mochi	Landrace	Sequeiro
315J	Urasan	Landrace	Sequeiro
317J	Owari Mochi	Landrace/Melhorado	Sequeiro
320J	Nourin Mochi 2	Desconhecido	Desconhecido
322J	Senshou	Landrace	Sequeiro
325J	Gaisen Mochi	Melhorado	Sequeiro
330J	Japão 4	Desconhecido	Desconhecido
331J	Rikuu	Desconhecido	Desconhecido
335J	Rikuu 23	Melhorado	Sequeiro
336J	Ohata Wase	Landrace	Sequeiro
337J	Japão 5	Desconhecido	Desconhecido
338J	Japão 6	Desconhecido	Desconhecido
339J	Owari 79	Melhorado	Sequeiro
346J	Ouu 22	Melhorado	Sequeiro/Irrigado
352J	Rikuu 15	Melhorado	Sequeiro/Irrigado
355J	Col/Miyazaki/1963	Desconhecido	Desconhecido
356J	Rikuu 13	Melhorado	Sequeiro
357J	Rikuu 22	Melhorado	Sequeiro
364J	Fujimizu Bansei	Landrace	Sequeiro
365J	Iwate Kinsen 1	Melhorado	Sequeiro
367J	Bansei Tarou	Landrace	Sequeiro
368J	Shiro Uzura	Landrace	Sequeiro
369J	Japão 7	Desconhecido	Desconhecido
370J	Japão 8	Desconhecido	Desconhecido
373J	Mogami Uruchi 1	Melhorado	Sequeiro
374J	Gaisen	Landrace	Sequeiro
378J	Okka Modoshi	Landrace	Sequeiro
379J	Mino Senshutsu	Landrace	Sequeiro
380J	Japão 9	Desconhecido	Desconhecido
382J	Kurohige	Landrace	Sequeiro

Informações referentes à Status e Tipo foram pesquisadas no site do National Institute of Agrobiological Science - NIAS. As informações de código e nome dos acessos são de registros do banco de germoplasma de arroz do Departamento de Genética da ESALQ/USP.

ANEXO B - Acessos japoneses pertencentes ao Banco de Germoplasma de arroz
cultivado do Departamento de Genética da ESALQ/USP

(conclusão)

Acesso	Nome do Acesso	Status*	Tipo*
386J	Minami Hata Mochi	Desconhecido	Desconhecido
387J	Wase Shinshuu	Landrace	Sequeiro
389J	Igisu Mochi	Landrace	Sequeiro
391J	Kurumi Wase 43	Melhorado	Sequeiro
393J	Hiderishirazu	Landrace	Sequeiro/Irrigado
394J	Susono Mochi	Desconhecido	Desconhecido
395J	Seta Gaisen	Landrace	Sequeiro
397J	Korotou Mochi	Landrace	Sequeiro
400J	Owari Hata Mochi	Desconhecido	Desconhecido
401J	Ishiyakushi Mochi	Landrace	Sequeiro
402J	Shiro Hige	Desconhecido	Desconhecido
407J	Edogawa	Landrace	Sequeiro
408J	Gose Yonkoku	Landrace	Sequeiro
409J	Mie	Landrace	Sequeiro
410J	Shizouka	Desconhecido	Desconhecido
413J	Chousen	Landrace	Sequeiro/Irrigado
415J	Tosa Mochi	Landrace	Sequeiro
418J	Aogara	Landrace	Sequeiro/Irrigado
12B07J	Japão 10	Desconhecido	Desconhecido

Informações referentes à Status e Tipo foram pesquisadas no site do National Institute of Agrobiological Science - NIAS. As informações de código e nome do acessos são de registros do banco de germoplasma de arroz do Departamento de Genética da ESALQ/USP.