

# ANÁLISE MULTIVARIADA DA DIVERGÊNCIA GENÉTICA DE GENÓTIPOS DE ARROZ SOB ESTRESSE POR FRIO DURANTE A GERMINAÇÃO

Filipe Luis Sávio<sup>1</sup>; Fátima Bosetti<sup>2</sup>; Daniel Sarto Rochar<sup>3</sup>; Felipe Furlaneto de Sousa<sup>4</sup>; Helena Pescarin Chamma<sup>5</sup>; Ana Dionísia L. C. Novembre<sup>6</sup>; José Baldin Pinheiro<sup>7</sup>

Palavras-chave: Tocher, Métodos de agrupamento, *Oryza sativa* L. Tolerância ao frio

## INTRODUÇÃO

No Rio Grande do Sul, o plantio do arroz ocorre dos meses de Setembro a Dezembro, dependendo da região em que será cultivado. Sendo que para maioria dos materiais a época ideal de plantio compreende o início do mês de Outubro ao meio do mês de Novembro e neste período a temperatura média destas regiões fica em torno de 15°C (OLIVEIRA, 1997).

A faixa ideal de temperatura para a germinação de arroz situa-se entre 20° e 35°C, sendo a temperatura mínima tolerável de 10°C (CRUZ & MILACH, 2004), temperaturas inferiores a 20°C geram perdas na germinação e/ou atraso no início e consequentemente retardo da emergência das plantas.

O bom desempenho durante a germinação é importante para garantir o desenvolvimento inicial e um estande uniforme (KRISHNASAMY & SESHU, 1989). Uma vez que as práticas de manejo não podem minimizar o problema, o melhoramento genético para seleção de genótipos superiores para tolerância ao frio na fase de germinação pode contribuir para um melhor estabelecimento da cultura em semeaduras precoces.

Na busca por cultivares superiores, a utilização da variabilidade genética nos cruzamentos de grupos geneticamente divergentes representa uma importante estratégia para obter ganhos de seleção. A importância da diversidade genética para o melhoramento reside no fato de fornecer parâmetros para a identificação de genótipos superiores, uma vez que a escolha de genitores para formação de populações segregantes é uma das principais decisões que o melhorista precisa tomar (BERTAN et al., 2006).

Neste contexto, a utilização de técnicas multivariadas é uma opção viável para esta finalidade, uma vez que permite múltiplas combinações de informações dentro da unidade experimental (MOREIRA et al., 2009). Vários métodos multivariados podem ser usados na predição da diversidade genética. Entre essas técnicas, as mais empregadas são: a análise por componentes principais, a análise por variáveis canônicas e os métodos de agrupamento, cuja aplicação depende da utilização de uma medida de dissimilaridade previamente estimada (OLIVEIRA et al., 2003).

Diante da importância econômica que a cultura do arroz assume em âmbito regional e nacional, a avaliação da diversidade genética de populações, para o caráter tolerância à salinidade, permitirá o conhecimento das melhores combinações híbridas, viabilizando a obtenção de genótipos superiores nas gerações segregantes. Neste trabalho objetivou-se avaliar a divergência genética, quanto à tolerância ao frio, entre genótipos de arroz, através de técnicas multivariadas.

<sup>1</sup>Doutorando em Genética e Melhoramento de Plantas, ESALQ-USP, Av. Pádua Dias, 11 Piracicaba-SP [filipe.savio@usp.br](mailto:filipe.savio@usp.br)

<sup>2</sup>Doutoranda em Genética e Melhoramento de Plantas, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz,

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz [sarto\\_rocha@gmail.com](mailto:sarto_rocha@gmail.com).

<sup>4</sup>Graduando em Tecnologia de Biocombustíveis, FATEC, [felipebiofuels@gmail.com](mailto:felipebiofuels@gmail.com)

<sup>5</sup>Técnica do Laboratório de sementes, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz [hmcpcbam@esalq.usp.br](mailto:hmcpcbam@esalq.usp.br)

<sup>6</sup>Professora Doutora, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, [adlenove@esalq.usp.br](mailto:adlenove@esalq.usp.br)

<sup>7</sup>Professor Doutor, Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, [baldin@esalq.usp.br](mailto:baldin@esalq.usp.br)

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Diversidade Genética e Melhoramento de Soja pertencente ao Departamento de Genética, na Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ-USP), localizado no município de Piracicaba-SP.

Foram utilizados 65 genótipos de arroz (*Oryza sativa* L.), sendo três deles padrões de tolerância (Quilla 66304, CT6748-8CA-17P e L-201) ao frio e os 62 restantes pertencentes ao banco de germoplasma de arroz da ESALQ-USP.

Sementes de todos os materiais foram colocadas para germinar em duas condições: 13 ° C por 28 dias (frio) e 28 ° C por sete dias (controle). Previamente as sementes foram esterilizadas com álcool 70% por 30 segundos e hipoclorito de sódio 5% durante 20 minutos, e lavadas seis vezes com água destilada estéril. As sementes foram colocadas em papel germitest contendo três camadas, umedecidas com água destilada. O experimento foi conduzido em um delineamento em blocos casualizados com três repetições.

Sendo coletados os seguintes dados: Comprimento total de parte aérea (CPA), comprimento total de radícula (CRA), Porcentagem de redução do comprimento de parte aérea (PREDCPA) e Porcentagem de redução do comprimento de radícula (PREDCRA). Estas duas últimas características foram avaliadas pela metodologia proposta por Cruz e Milach (2004).

As medidas de dissimilaridade foram determinadas segundo o modelo de análise multivariada, permitindo a obtenção das matrizes de dissimilaridade, de covariância residual e das médias dos genótipos. Foi aplicado o método de agrupamento de otimização de Tocher (CRUZ; CARNEIRO, 2003), utilizando a distância generalizada de Mahalanobis (D2) como medida de dissimilaridade. Utilizou-se, também, o critério de Singh (1981) para quantificar a contribuição relativa dessas características para a divergência genética. As análises foram realizadas utilizando o programa computacional Genes, versão 2007 (CRUZ, 2007).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao proceder a análise de variância verificou-se variabilidade genética para todos os caracteres avaliados, no entanto para este trabalho abordaremos somente os parâmetros multivariados analisados.

As medidas de dissimilaridade genética, estimadas a partir da distância de Mahalanobis (D2), apresentaram uma magnitude de 0,07911 a 453,6536, indicando a presença de ampla variabilidade genética para tolerância ao frio entre os genótipos estudados.

A combinação entre Toukyo Hirayama e CT6748-8CA-17P foi a mais divergente (D2 = 453,6536), seguida pela combinação entre CT6748-8CA-17P e Nourin Mochi 4 (D2 = 432,862), enquanto a menor distância foi obtida entre os genótipos Mogami Uruchi 1 e Mikuni No Homare (D2 = 0,07911), seguida pelo par Shiro Hige e Col/Tokushima/1967 (D2 = 0,4456). É interessante salientar que entre as maiores distâncias encontradas, o genótipo CT6748-8CA-17P esteve presente em praticamente todas as combinações, mostrando-se um genótipo bastante divergente dos demais.

A técnica multivariada de quantificação da distância de Mahalanobis (D2) permite quantificar a importância relativa de caracteres para a diversidade genética por meio da avaliação da contribuição destes para os valores de D2.

O parâmetro morfológico que apresentou a maior variação, por conseguinte, aquele que apresentou maior contribuição para a divergência entre os genótipos foi o comprimento de parte aérea durante a germinação sob regime de frio, o qual contribuiu com 28,60% para divergência total, enquanto que as variáveis relacionadas com o comprimento do sistema radicular contribuíram juntas com 10,17% (Tabela 01). Assim, entre as características estudadas, esta foi a mais eficiente para explicar a dissimilaridade entre os genótipos, devendo ser priorizadas em estudos de dissimilaridade cujo objetivo seja verificar a tolerância de genótipos de arroz submetidos ao frio.

*Tabela 01. Contribuição Relativa dos caracteres para divergência.*

VARIÁVEL	S <sub>i</sub>	VALOR (%)
PRECPA	20513,757082	15,9957
PRECPA	29646,400134	23,1169
CPANORMAL	28366,787394	22,1192
CRANORMAL	6783,334767	5,2893
CPAFRIO	36676,630933	28,5988
CRAFRIO	6258,39579	4,88

A análise de agrupamento pelo método de Tocher, baseada na matriz de Mahalanobis, separou os 65 genótipos em sete grupos distintos (Tabela 02). A formação desses grupos representa uma valiosa informação na escolha de genitores dentro de um programa de melhoramento, pois, segundo Bertan et al. (2006), as novas combinações híbridas a serem estabelecidas devem ser embasadas na magnitude de suas dissimilaridades.

O grupo 1 abrangeu 33 genótipos, dentre os quais os genótipos que apresentaram as menores dissimilaridades encontradas na matriz de Mahalanobis. Estes genótipos apresentaram comportamento semelhante para as variáveis de redução do comprimento de parte aérea e raiz.

De acordo com Cruz e Regazzi (2004), deve-se evitar a escolha de indivíduos de mesmo padrão de dissimilaridade nos cruzamentos, de modo a não restringir a variabilidade genética e, assim, evitar reflexos negativos nos ganhos a serem obtidos pela seleção. Desta forma, o cruzamento entre os genótipos Quilla 66304 e CT6748-8CA-17P seria o menos indicado para obtenção de genótipos tolerantes ao frio, pois se sabe que, as melhores combinações híbridas a serem testadas em um programa de melhoramento devem envolver parentais tanto divergentes como de elevado desempenho médio.

Dezoito genótipos formaram o segundo grupo e apresentaram dissimilaridade média de D2 = 26,12. Nestes genótipos são observadas algumas das melhores repostas para o desempenho relativo referente aos caracteres de tolerância ao frio, indicando serem os mais tolerantes ao frio.

De acordo com o desempenho relativo frente ao estresse, os genótipos Kozo e Col/Ooita/1964 apresentaram os melhores resultados, sendo, portanto, os mais tolerantes ao frio na temperatura de 13°C e, desta forma, os mais indicados para obtenção de êxitos em cruzamentos que visem esse caráter. Por outro lado, Chousen apresentou as maiores reduções para os caracteres estudados, mostrando-se um genótipo sensível ao frio. Assim, seria o menos indicado para combinações híbridas, uma vez que a escolha dos genótipos para novos cruzamentos devem ser baseadas também no seu potencial agronômico.

No terceiro grupo estão Kyuushuu e Nourin Mochi 1, com dissimilaridade média de D2 = 14,85. No quarto e quinto grupos ficaram as testemunhas tolerantes (Quilla 66304, CT6748-8CA-17P e L-201), finalizando com dois grupos formados pelos dois genótipos de menor performance (Chousen).

*Tabela 02. Padrão original de agrupamento pelo Método de Tocher - Distância Mahalanobis*

Grupos	Indivíduos
01	30 50 6 35 49 32 20 34 38 2 63 39 53 58 12 40 59 64 21 56 61 37 41 15 33 22 62 48 54 29 28 60 47 65 57 45 55 10 25 46
02	3 17 4 7 8 42 43 51 27 14 19 26 11 13 16 1 9 18
03	23 31
04	24 52
05	5
06	44
07	36

Como se pode observar, o método de agrupamento de Tocher, aqui utilizado, foi eficiente em discriminar as cultivares quanto à diversidade para tolerância ao frio, de forma que a cultivar mais tolerante (Quilla 66304) e a mais sensível (Chousen) tiveram elevada divergência D2=187,52.

Assim como neste trabalho, inúmeros outros, com diferentes espécies, têm comprovado que a análise da divergência genética através de procedimentos multivariados, como a distância generalizada de Mahalanobis e o método de agrupamento de otimização de Tocher, concordantes entre si, é eficiente na discriminação de genótipos. Ao avaliar a

divergência genética entre acessos de *Capsicum* spp., Faria (2009) confirmou a eficiência de análises multivariadas na caracterização da variabilidade genética no estudo de germoplasma. Coimbra et al. (2010) realizaram a caracterização e divergência genética de populações de milho do Sudeste de Minas Gerais e Bertini et al. (2010), estudando a divergência genética entre genótipos de coentro, também obtiveram sucesso ao utilizar variáveis multicategóricas na discriminação de genótipos, bem como Campos et al. (2010) ao quantificar a divergência genética entre acessos de mandioca. Estas evidências experimentais comprovam que as análises multivariadas são eficientes para discriminar os indivíduos, geneticamente, permitindo agrupá-los de tal forma que exista homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre grupos.

## CONCLUSÃO

Os métodos de cálculo da matriz de dissimilaridade pela técnica de Mahalanobis e a otimização de Tocher são concordantes entre si, seguindo a mesma tendência de agrupamento dos genótipos. As características comprimento de parte aérea, porcentagem de redução de parte aérea e porcentagem de redução comprimento de raiz são as que mais contribuem para dissimilaridade genética, existindo variabilidade para tolerância ao frio entre os 65 genótipos de arroz testados. Os genótipos Quilla 66304, CT6748-8CA-17PE, Kozo e Col/Ooita/1964 são os mais promissores para cruzamentos e obtenção de progênies superiores quanto à tolerância ao frio, enquanto o genótipo Choosen é o menos indicado por apresentar sensibilidade ao frio.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERTAN I, CARVALHO FIF, OLIVEIRA AC, SILVA JAG, BENIN G, VIEIRA EA, SILVA GO, HARTWIG I, VALÉRIO IP and FINATTO T Dissimilaridade genética entre genótipos de trigo avaliados em cultivo hidropônico sob estresse por alumínio. *Bragantia* 65:55-63,2006.
- BERTINI, C. H.de M.; PINHEIRO, E.A.R.; NOBREGA, G. N. and DUARTE, J. M. de L. Desempenho agrônomico e divergência genética de genótipos de coentro. *Rev. Ciênc. Agron.* 2010, vol.41, n.3, pp. 409-416.
- CAMPOS, A. L., ZACARIAS, A.J., COSTA, D.L., NEVES, L.G., BARELLI, M.A.A., SOBRINHO, S.P., LUZ, P.B. Avaliação de acessos de mandioca do banco de germoplasma da UNEMAT Cáceres - Mato Grosso. *Revista Trópica - Ciências Agrárias e Biológicas*, v. 04, n. 02, p. 44-54, 2010.
- COIMBRA, R. R., MIRANDA, G.V., CRUZ, C.D., MELO, A.V., ECKERT, F.R. Caracterização e divergência genética de populações de milho resgatadas do Sudeste de Minas Gerais. *Revista Ciência Agronômica*, v. 41, n. 01, p. 159-166, 2010
- CRUZ RP da & MILACH SCK Cold tolerance at the germination stage of rice: Methods of evaluation and characterization of genotypes. *Scientia Agricola* 61:1-8, 2004.
- CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. Modelos Biométricos Aplicados ao Melhoramento Genético. Viçosa: Editora UFV, 2003. 585 p.
- CRUZ, C. D. Programa Genes: Aplicativo computacional em genética e estatística. Versão Windows - 2007, Viçosa, UFV.
- KRISHNASAMY, V.; SESHU, D.V. Seed germination rate and associated characters in rice. *Crop Science*, v.29, p.904-908, 1989.
- MOREIRA, R. M. P., FERREIRA, J.M., TAKAHASHI, L.S.A., VASCONCELOS, M.E.C., GEUS, L.C., BOTTI, L. Potencial agrônomico e divergência genética entre genótipos de feijão-vagem de crescimento determinado. *Semina: Ciências Agrárias*, v. 30, suplemento 1, p. 1051-1060, 2009.
- OLIVEIRA FJ, ANUNCIACÃO FILHO CJ, BASTOS GQ and REIS OV Divergência genética entre cultivares de caupi. *Pesquisa agropecuária brasileira* 38: 605-611, 2003.
- OLIVEIRA, H.T. de. Climatologia das temperaturas mínimas e probabilidade de ocorrência de geada no Estado do Rio Grande do Sul. Porto Alegre: UFRGS, 1997. 81p. (Dissertação - Mestrado).
- SINGH, D. The relative importance of characters affecting genetic divergence. *The Indian Journal of Genetic and Plant Breeding*, v. 36, p. 237-245, 1981.