

THIAGO GLEDSON RIOS TERRA

**FENÔMICA E IDENTIFICAÇÃO DE QTLs PARA CARACTERES DE RAIZ EM  
ARROZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Fitotecnia para a obtenção do título de  
*Doctor Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS - BRASIL  
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e  
Classificação da Biblioteca Central da UFV**

T

Terra, Thiago Gledson Rios, 1982-  
T323f Fenômica e identificação de QTLs para caracteres de raiz  
2014 em arroz / Thiago Gledson Rios Terra. – Viçosa, MG, 2014.  
x, 80f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Aluizio Borém de Oliveira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Arroz. 2. *Oryza sativa* L. subesb. *japônica*. 3. Sistema radicular. 4. Plantas - Engenharia genética. 5. QTL.  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.18

THIAGO GLEDSON RIOS TERRA

**FENÔMICA E IDENTIFICAÇÃO DE QTLs PARA CARACTERES DE RAIZ EM  
ARROZ**

Tese apresentada à Universidade Federal de Viçosa,  
como parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Fitotecnia para a obtenção do título de  
*Doctor Scientiae*.

**APROVADA:** 25 de fevereiro de 2014.

---

**Carlos Nick Gomes**

---

**Anna Cristina Lanna**

---

**Cosme Damião Cruz**  
Coorientador

---

**Paulo Hideo Nakano Rangel**  
Coorientador

---

**Aluízio Borém de Oliveira**  
Orientador

À DEUS, mestre dos mestres, por  
ter me dado vida, paz e saúde, e  
aos meus pais Maciel Alves Terra  
e Rita Rios Terra.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

À DEUS sobre tudo em minha vida, por tudo o que me proporcionou e continua me proporcionando.

À Nossa Senhora Aparecida, mãe intercessora e Santa protetora.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Pós-Graduação em Fitotecnia pela oportunidade de fazer parte dessa excelente instituição de ensino.

À Embrapa pela oportunidade de executar os trabalhos da tese e pela bolsa de doutorado concedida inicialmente.

À Capes pela bolsa concedida durante os dois anos finais de doutorado.

À Pioneer pelo apoio financeiro nas atividades desenvolvidas durante o doutorado.

Ao professor PhD. Aluizio Borém pelos ensinamentos, apoio, orientação e amizade.

Aos pesquisadores Dr. Paulo Hideo Nakano Rangel e PhD. Márcio Elias Ferreira pelos ensinamentos, orientação e amizade.

Ao professor e pesquisador Dr. Cosme Damião Cruz pelos ensinamentos, orientações.

Ao mestre e amigo professor Dr. Tarcísio Castro Alves de Barros Leal pelo apoio.

Aos professores da Universidade Federal de Viçosa pelos imprescindíveis ensinamentos nas mais diversas áreas.

Às amigas que conquistei durante o período que permaneci em Viçosa e em Goiânia.

Aos profissionais que tive a oportunidade e o imenso prazer de trabalhar junto no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão em especial à Neide, Marta, João Crispim, João Mário, Divino, Eurípedes, Waltterlenne, Salvador, João Batista, João Antônio... e aos da Fazenda Palmital, Ailton, Nenzinha, Zé Cordeiro, Renato, Beбето...

Ao técnico e gerente da Fazenda Palmital Leandro Pimenta pelo apoio e amizade.

Aos estagiários da Embrapa Arroz e Feijão, em especial a Ludivina, João Paulo, Leandro, Rodolfo, Jessé e a todos aqueles que auxiliaram na execução dos trabalhos de tese.

Aos doutores Jaison, Aluana e Joaquim pelo apoio, presteza e bom humor dispensados no período que estive em Goiânia.

Aos meus pais Maciel Alves Terra e Rita Rios Terra que foram, e continuam sendo, incansáveis guerreiros para minha educação e formação.

À minha esposa Tarliane Martins Tavares pelo apoio, amizade e companheirismo.

Aos meus irmãos Théó Gladstone Rios Terra e Teddy Diogo Rios Terra pelo apoio, amizade e companheirismo.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>ix</b>
<b>1. INTRODUÇÃO GERAL</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>4</b>
<b>2.1 A cultura do arroz</b>	<b>4</b>
<b>2.1.1 Germoplasma de arroz</b>	<b>5</b>
<b>2.1.2 Coleção nuclear de arroz</b>	<b>6</b>
<b>2.1.3 O sistema radicular do arroz</b>	<b>8</b>
<b>2.2 Metodologias para avaliar raízes</b>	<b>9</b>
<b>2.3 Marcadores moleculares</b>	<b>12</b>
<b>2.3.1 Marcadores Single Nucleotide Polymorphism (SNP)</b>	<b>13</b>
<b>2.3.2 Chip de DNA</b>	<b>15</b>
<b>2.3.3 Locos de Característica Quantitativa - QTLs</b>	<b>16</b>
<b>3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>17</b>
<b>4. CAPÍTULO 1</b>	<b>26</b>
<b>Fenômica do sistema radicular em plantas por meio de metodologia não destrutiva</b>	<b>26</b>
<b>Resumo</b>	<b>26</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>27</b>
<b>2. Material e Métodos</b>	<b>29</b>
<b>3. Resultados e Discussão</b>	<b>34</b>
<b>4. Conclusão</b>	<b>43</b>
<b>5. Referências bibliográficas</b>	<b>44</b>
<b>5. CAPÍTULO 2</b>	<b>47</b>

<b>Fenômica radicular em uma coleção nuclear de arroz de terras altas</b>	<b>47</b>
<b>Resumo</b>	<b>47</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>47</b>
<b>2. Material e Métodos</b>	<b>49</b>
<b>3. Resultados e Discussão</b>	<b>51</b>
<b>4. Conclusão</b>	<b>60</b>
<b>5. Referências Bibliográficas</b>	<b>60</b>
<b>6. CAPÍTULO 3</b>	<b>63</b>
<b>Identificação de QTLs para características do sistema radicular em arroz de terras altas por meio de Chip de DNA</b>	<b>63</b>
<b>Resumo</b>	<b>63</b>
<b>1. Introdução</b>	<b>63</b>
<b>2. Material e Métodos</b>	<b>65</b>
<b>3. Resultados e Discussão</b>	<b>68</b>
<b>4. Conclusões</b>	<b>76</b>
<b>5. Referências bibliográficas</b>	<b>76</b>
<b>7. Conclusões Gerais</b>	<b>80</b>

## RESUMO

TERRA, Thiago Gledson Rios, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2014. **Fenômica e identificação de QTLs para caracteres de raiz em arroz.** Orientador: Aluizio Borém de Oliveira. Coorientadores: Paulo Hideo Nakano Rangel, Márcio Elias Ferreira e Cosme Damião Cruz.

Os objetivos desse trabalho foram: desenvolver uma nova metodologia de fenotipagem radicular em plantas por meio de técnica não destrutiva ao longo do ciclo; avaliar o sistema radicular em uma coleção nuclear de arroz de terras altas formada por 87 acessos; construir mapas cromossômicos com marcadores SNP's e identificar QTLs para variáveis do sistema radicular em uma população de linhas segregantes de arroz de terras altas. O primeiro experimento foi desenvolvido em condição de casa telada cujo delineamento foi o de blocos casualizados, com quatro repetições. Cada parcela constou de um cano de PVC com um tubo de acrílico instalado no interior, envolto com latossolo vermelho, contendo três plantas de arroz. Semanalmente um *scanner* de raiz (CI-600) era inserido no tubo de acrílico gerando uma imagem, na profundidade de 5 a 25 cm e outra, na profundidade de 25 a 45 cm. Essas imagens foram quantificadas pelo *software WinRhizo*, disponibilizando as variáveis comprimento total, área de contato, diâmetro médio e volume. Os genótipos avaliados apresentaram diferenças significativas entre si e entre as profundidades avaliadas por meio da análise conjunta para as variáveis comprimento e área de contato. Quanto ao diâmetro médio e volume foram encontradas diferenças apenas entre as profundidades. O genótipo Azucena apresentou-se superior aos demais para as variáveis comprimento e área de contato. Ao se avaliar a soma das duas imagens para cada genótipo foram encontradas diferenças entre os mesmos para todas as variáveis com exceção do diâmetro. Essa metodologia mostrou-se eficiente, relativamente rápida, não destrutiva e com a vantagem de se obter dados ao longo do período de desenvolvimento das plantas. No segundo experimento foram utilizados 87 acessos pertencentes à CNAS da Embrapa em delineamento de blocos completos ao acaso, com três repetições, em condição controlada. Foi utilizada uma metodologia não destrutiva com a digitalização de imagens através de um *scanner* de raiz (CI – 600 *Root Scan*). As raízes foram quantificadas com o auxílio do *software WinRhizo*, versão 2008. Os genótipos que mais se destacaram para a condição de casa telada na profundidade de 5 a 25 cm foram Cajueiro Liso e Panamá. Já na profundidade de

25 a 45 cm os destaques ficaram por conta de Meruim Ligeiro, Samambaia Amarelo e Legítimo. Tomando como base uma dissimilaridade de 20% entre os genótipos da CNAS foram formados nove grupos por meio do método de agrupamento do vizinho mais distante mostrando a presença de grande variabilidade entre os mesmos para caracteres de raiz. No terceiro experimento foi avaliada uma população  $F_{2:3}$  composta por 150 famílias provenientes do cruzamento entre as variedades IAC 165 x BRS Primavera. A genotipagem foi feita na população  $F_2$  através de 1061 marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). Esses marcadores foram agrupados pela técnica conhecida por *Chip* de DNA (ou *DNA Microarray*). Para a formação dos mapas genéticos foi utilizado um *LOD Score* de 3,0, e para a formação dos QTLs um LOD acima de 2,5. Um bioensaio de fenotipagem na população  $F_3$  foi conduzido em blocos ao acaso com três repetições, sob condição de casa telada. A avaliação do sistema radicular foi realizada por intermédio da geração de imagens pelo *scanner* de raiz CI-600 e quantificação através do *software WinRhizo*. As variáveis analisadas foram comprimento (COM), área de contato da raiz (ACR) e volume (VOL) nas profundidades de 5 a 25 cm (1) e de 25 a 45 cm (2). O mapa genético originado foi composto por 1061 marcadores SNP e apresentaram comprimento total de 1424 cM. O cromossomo com maior área de cobertura foi o número 3 com 270 cM (100 SNP's), seguido pelos cromossomos 1, com 249 cM (170 SNP's), e 2 com 163 cM (99 SNP's). Para as variáveis do sistema radicular estudadas COM (1), COM (2), ACR (1) e ACR (2) foram encontrados QTLs nos cromossomos 1 e 3. Para VOL (2) foram encontrados dois QTLs no cromossomo 1.

**Palavras chave:** metodologia de raiz, *Oryza sativa* L. subsp. *japônica*, coleção nuclear de arroz, mapa genético, QTL.

## ABSTRACT

TERRA, Thiago Gledson Rios, D. Sc., Universidade Federal de Viçosa, february, 2014. **Next-Generation phenotyping and identification of QTLs to characters of root at rice.** Adviser: Aluizio Borém de Oliveira. Co-Advisers: Paulo Hideo Nakano Rangel, Márcio Elias Ferreira and Cosme Damião Cruz.

The objectives of this study were to evaluate the root system in genotypes of upland rice by a new methodology in situ; conduct a bioassay to phenotyping root traits in a Core Collection of Rice for Drought (CNAS) and build a genetic map and identification of quantitative trait loci (QTL) that control variables of the root system in rice. The first experiment was conducted in the greenhouse condition whose experimental design was randomized complete block with four replications. Each experimental plot consisted of a PVC pipe with an acrylic tube fitted inside, wrapped with haplustox containing three rice plants. A weekly root scanner (IC-600) was inserted in the acrylic tube and generating an image, in depth of 5 to 25 cm and the other at a depth 25 to 45 cm. These images were quantified by means of software WinRhizo by providing the variable total length of the root, contact area, diameter and volume. The genotypes showed significant differences between them and between depths evaluated through joint analysis for the variables length and contact area. As for the average diameter and volume differences were found between the depths only. The genotype Azucena was superior to the others for the variables length and contact area. When evaluating the sum of the two images for each genotype differences were found between the same for all variables except for diameter. This method proved to be efficient, relatively fast, non-destructive and with the advantage of obtaining data over the period of plant development. The second experiment used 87 accessions belonging to CNAS Embrapa in randomized block design with three replications on condition of the greenhouse. Was used a non-destructive method with scanning images via a scanner root (CI - 600 Root Scan). The roots were quantified with the aid of software WinRhizo, 2008 version. The genotypes that stood out for the condition of the greenhouse in the depth 5-25 cm were Cashew Smooth and Panamá. Already at depth 25-45 cm the highlights were the Meruim Ligeiro, Samambaia Amarelo, and Legítimo. Based on 20% dissimilarity between genotypes of CNAS nine groups were formed by the method of grouping the farthest neighbor showing the presence of large variations among the same for root traits. The third

experiment was assessed a population  $F_{2:3}$  consisted of 150 families from the cross between IAC 165 x BRS Primavera. Genotyping was performed in the  $F_2$  population by 1397 SNPs (Single Nucleotide Polymorphism). These markers were grouped by technique known as DNA chip (or DNA Microarray). For the formation of genetic maps we used a LOD score of 5.0, and for the formation of one QTL LOD above 2.5. A bioassay phenotype in the  $F_3$  population was conducted in a randomized block design with three replications under the greenhouse condition. The evaluations of the root system were determined by the generation of images through the scanner root CI-600 and quantification WinRhizo through software. The variables analyzed were length (COM), the contact area in 3D (A3D) and volume (VOL) at depths 5-25 cm (1) and 25-45 cm (2). The genetic map was composed in 1061 originated SNP markers and had a total length of 1424 cM. The chromosome formed with larger coverage area by the markers was number 3 with 270 cM (170 SNP's), followed by chromosome 1 with 249 cM (170 SNP's) and 2 with 163 cM (99 SNP's). For variables COM (1) COM (2), ACR (1), ACR (2) and VOL (1) were found QTLs on chromosomes 1 and 3. As for the variable VOL (2) were observed two QTLs on chromosome 1.

**Key words:** root methodology, *Oryza sativa* L. subsp. *japonica*, core collection of rice, genetic map, identifying QTL.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

As raízes desempenham papel de grande importância na vida das plantas, servindo como sustentação e meio de absorção da água e nutrientes (Taiz e Zeiger, 2004), além da interação simbiótica que elas mantêm com outros organismos (Herder et al., 2010). O sistema radicular é uma parte da planta de frequentes estudos, pois tem potencial para estabilizar ou até mesmo aumentar a produção em condições adversas, tais como, solos salinos, ácidos ou com deficiência hídrica, resistência às pragas e doenças de raiz, e de reduzir o uso de fertilizantes (Topp et al., 2013), principalmente para aqueles com reservas naturais limitadas, como é o caso do fósforo (Gamuyao et al., 2012).

Historicamente, o estudo de processos subterrâneos envolvendo crescimento das raízes e a cinética de absorção de água e de nutrientes tem sido um grande desafio para cientistas, pois o solo atua como uma barreira para a observação e avaliação *in loco* dos processos fisiológicos e morfológicos das raízes (Abreu, 2005). A avaliação em termos de arquitetura radicular, comprimento das raízes e volume explorado é um processo trabalhoso e grandes dificuldades são encontradas em qualquer técnica de amostragem, como o tempo gasto, a limitada informação obtida e a grande variabilidade dos resultados (Fante Júnior e Reichardt, 1994; Dubrovskya e Forde, 2012). Portanto, os desafios são enormes.

Dubrovskya e Forde (2012) relataram que a diferença entre valores encontrados para raízes laterais de um mesmo genótipo chegam a 40 vezes dependendo da metodologia de quantificação. Desta forma, a coleta de informações sobre o crescimento das raízes no campo é uma missão árdua, e às vezes sem o devido rigor científico (Dubrovskya e Forde, 2012; Topp et al., 2013).

Böhm (1979), Shashidar et al. (2013), descrevem várias metodologias que são utilizadas ou serviram de base para outras metodologias visando avaliar raízes em plantas por meio da quantificação direta ou indireta.

Nesse sentido, uma metodologia de avaliação do sistema radicular em plantas com resultados eficientes, sendo avaliado, preferencialmente *in loco* e ao longo do crescimento, otimizando o tempo e o trabalho dispensados, seria, com certeza, uma importante ferramenta na tomada de decisões em diversas atividades, principalmente na

pesquisa. Isso englobaria o termo atualmente conhecido como Fenômica, que é a fenotipagem em larga escala, de forma acurada, precisa e dentro de custos aceitáveis (Fritsche-Neto e Borém, 2013).

A fenômica radicular pode auxiliar na busca por genótipos mais adaptados às condições de estresses bióticos ou abióticos, os quais são contínuos focos de investigação nos programas de melhoramento para as mais variadas espécies. No caso do arroz de terras altas, algumas características relacionadas ao sistema radicular são de fundamental importância para a cultura, tais como tolerância ao estresse por deficiência hídrica (Henry et al., 2011; Nguyen et al., 1997), eficiência na absorção de nutrientes (Li et al., 2009), tolerância a solos salinos ou ácidos, resistência a pragas e doenças (Oliveira et al., 2010), e, crescimento em regiões com solos compactados.

Em alguns casos, a disponibilidade de informações para o melhoramento em relação a determinadas características é precária, pois o conhecimento de caracteres fenotípicos é limitado nas grandes coleções de germoplasma, ainda mais quando se trata do sistema radicular, cujos desafios são muito grandes. O conhecimento da diversidade genética nessas coleções, expressa através dos caracteres fenotípicos, é ferramenta essencial na escolha mais acertada dos genitores. Porém, ainda ocorrem nas coleções de germoplasma, dificuldades em se realizar a avaliação, caracterização e documentação devido o grande número de genótipos.

Devido à falta de informação, apenas cerca de 4% dos acessos armazenados em todo o mundo vêm sendo utilizados (Vasconcelos, et al. 2007). Existe, portanto, a possibilidade de se trabalhar com uma amostra representante do *background* genético da população original, conhecida, nesse caso, como *Core Collection* ou *Coleção Nuclear* (Frankel e Brown, 1984). Pessoa-Filho et al. (2007) desenvolveram uma coleção nuclear temática de arroz para seca, formada por 86 genótipos de arroz de terras altas (*Oryza sativa* subesp. japônica) provenientes das variedades tradicionais de coleta no Brasil, intitulada *Coleção Nuclear Temática de Arroz para Seca* (CNAS).

O entendimento dos caracteres de raiz nessa CNAS auxiliaria na busca direta por genótipos para diversas características relacionadas ao sistema radicular pelos programas de melhoramento. Além de estudos dos caracteres de raiz como tipo de segregação, formação de linhagens segregantes e/ou de linhas puras para estudos

genômicos como identificação de regiões no cromossomo que controlam características de origem quantitativa para raiz (QTL).

Para a eficiente identificação de QTLs que controlem características do sistema radicular em arroz é necessário genotipagem cujos marcadores abranjam boa cobertura do genoma da espécie, além da eficiente fenotipagem. Esses QTLs podem ser identificados em uma população  $F_2$  oriunda de genitores contrastantes para o sistema radicular. O número e a qualidade dos marcadores moleculares utilizados na genotipagem refletem, em muito, na boa construção dos mapas de ligação e na identificação dos QTLs.

Tendo em vista a importância do sistema radicular para a cultura do arroz de terras altas os objetivos desta tese foram:

a) Desenvolver e aplicar uma nova metodologia de fenotipagem do sistema radicular em plantas, com auxílio do scanner de raiz CI – 600 (*Root Scan*) e do software WinRhizo, de forma não destrutiva ao longo do ciclo da cultura.

b) Conduzir um bioensaio para a fenotipagem do sistema radicular e construir um dendograma de dissimilaridade entre os genótipos em uma coleção nuclear temática de arroz de terras altas (*Oryza sativa* L. subesp. japônica) formada por 87 acessos.

c) Construir mapas cromossômicos com marcadores SNP's em uma população  $F_{2:3}$  de arroz de terras altas e conduzir um bioensaio para fenotipagem de características do sistema radicular para identificar QTLs relacionados a variáveis de raiz.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 A cultura do arroz

O arroz é uma gramínea hidrófila cujo processo evolutivo o conduziu a adaptar-se às mais variadas condições de solo e de clima. Está posicionado entre os principais cereais cultivados e consumidos em todo mundo, principalmente nos países em desenvolvimento, constituindo a base alimentar de cerca de 2,5 bilhões de pessoas. A maior parte da produção e do consumo de arroz ocorre no continente asiático, representando mais de 90% da produção mundial (Wailes e Chavez, 2012), e em todos os países produtores, é a base da alimentação, fornecendo de 50 a 80% das calorias diárias para a população daquela região (Maclean et al., 2002). Entre os anos de 2001 a 2004 o consumo desse cereal foi superior à produção, reduzindo os estoques mundiais. Porém, a partir de 2005 houve um pequeno excedente na produção em relação ao consumo até a safra 2012, quando voltou a apresentar um consumo maior que o total produzido (RICESTAT, 2013).

Em geral, o arroz é cultivado sob dois sistemas, no sistema de *várzea*, irrigado por inundação, e outro o sistema de *terras altas* (conhecido anteriormente como sistema de *sequeiro*), englobando cultivos com água dependente das chuvas ou de irrigação suplementar (Castro et al., 1999). De acordo com Rangel (2008), as condições de cultivo a que são submetidas as cultivares sob o segundo sistema são bastante diferentes daquelas encontradas no cultivo em várzeas, considerando-se tanto a presença de oxigênio no solo quanto a disponibilidade de água.

No Brasil, grande produtor e consumidor deste cereal, a maior parcela da produção é proveniente dos ecossistemas de várzeas, os quais são irrigados por inundação. Até a safra 2011/2012 a área plantada nos dois sistemas apresentava certa paridade, apresentando um aumento no sistema de várzea na safra 2012/2013 (Conab, 2013). No entanto, o plantio em terras altas, apresenta significativa relevância no contexto nacional, principalmente por ser produto típico da agricultura familiar.

A pesquisa tem buscado novas variedades com potenciais de produção superiores aos já existentes e melhor adaptadas às condições edafoclimáticas estressantes, como, por exemplo, aquelas causadas pelo déficit hídrico (Uga et al.,

2013). Para os programas de melhoramento para o arroz de terras altas o maior desafio é a estabilidade da produção, mesmo sob condição de déficit hídrico, e dentre as principais características para tolerância à seca está a habilidade de genótipos em emitir raízes mais profundas e explorar camadas mais úmidas do solo, e, assim, absorver água (Nguyen et al., 1997; Uga et al., 2013).

Os mecanismos fisiológicos de tolerância à seca estão relacionados ao uso moderado da água pela planta, redução da área foliar, controle da perda de água pelas folhas e habilidade das raízes em explorar camadas mais profundas do solo (Nguyen et al., 1997). Tais respostas envolvem maior relação entre raiz e parte aérea, diminuição do volume das células, aumento da concentração do protoplasto, diminuição do tamanho das folhas, dissipação de energia da folha, ajuste osmótico mais eficiente, regulação estomática, acúmulo de metabólitos e resistência à desidratação das células (Larcher, 2004; Taiz e Zeiger, 2004). A pouca cera cuticular no arroz é fator limitante à economia de água pelas folhas nesta cultura (Fukai e Cooper, 1995).

Algumas características de grande importância agrônômica na planta de arroz dependem do sistema radicular e são variáveis de acordo com o germoplasma, como por exemplo, tolerância à condição de estresse de seca (Henry et al., 2011; Nguyen et al., 1997, Uga et al., 2013), eficiência na absorção de nutrientes, principalmente fósforo (Li et al., 2009), sustentação ao acamamento, resistência a pragas (Oliveira et al., 2010) e doenças de raiz. Muitos dos efeitos encontrados na parte aérea das plantas são consequências do que ocorre no sistema radicular. Assim, respostas para determinadas características acima do solo tornam-se mais completas quando também se compreende o que acontece abaixo da superfície do solo nos diferentes genótipos, principalmente, quanto ao crescimento e à distribuição de raízes no perfil (Vasconcelos et al., 2003).

### **2.1.1 Germoplasma de arroz**

O arroz pertence à tribo *Oryzeae*, família *Poaceae* (*Gramineae*), subfamília *Oryzoideae* e gênero *Oryza*. Esse gênero possui 24 espécies distribuídas nos trópicos e sub trópicos, sendo cultivadas apenas duas espécies: *Oryza sativa* L. e *Oryza glaberrima* Steud, a primeira originária da Ásia e a segunda, provavelmente da África

Ocidental (IRRI, 2013). No Brasil a espécie predominante é *Oryza sativa* L., a qual antigamente abrangia três subespécies: *japônica*, *javânica* e *indica*. Porém, estudos posteriores mostraram que a subesp. *javânica* foi fruto de uma seleção feita dentro do grupo *indica*, realizada principalmente na Indonésia (Pereira, 2002). Em geral, genótipos cultivados no sistema irrigado em ambiente anaeróbico são da subesp. *indica* e materiais cultivado no sistema terras altas em ambiente aeróbico são da subesp. *japônica*.

A Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) Arroz e Feijão possui um Banco Ativo de Germoplasma (BAG) com um acervo de aproximadamente 27.006 acessos de arroz, sendo 2.732 variedades tradicionais coletadas no Brasil, 7.080 linhagens ou variedades oriundas de programas de melhoramento, 238 acessos de espécies silvestres coletadas no Brasil (*Oryza glumaepatula*, *Oryza grandiglumis*, *Oryza alta* e *Oryza latifolia*), e ainda, 16.956 acessos provindos da Coleção de arroz dos Estados Unidos (Rangel et al., 2013). O uso desses acessos como fonte de variabilidade genética para inúmeras características desejáveis nos programas de melhoramento é, com certeza, de grande valia para a humanidade, e o conhecimento desse *background* genético é indispensável quando se trata da busca de alelos de interesse.

Existe, porém, a dificuldade em realizar nessas coleções, a avaliação, caracterização e documentação devido ao grande número de genótipos. Assim, apenas cerca de 4% dos acessos armazenados em todo o mundo vêm sendo utilizados (Vasconcelos et al., 2007). Para isso, existe a possibilidade de se trabalhar com uma amostra que represente o *background* genético da população original, que nesse caso é conhecida como *Core Collection* ou *Coleção Nuclear* (Frankel e Brown, 1984). Esta estratégia permite priorizar e concentrar a aplicação de recursos de modo a formar uma base de informação mais completa sobre este conjunto de acessos levando efetivamente a uma ampliação no uso do germoplasma (Abadie, 2005).

### **2.1.2 Coleção nuclear de arroz**

A Embrapa Arroz e Feijão (CNPAP) possui uma Coleção Nuclear de Arroz (CNA) constituída por 550 acessos da espécie *O. sativa* L., que equivale a cerca de 5,6% de todo o acervo de arroz, com exceção da coleção americana. Essa CNA é

formada por 308 variedades tradicionais coletadas nas últimas quatro décadas no Brasil, 94 linhagens/cultivares melhoradas oriundas de programas de melhoramento do Brasil e 148 cultivares/linhagens introduzidas de programas de melhoramento de outros países (Abadie et al., 2005). Esta coleção foi caracterizada com base em descritores morfológicos e agronômicos, onde os dados estão disponíveis em <http://www.cnpaf.embrapa.br/cnae> (Rangel et al., 2013).

Após diversos trabalhos e estudos, realizados por pesquisadores do Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia (Embrapa-Cenargen) e do CNPAF, na busca por uma coleção divergente e representativa de materiais destinados a terras altas, chegou a um grupo formado por 548 acessos de arroz. Este grupo era formado pelas *subespécies indica*, *japônica* e cruzamentos entre ambas, havendo, porém, o intuito de formar uma coleção de acessos destinados a *terras altas*, ou seja, apenas do grupo *japônica*. Foram realizados, então, diversos estudos de genotipagem, obtendo-se uma coleção menor formada por 485 acessos de arroz apenas do grupo *japônica* (Pessoa-Filho et al., 2007)

Com intuito de desenvolver coleções temáticas com foco em determinadas áreas, Pessoa-Filho et al. (2007) desenvolveram uma coleção nuclear temática para tolerância à seca, que é formada 86 genótipos de arroz de terras altas (*Oryza sativa* subesp. *japônica*) provenientes das variedades tradicionais de coleta intitulada *Coleção Nuclear de Arroz para Tolerância à Seca* (CNAS). Tal coleção foi formada por meio de genotipagem, chegando a um grupo constituído por 86 acessos, os quais representam aproximadamente 85% da riqueza alélica da coleção anterior formada pelos 485 acessos anteriormente citados. Com essa nova coleção nuclear foi possível trabalhar de forma mais eficiente, minimizando o erro experimental, e com grande representatividade genética.

Diversos trabalhos vêm sendo realizados com essa coleção nuclear de arroz para tolerância à seca (CNAS). Terra (2008) avaliou os genótipos pertencentes à CNAS sob as condições de irrigação conforme a necessidade da cultura (Stone et al. 1987) e sob estresse de seca. Foi verificada a presença de diferenças significativas para as variáveis: florescimento, altura, esterilidade das espiguetas, grãos por panícula, peso de 100 grãos, número de perfilhos, de panículas e produtividade. Castro Neto (2009) realizou estudos nessa CNAS de acordo com o efeito das doenças bruzone na folha e na

panícula, mancha parda, escaldadura e mancha dos grãos, na região de Formoso do Araguaia – TO. Adorian (2010) caracterizou a CNAS juntamente com outros 9 genótipos com base em 34 descritores agrônômicos e morfológicos (IRRI & WARDA, 2007).

O conhecimento da diversidade genética em coleções de germoplasma expressa através dos caracteres fenotípicos é ferramenta essencial na escolha mais acertada dos genitores nos programas de melhoramento. A análise da diversidade genética se destina à identificação de genitores mais adequados à obtenção de híbridos com maior efeito heterótico, proporcionando maior segregação em recombinações, possibilitando o aparecimento de transgressivos (Cruz e Carneiro, 2006).

### **2.1.3 O sistema radicular do arroz**

O sistema radicular do arroz, como é típico nas gramíneas, é do tipo fasciculado, sem o predomínio de uma raiz principal. Contudo, na ocasião da germinação uma raiz principal, conhecida como radícula ou raiz seminal, é originada, posteriormente surgem outras raízes seminais secundárias sobrevivendo por um curto período de tempo (Yoshida, 1981). As raízes seminais são substituídas por um sistema secundário de raízes adventícias que se originam a partir dos nós inferiores dos colmos encontrados nos perfilhos (Moreira e Kluge, 1999; Guimarães et al., 2002). Em cada nó desenvolvem-se de 5 a 25 raízes dependendo do genótipo e das condições edafoclimáticas. As primeiras raízes que nascem de cada nó são conhecidas como primárias. A partir dessas desenvolvem-se as secundárias, e, dessas as terciárias, e assim por diante. No caso do arroz irrigado podem se desenvolver até a sexta ordem (Guimarães et al., 2002).

A raiz pode ser dividida em três regiões distintas, sendo, a região meristemática localizada atrás da coifa na ponta raiz; depois, a região do alongamento celular; e por fim, a região dos pêlos radiculares (Yoshida, 1981; Guimarães et al., 2002). A presença dos pêlos radiculares, que têm origem na epiderme da raiz, aumenta a área de contato com o solo e, assim, aumenta a absorção de água e nutrientes.

No arroz as raízes podem ser atacadas por larvas de insetos aquáticos causando a conhecida bicheira da raiz (Oliveira et al., 2010) e pelo fungo *Pythium*

*arrenomanes* causador da podridão da raiz. O sistema radicular dessa cultura pode, ainda, influenciar na absorção de nutrientes (Li et al., 2009; Topp et al., 2013), na tolerância a solos ácidos ou alcalinos, e, na tolerância ao estresse de seca (Henry et al., 2011; Uga et al., 2013), que é o principal estresse abiótico responsável pela perda na produção do arroz sob o sistema de terras altas (Uga et al., 2011).

## **2.2 Metodologias para avaliar raízes**

Historicamente, o estudo de processos subterrâneos envolvendo crescimento de raiz e cinética de absorção de água e de nutrientes têm sido um grande desafio para cientistas, na medida em que o solo atua como uma barreira para a observação e avaliação *in loco* dos processos fisiológicos e morfológicos das raízes (Abreu, 2005). Um dos primeiros trabalhos a respeito de estudos do sistema radicular data do século dezoito, onde Hales em 1727 realizou uma escavação e determinou a morfologia, o peso e o comprimento das raízes em milho (Böhm, 1979).

Posteriormente diversas outras metodologias foram sendo desenvolvidas ou aprimoradas a fim de levantar dados a respeito de valores das raízes nas mais variadas culturas. A pesquisa sobre o tema raiz apresentou um aumento considerável nos últimos anos e vem envolvendo pesquisadores de diversos setores, que não possuem como área de atuação as raízes ou desenvolvimento da planta. Como consequência, esses estudos sofrem uma série de imprecisões e erros na quantificação e formação das raízes levando a conclusões incertas ou enganosas (Dubrovskya e Forde, 2012).

A avaliação em termos de arquitetura radicular, comprimento das raízes e volume explorado é um processo trabalhoso e grandes dificuldades são encontradas em qualquer técnica de amostragem, como o tempo gasto, a pouca informação obtida e a grande variabilidade dos resultados (Fante Júnior e Reichardt, 1994). Dubrovskya e Forde (2012) relatam que a diferença entre valores encontrados para raízes laterais em um mesmo genótipo chegam a 40 vezes dependendo da metodologia como se quantifica. Desta forma, a coleta de informações sobre o crescimento das raízes no campo é uma missão árdua, e às vezes sem o devido rigor científico (Dubrovskya e Forde, 2012; Topp et al., 2013).

A avaliação radicular é feita basicamente de duas maneiras:

A) *Ex situ* – Por meio da coleta de raízes, utilizando-se métodos destrutivos que exigem a separação dos componentes das amostras de raízes, solo e resíduos. Inserido aqui pode-se destacar a metodologia conhecida como método dos monólitos (Böhm, 1979; Henry, 2013). Nesse caso, algumas etapas são descritas:

*Coleta*: a coleta das raízes, juntamente com solo e outros resíduos é feita com o auxílio de enxadas, pás e trados, tendo-se o conhecimento do volume coletado por amostra;

*Separação*: após a coleta das amostras é necessário a separação das raízes com das outras partes como solo e resíduos. Nessa etapa, em geral, a amostra passa por lavagem em água corrente, sendo utilizadas peneiras;

*Quantificação*: depois da obtenção de apenas amostras de raízes é necessária a quantificação da mesma. Dependendo do objetivo ou da disponibilidade de equipamentos é que a quantificação se desenvolve. Uma das formas de se quantificar as raízes é por meio da secagem da amostra em estufa e obtenção do peso da matéria seca da raiz em balança de precisão (Guimarães et al., 2011). Outros trabalhos, porém, colocam as raízes em bandeja de acrílico e geram imagens. Esta por sua vez é quantificada através de softwares específicos que disponibilizam algumas variáveis, tais como, volume, comprimento, diâmetro, área de contato, ângulo de inserção das raízes, etc.

B) *In situ* – Outra forma de avaliar raízes é diretamente no perfil do solo através da visualização com o uso de notas ou gerando-se imagens que são quantificadas por meio de softwares de raiz.

Böhm (1979) e Shashidar et al. (2013), relatam várias metodologias que são utilizadas ou serviram de base para avaliar raízes em plantas por meio da quantificação direta ou indireta.

✓ Método da escavação ou trincheira: como o próprio nome diz, consiste na abertura de uma vala ao lado da linha de plantio ou da planta, retirando-se cuidadosamente o solo na superfície da trincheira para que as raízes fiquem expostas. A avaliação pode ser feita por meio de notas (Cairns et al., 2009);

✓ Método dos monólitos: consiste na retirada de um bloco de solo com as raízes, onde essa amostra passa pela separação do solo e das raízes. A avaliação nesse caso pode ser feita por meio da secagem da amostra e posteriormente pesagem (Vasconcelos et al., 2003; Courtois et al., 2003; Guimarães et al., 2011), ou na digitalização de uma

imagem que posteriormente passa por um software que a quantifica, disponibilizando variáveis, tais como, comprimento, volume, área de contato e ângulo de inserção das raízes;

✓ Método do trado: esse método é semelhante ao do monólito diferenciando-se pela forma que se obtém a amostra de solo e raízes. Nesse caso a extração é feita com o auxílio de um trado cujo diâmetro e profundidade de coleta são conhecidos;

✓ Método de parede vidro: nessa metodologia utiliza-se uma parede de vidro para observação direta das raízes. Pode ser utilizada em casa de vegetação, onde as parcelas são compostas por caixas onde uma das laterais deve ser formada por uma lâmina de vidro (Price et al. 2013), ou em condição de campo, onde uma trincheira é aberta ao lado das plantas a serem analisadas, e instalado uma lâmina de vidro. Em ambas as condições a visualização das raízes é feita de forma direta. Nesse caso podem ser geradas imagens através de fotografia ou mesmo escanear a superfície do vidro.

✓ Método do tubo de vidro: nessa metodologia é instalado um tubo de vidro em condição de campo ou em casa de vegetação. Através do tubo de vidro é possível observar as raízes crescidas à sua volta. Nesse caso uma haste com uma luz e um espelho na extremidade é colocada no interior desse tubo para que seja observado crescimento das raízes ao longo do perfil do solo. Dannoura et al. (2008) e Muñoz-Romero et al. (2010) relataram uma metodologia que consiste em uma adaptação do método do tubo de vidro. Um tubo de acrílico é instalado na parcela das plantas a serem avaliadas, que possui tampas nas extremidades para evitar a entrada de solo, resíduos ou água. Um *scanner* de raiz CI – 600 *Root Scan* (<http://www.cid-inc.com/root-image/ci-600.php>) é colocado no interior do tubo de acrílico e escaneada a superfície em torno do mesmo gerando uma imagem. Essa imagem passa por avaliação visual ou por meio de softwares que quantificam a mesma.

✓ Kono et al. (1987) descrevem uma metodologia onde as parcelas são formadas por caixas transparentes de cloreto de vinila com dimensões de 2 cm de largura, 25 cm de comprimento e 40 cm de profundidade. Essa caixa foi preenchida com solo e plantada uma semente de arroz pré-germinada. Ao final do período de um mês um dos lados da caixa foi retirado e encaixada no solo uma tábua com pregos com distâncias iguais de 1cm. A caixa era virada em cima da tábua com pregos, e esta lavada em água corrente. Restava na malha de pregos apenas as raízes, que eram colocadas em cima de uma

lâmina de polietileno transparente. As raízes eram fotografadas e avaliadas conforme notas.

✓ Shashidhar et al. (2013) relataram uma metodologia que consiste no enchimento de um cano de PVC com solo, e, posteriormente o plantio. As plantas são crescidas nesse ambiente até o momento da avaliação. O solo e as raízes, passam por lavagem restando apenas as raízes. Esses autores comentam que para arroz é necessário um tubo de 20 cm de diâmetro com uma altura de 100 cm.

Alguns dos principais softwares comerciais para quantificação das raízes são: *Delta-T-Scan* (<http://www.delta-t.co.uk/groups.html?group2005092301354>); *RootTracker* ([www.biology.duke.edu/roottracker](http://www.biology.duke.edu/roottracker)); e *Win-RHIZO* ([http://www.regent.qc.ca/assets/winrhizo\\_systems.html](http://www.regent.qc.ca/assets/winrhizo_systems.html)); além de outros gratuitos como: *EzRhizo* (<http://www.psrq.org.uk/plant-biometrics.html>); *DART* (<http://www.avignon.inra.fr/psh/outils/dart>); *Root Image Analyzer* ([http://rootimage.msu.edu/root\\_images/new](http://rootimage.msu.edu/root_images/new)) e *SmartRoot* (<http://www.uclouvain.be/en-smartroot>) (Le Bot et al., 2010; Leitner e Schnepf, 2012).

### 2.3 Marcadores moleculares

Marcadores moleculares podem ser descritos como regiões do DNA com polimorfismo entre indivíduos dentro de uma mesma espécie (Caixeta et al., 2013). Marcadores controlados por genes associados a caracteres morfológicos, em geral fenótipos de fácil identificação visual, foram utilizados até meados da década de 60 em estudos de genética e melhoramento. Esses marcadores contribuíram muito para o desenvolvimento teórico da análise de ligação gênica e para a construção dos primeiros mapas moleculares (Ferreira e Grattapaglia, 1998). Diversos estudos ao longo dos tempos, principalmente nas últimas décadas, empenharam esforços para elucidar algumas questões a respeito dos genes, tais como, quais estão presentes no genoma, que funções eles desempenham, e que posições eles ocupam no cromossomo (Griffiths et al., 2008) nas mais diversas espécies, tanto animal quanto vegetal.

Dentre as diferentes tecnologias moleculares está o estudo do polimorfismo do DNA que se tornou uma área ativa nas principais espécies agrônômicas e plantas-modelo (Caixeta et al., 2013). Inicialmente, a utilização de enzimas de restrição

permitiu a análise de polimorfismo de comprimento de fragmentos de restrição de DNA (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP) (Botstein et al., 1980; Caixeta et al., 2013). O isolamento desta enzima possibilitou o desenvolvimento da síntese *in vitro* de cadeias de DNA. Em poucos anos, o sequenciamento e a síntese de oligonucleotídeos tornaram-se rotina nos laboratórios de pesquisa. Diversas outras técnicas para avaliar o polimorfismo de DNA foram, e continuam sendo desenvolvidas, tomando como referência aquelas já existentes. Com a utilização de tecnologias de sequenciamento do genoma nas mais diversas espécies, muitas das questões a respeito dos genes tornaram-se mais claras, favorecendo o desenvolvimento de marcadores moleculares.

O advento da PCR acelerou os estudos de genomas em vários organismos, pois possibilitou a clonagem e o sequenciamento de DNA, proporcionando outras classes de marcadores moleculares. Uma das principais utilizações de marcadores de DNA nos trabalhos de investigação agrícola tem sido na construção de mapas de ligação para diversas espécies de cultivo. Mapas de ligação foram utilizados para a identificação de regiões cromossômicas que contêm genes os quais controlam características simples (controlada por um único gene) e características quantitativas usando análise de QTL (Collard et al., 2005). A chegada das tecnologias de sequenciamento de nova geração, marcadores SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms) e genotipagem por sequenciamento, têm sido desenvolvidos e utilizados em diferentes espécies vegetais, pois permitem uma abordagem mais ampla do genoma (Caixeta et al. 2013).

As variações alélicas dentro de um genoma da mesma espécie podem ser classificados em três grupos principais os quais incluem as diferenças no número de repetições em série de um *loco* específico: microssatélites ou repetições de sequências simples (Simple Sequence Repeats - SSR), identificação de polimorfismo de inserções / deleções (InDels), e polimorfismo de base única (SNP) (Mammadov et al., 2012).

### **2.3.1 Marcadores *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP)**

Os marcadores denominados SNP ou Polimorfismo de Base Única foram utilizados pela primeira vez em humanos, identificando-se 3241 SNPs candidatos e formando-se um mapa de ligação com 2227 desses marcadores distribuídos no genoma humano (Wang et al., 1998).

Na genética humana as aplicações dos marcadores SNPs foram claramente demonstradas após o sequenciamento completo do genoma, levando à descoberta de vários milhões de SNPs. Esse tipo de metodologia tem uma vasta área de atuação, como a medicina humana, melhoramento animal, melhoramento de plantas, e conservação e gestão de recursos genéticos. Por serem baseados na variação de uma única base nitrogenada os marcadores SNPs são os mais abundantes quando se trata de marcadores de DNA em plantas (Chen et al. 2011).

SNPs representam a variação de DNA que ocorre em um único nucleotídeo numa posição específica do genoma (Caixeta et al., 2013). Esse tipo de marcador tem como característica as modificações mais elementares da molécula de DNA, ou seja, mutações em bases únicas da cadeia de bases nitrogenadas do DNA (Adenina, Citosina, Timina e Guanina) (Caetano, 2009). Os marcadores SNPs podem ser classificados quanto à variação da base nitrogenada, podendo ser de *transcrição*, que é a troca de uma purina por outra purina (adenina por guanina ou guanina por adenina) ou de uma pirimidina por outra pirimidina (citosina por timina ou timina por citosina), sendo a variação mais frequente, ou de *transversão*, que é a troca de uma purina por pirimidina ou pirimidina por purina (Vignal et al., 2002; Caixeta et al., 2013).

Por ser, em geral, dialélico esse tipo de marcador apresenta pouca informação por *loco* em que se enquadra, porém possibilita a genotipagem em larga escala (Caixeta et al., 2013), apresentando maior densidade de marcadores para a construção de mapa, além de ser mais refinado na identificação de *locus* que controlam características quantitativas. (Quantitative Trait Loci - QTL) (Vignal et al., 2002)

Os SNPs são marcadores que se encontram em praticamente todo o genoma das espécies estudadas, tornando-se, por esse motivo, atraentes para a análise genética, podendo ter implicações diretas nas funções da proteína correspondente. Outra característica importante é a maior estabilidade, quando comparada a outros marcadores. Ainda como vantagem, existe a possibilidade de automação em situações que exigem a análise de grande número de indivíduos e de marcadores, como no caso da utilização de marcadores aleatórios para varreduras completas de genomas para localização de QTL (Regitano e Veneroni, 2009).

### 2.3.2 Chip de DNA

O pensamento de se utilizar arranjos contendo grandes quantidades de genes, com o propósito de analisar os dados simultaneamente, provém da técnica conhecida como Dot-Blot (Kafatos et al., 1979). Com os avanços na tecnologia, como a disponibilidade de sistemas robotizados que permitiram a confecção de arranjos com alta densidade e, a adoção de métodos de detecção ótica, como a fluorescência, que confere a sensibilidade para se fazer as medidas intensidade (Rosa et al., 2007), foi possível aprimorar a técnica, chegando no *Chip* de DNA (Schena et al., 1995). Existem diferentes nomenclaturas para essa técnica como *Chip de DNA* ou *RNA*, *Microarranjos de DNA*, *Biochips* ou *GeneChips* (Gabig e Wegrzyn, 2001). O termo microarranjo é uma tradução bem aceita para o termo em inglês *microarray* pelo qual esta técnica é mais conhecida.

O *Chip* de DNA ou DNA *microarray* é uma técnica da biologia molecular a qual consiste em uma placa eletroquímica de alta sensibilidade capaz de detectar moléculas de DNA. É uma tecnologia capaz de mensurar a expressão de milhares de genes em um único experimento (Brown et al., 2000). Os *chips* de DNA, em alusão ao componente eletrônico miniaturizado que carrega milhões de transistores, são coleções de segmentos de DNA que se encontram ordenadamente distribuídos sobre uma superfície sólida (Rosa et al., 2007). Consiste em um arranjo organizado e pré-definido de moléculas de DNA quimicamente ligadas a uma superfície sólida revestida com compostos que conferem carga positiva.

Um *chip* de DNA ou *microchip* é uma técnica de genotipagem em larga escala que utiliza lâminas onde são colocados quantidade ínfima de DNA com eletrodos e sensores capazes de detectar moléculas de DNA (fragmentos de DNA genômico, cDNAs ou oligonucleotídeos) na forma de corrente eletroquímica que é transmitida para um analisador de genes automático. Consiste de um pedaço de material semicondutor construído, em geral, pelos elementos silício (Si), germânio (Ge), plástico, nylon ou silicone que contém um circuito eletrônico (Caixeta, 2013).

Cada ponto da placa é um endereço gênico em particular para cada componente da coleção, e quanto mais pontos no *microarray* mais abrangente será a análise do *transcriptoma*. Cada um desses endereços ou pontos no arranjo é chamado de

*spot*, e contém uma quantidade ínfima de DNA devidamente imobilizada, denominada *sonda* (ou *probe*) (Rosa et al., 2007).

### 2.3.3 Locos de Característica Quantitativa - QTLs

A grande maioria das características de interesse agrônômico, nas diversas culturas, possui controle genético definido por vários genes que são distribuídos pelo genoma da planta. Essas características são, em geral, influenciadas pelo ambiente, sendo, portanto, de difícil controle. As regiões, dentro do genoma, que contêm genes associados com uma característica em particular são conhecidas como *loco* de característica quantitativa ou QTL (*Quantitative Trait Loci*) (Haseman e Elston, 1972; Collard et al., 2005). Ressalta-se que a definição atribuída a QTL refere-se a uma associação estatística entre uma região específica dentro do genoma a uma determinada característica fenotípica (Rezende et al., 2013).

Nas três décadas mais recentes grandes avanços na área dos marcadores moleculares foram conseguidos, chegando a níveis impressionantes com o aporte da nanotecnologia. Esse avanço possibilitou a identificação e de regiões específicas do genoma da planta que são responsáveis por determinada característica (Uga et al., 2011), ou até mesmo na identificação do gene que controla a característica (Uga et al., 2013).

Desde 1995, o mapeamento de QTLs para diversas características na cultura do arroz vem sendo realizados, tanto em populações “temporárias” como as famílias segregantes ( $F_2$ ,  $F_3$ ...) e retrocruzamentos, como em populações “permanentes”, a exemplo das linhagens recombinantes puras (RIL), linhagens duplo-haplóide (DH) e as linhas puras de retrocruzamentos (BIL) (Liang et al., 2013).

Uga et al. (2011) utilizaram uma população composta por 117 RIL's derivadas do cruzamento entre duas variedades contrastantes para aprofundamento de raiz, uma destinada ao cultivo em várzea (subesp. *indica*) e outra ao cultivo em terras altas (subesp. *japônica*). Esses autores encontraram um grande QTL localizado no cromossomo 9 que foi intitulado Dro1 (Deeper rooting 1). Outros QTLs também foram localizados nos cromossomos do arroz para diversas características do sistema radicular. Liang et al. (2013) identificaram oito QTLs localizados nos cromossomos 6 e 7 para as

variáveis relacionadas ao sistema radicular, contudo um desses QTLs localizado no braço curto do cromossomo 7 foi o que chamou mais a atenção pois está relacionado a seis caracteres de raiz.

Coutois et al. (2009) em um levantamento sobre trabalhos realizados para identificar QTLs relacionados a características de raiz, relatam a ocorrência de 675 QTLs para 29 variáveis do sistema radicular em arroz. Diversas características apresentaram um grande número de QTLs em vários cromossomos, como é o caso de ‘espessura de raiz’ que teve 123 QTLs distribuídos nos 12 cromossomos do arroz, porém o cromossomo que apresentou maior número de marcas para essa característica foi o 4 com 17 QTLs. De modo geral, o cromossomo que apresentou o maior número de QTLs foi o 2 responsável por 101 marcas distribuídas em 19 características de raiz.

### 3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABADIE, T.; CORDEIRO, C. M. T.; FONSECA, J. R.; ALVES, R. de B. N.; BURLE, M. L.; BRONDANI, C.; RANGEL, P. H. N.; CASTRO, E. M.; SILVA, H. T.; FREIRE, M. S.; ZIMMERMANN, F. J. P.; MAGALHÃES, J. R. Construção de uma coleção nuclear de arroz para o Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.40, n. 2, p.129-136, 2005.

ABREU, F. L. G. Avaliação de sistema radicular de porta-enxertos para lima ácida ‘tahiti’ [*Citrus latifolia* (yu.tanaka) tanaka] e relação com atributos do solo. Dissertação de mestrado UFPI – Universidade Federal do Piauí. Teresina - PI, 42 p. 2005.

ADORIAN, G. C. Caracterização da diversidade fenotípica existente em uma coleção nuclear de arroz de terras altas. 2010. 72 p. **Dissertação** (Programa de pós-graduação em Produção Vegetal) Universidade Federal do Tocantins - UFT, Gurupi, 2010.

ALCOCHETE, A. A. N. Diversidade genética e mapeamento de QTLs do sistema gênico de macho-esterilidade termo-sensível (TGMS) do genoma de arroz (*Oryza sativa* L.). 2005, 145p. **Tese de doutorado** (Programa de pós-graduação em Biologia Celular) Universidade de Brasília, Instituto de Biologia. Brasília. 2005.

AZEVEDO, L. A. S.; JULIATTI, F. C.; BARRETO, M. Resistência de Genótipos de Soja à *Phakopsora pachyrhizi*. **Summa phytopathologica**, v.33, n.3, p.252-257, 2007.

BABU, R. C.; NGUYEN, B. D.; CHAMARERK, V.; SHANMUGASUNDARAM, P.; CHEZHIAN, P.; JEYAPRAKASH, P.; GANESH, S. K.; PALCHAMY, A.; SADASIVAM, S.; SARKARUNG, S.; WADE, L. J.; NGUYEN, H. T. Genetic Analysis of Drought Resistance in Rice by Molecular Markers: Association between Secondary Traits and Field Performance, **Crop Science**, v. 43, p. 1457-1469, 2003.

BASSAB, W. O.; MIAZAKI, E. S.; ANDRADE, D. F. Introdução à análise de agrupamentos. Associação Brasileira de Estatística – ABE. 9º Simpósio Nacional de Probabilidade e Estatística. São Paulo, julho de 1990.

BERNIER, J.; SERRAJ, R.; KUMAR, A.; VENUPRASAD, R.; IMPA, S.; GOWDA, R. P. V.; OANE, R.; SPANER, D.; ATLIN, G. The large-effect drought-resistance QTL qtl12.1 increases water uptake in upland rice. **Field Crops Research**, v. 110, p. 139–146, 2009.

BERNARDO, S.; SOARES, A. A.; MANTOVANI, E. C. **Manual de irrigação**, Editora UFV, 8ª edição, Viçosa, 2006, 625 p.

BÖHM, W. **Methods of studying root systems**. New York, Springer-Verlag, 1979. 189p.

BORÉM, A.; MIRANDA, G. V. Melhoramento de plantas. 6ª ed. Viçosa: Ed. UFV. 2013, 523 p.

BOTSTEIN, D.; WHITE, R. L.; SKOLNICK, M.; DAVIS, R. W. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **American Journal of Human Genetics**. v. 32, n. 3, p. 314-331, 1980.

BROWN, M. P. S.; GRUNDY, W. N.; LIN, D.; CRISTIANINI, N.; SUGNET, C. W.; FUREY, T. S.; ARES JR., M.; HAUSSLER, D. Knowledge-based analysis of microarray gene expression data by using support vector machines. **Proceedings of National Academy Sciences**. v.97, n.1, p. 262–267, 2000.

CAETANO, A. R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.38, p.64-71, 2009.

CAIXETA, E. T.; FERRÃO, L. F. V.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. Marcadores moleculares. In: BORÉM, A. FRITSCHÉ-NETO, R. **Biotecnologia aplicada ao melhoramento de plantas**. Visconde do Rio Branco, Suprema, p.31-58, 2013

CAIRNS, J. E.; AUDEBERT, A.; MULLINS, C. E.; PRICE, A. H. Mapping quantitative trait loci associated with root growth in upland rice (*Oryza sativa* L.) exposed to soil water-deficit in fields with contrasting soil properties. **Field Crops Research**, v. 114, 2009, p. 108–118.

CASTRO, E. M. de; BRESEGHELLO, F.; RANGEL, P. H. N.; MORAES, O. P. de, Melhoramento do Arroz, In BORÉM, A., **Melhoramento de espécies cultivadas**, Editora UFV, Viçosa 1999, pág. 95-130: 817p.

CASTRO NETO, M. D. Resistência genética de uma coleção nuclear e adubação com silício associado ao nitrogênio no manejo de doenças do arroz no sul do estado Tocantins. 2009. 77 p. **Dissertação** (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal do Tocantins - UFT. Gurupi, 2008.

CHEN, H.; HE, H.; ZOU, Y.; CHEN, W.; YU, R.; LIU, X.; YANG, Y.; GAO, Y.; XU, J.; FAN, L.; LI, Y.; LI, Z.; DENG, X. W. Development and application of a set of breeder-friendly SNP markers for genetic analyses and molecular breeding of rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**. v.123, 2011, p.869–879. doi:10.1007/s00122-011-1633-5

COLLARD, B.C.Y.; JAHUFER, M.Z.Z.; BROUWER, J.B. & PANG, E.C.K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica**, v.142, p.169-196, 2005.

COURTOIS, B.; AHMADI, N.; KHOWAJA, F. PRICE, A. H.; RAMI, J. F.; FROUIN, J.; HAMELIN, C.; RUIZ, M. Rice root genetic architecture: meta-analysis from a drought QTL database. **Rice**, v. 2, p. 115-128, 2009. DOI 10.1007/s12284-009-9028-9.

COURTOIS, B.; SHEN, L.; PETALCORIN, W.; CARANDANG, S.; MAULEON, R.; LI, Z. Locating QTLs controlling constitutive root traits in the rice population IAC 165 × Co39. **Euphytica**, v. 134, 2003, p. 335-345.

CRUZ, C. D. Programa genes: diversidade genética. Viçosa: Ed. UFV, 2008, 278p.

CRUZ, C. D.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento de genético**. vol. 2. 2.ed. Viçosa: Ed. UFV, 2006. 585p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J.; CARNEIRO, P. C. S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. vol.1. 3.ed. Viçosa: Ed. UFV. 2004, 480p.

CRUZ, C. D.; REGAZZI, A. J. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético**. 2. ed. rev. Viçosa: Editora UFV, 2001.

DANNOURA, M.; KOMINAMI, Y.; OGUMA, H.; KANAZAWA, Y. The development of an optical scanner method for observation of plant root dynamics. **Plant Root**, n.2, p.14-18, 2008.

DIAS NETO, J. J.; SANTOS, G. R.; ANJOS, L. M.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. Hot spots for diversity of *Magnaporthe oryzae* physiological races in irrigated rice fields in Brazil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.45, n.3, p.252-260, 2010.

DUBROVSKYA, J. G.; FORDE, B. G. Quantitative analysis of lateral root development: pitfalls and how to avoid them. **The Plant Cell**, v.24, n.1, p.4-14, 2012.

DURÃES, F. O. M.; SANTOS, M. X. dos; GOMES E GAMA, E. E.; MAGALHÃES, P. C.; ALBUQUERQUE, P. E. P.; GUIMARÃES, C. T. Fenotipagem associada à tolerância a seca em milho para uso em melhoramento, estudos genômicos e seleção assistida por marcadores. **Circular Técnica 39**, ISSN 1518-4269, Embrapa, Sete Lagoas, 2004.

FANTE JÚNIOR, L.; REICHARDT, K.; JORGE L. A. C.; CRESTANA, S.; Distribuição do sistema radicular do milho em terra roxa estruturada latossólica: I. Comparação de metodologias. **Scientia Agricola**, Piracicaba, n.51, v.3, p. 513-518, 1994

FERREIRA, M. E.; GRATTAPAGLIA, D. Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética. 3ª Ed. Brasília: Embrapa – Cenargem, Documento 20, 1998,

FISHER, R. A.; MAURER, R. Drought resistance in spring wheat cultivars. I grain yield responses. **Australian Journal of Agricultural Research**. v. 29, p. 897-912, 1978.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D. Plant genetic resources today: a critical appraisal. In: HOLDEN, J. H. W.; WILLIAMS, J. T. (Ed.). **Crop genetic resources: conservation & evaluation**. London: Allen & Unwin, 1984. p.249-257.

FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. Fenômica. In: BORÉM, A. E FRITSCHÉ-NETO, R. **Ômicas 360º: Aplicações e Estratégias para o Melhoramento de Plantas**. Visconde do Rio Branco: Editora Suprema. p. 243-245, 2013.

FUKAI S, COOPER M. Development of drought-resistant cultivars using physio-morphological traits in rice. **Field Crops Research**. v.40, p.67-86, 1995.

GABIG, M.; WEGRZYN, G. An introduction to DNA chips: principles, technology, applications and analysis. **Acta Biochimica Polonica**. v. 48, n. 3, p. 615-622, 2001.

GAMUYAO R.; CHIN, J. H.; PARIASCA-TANAKA, J.; PESARESI, P.; CATAUSAN, S.; DALID, C.; SLAMET-LOEDIN, I.; TECSON-MENDOZA, E. M.; WISSUWA, M.; HEUER, S. The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. **Nature**, 488, n. 7412, 2012, p. 535–539.

GOWER, J. C. A general coefficient of similarity and some of its properties. **Biometrics, Arlington**, v. 27, n. 4, p. 857-874. 1971.

GRIFFITHS, A. J. F.; WESSLER, S. R.; LEWONTIN, R. C.; CARROL, S. B. Mapeamento de cromossomos eucariotos por recombinação. In: **Introdução à genética**. Ed. Guanabara Koogan. N.ona Edição. 2008, p. 109-149.

GUIMARÃES, C. M.; FAGERIA, N. K.; BARBOSA FILHO, M. P. Como a planta de arroz se desenvolve. **Potafós**, Arquivo do Agrônomo, v. 13, 2002

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; OLIVEIRA, J. P.; RANGEL, P. H. N.; RODRIGUES, C. A. P. Sistema radicular do arroz de terras altas sob deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 1, 2011, p. 126-134.

HASEMAN, J. K.; EISTON R. C. The investigation of linkage between a quantitative trait and a marker locus. **Behavior Genetics**, v. 2, n. 1, p. 4-19, 1972

HENRY, A.; GOWDA, V. R. P.; TORRES, R. O.; MCNALLY, K. L.; SERRAJ, R. Variation in root system architecture and drought response in rice (*Oryza sativa*): Phenotyping of the OryzaSNP panel in rainfed lowland fields. **Field Crops Research**, v.120, p.205-214, 2011.

HENRY, A. IRRI's drought stress research in rice with emphasis on roots: accomplishments over the last 50 years. **Plant Root**, v. 7, 2013, p. 5-19.

HERDER, G. D.; ISTERDAEL, G. V.; BEECKMAN, T.; DE SMET, I. The roots of a new green revolution. **Trends in Plant Science**, v.15, n.17, 2010, p.600-607.

HUANG, Y.; XIAO, B.; XIONG, L. Characterization of a stress responsive proteinase inhibitor gene with positive effect in improving drought resistance in rice. **Planta**, v. 226, p. 73-85, 2007.

IRRI, International Rice Research Institute. Rice Knowledge Bank. Disponível em: <http://www.knowledgebank.irri.org/extension/index.php/wild-rice-taxonomy>. Acesso em: 23/10/2013.

IRRI, International Rice Research Institute; WARDA, West Africa Rice Development Association. Descriptors for wild and cultivated Rice (*Oryza spp.*). **Biodiversity International**, 2007.

KAFATOS, F.C.; JONES, C.W.; EFSTRATIADIST, A. Determination of nucleic acid sequence homologies and relative concentrations by a dot hybridization procedure. **Nucleic Acids Research**, v. 7, n. 6, p. 1541-1552, 1979.

KERBAUY, G. B. **Fisiologia Vegetal**. Editora Guanabara Koogan S. A., Rio de Janeiro, 2004, 452 p.

KLAR, A. E. **Irrigação: Frequência e quantidade de aplicação**, Editora Nobel, São Paulo, 1991, 156 p.

KONO, Y.; YAMAUCHI, A.; NONOYAMA, T.; TATSUMI, J.; KAWAMURA, N. A revised experiment system of root-soil interaction for laboratory work. **Environment Control in Biology**. v. 25, n. 4, p. 141-151, 1987.

LARCHER, W. **Ecofisiologia Vegetal**, traduzido por: Prado, C. H. B. A., ed. RiMa, São Carlos, 2004.

LE BOT, J.; SERRA, V.; FABRE, J.; DRAYE, X.; ADAMOWICZ, S.; PAGÈS, L. DART: a software to analyse root system architecture and development from captured images. **Plant Soil**, v. 326, p. 261-273, 2010. doi: 10.1007/s11104-009-0005-2

LEDO, C. A. S.; TAVARES FILHO, L. F. Q.; OLIVEIRA, M. M.; SILVEIRA, T. C.; SANTOS, A. S.; ALVES, A. A. C.; GONÇALVES, L. S. A. Análise de agrupamento utilizando variáveis quantitativas e qualitativas para o estudo da diversidade genética em genótipos de mandioca silvestre. **XIII Congresso Brasileiro de Mandioca**. pag. 591-595. julho 2009.

LEITNER, D.; SCHNEPF, A. Image analysis of 2-dimensional root system architecture. **Proceedings of Algoritmy**. p. 113-119, 2012.

LI, J.; XIE, Y.; DAI, A.; LIU, L.; LI, Z. Root and shoot traits responses to phosphorus deficiency and QTL analysis at seedling stage using introgression lines of rice. **Journal of Genetics and Genomics**, 36, p.173-183, 2009.

LIANG, G.; ZHEN-HUA, Z.; JIE-YUN, Z. Quantitative trait loci for heading date and their relationship with genetic control of yield traits in rice (*Oryza sativa*). **Rice Science**, 2013, v. 20, n. 1, p. 1–12. doi: 10.1016/S1672-6308(13)60101-8

MACAN-MARKAR, M. Alimentação-Ásia: Arroz alimento de luxo na Ásia, **IPS – Inter Press Service**, Bangcoc, 2008, Disponível em: <<http://www.mwglocal.org/ipsbrasil.net/nota.php?idnews=3625>> Acesso em: 18/05/2008

MACLEAN, J. L.; DAWE, D. C.; HARDY, B.; HETTER, G. P. Rice Almanac. 3ª ed. **Internacional Rice Research Institute**, Los Baños, Phillipines. 2002 p. 59-235.

MAMMADOV, J.; AGGARWAL, R.; BUYYARAPU, R.; KUMPATLA, S. SNP Markers and Their Impact on Plant Breeding. **International Journal of Plant Genomics**, v. 2012, 11p. doi:10.1155/2012/728398

MEUWISSEN, T.; HAYES, B.; GODDARD, M. Prediction of total genetic value using genome-wide dense marker maps. **Genetics**, vol. 157, p. 1819-1829, 2001.

MOREIRA, M. F.; KLUGE, R. A. **Arroz - *Oryza sativa***, In: CASTRO, P. R. C.; KLUGE, R. A. Ecofisiologia de cultivos anuais: trigo, milho, soja, arroz e mandioca. Editora Nobel, 1999, pag. 91-107.

MUÑOZ-ROMERO, V.; BENÍTEZ-VEGA, J.; LÓPEZ-BELLIDO, L.; LÓPEZ-BELLIDO, R. J. Monitoring wheat root development in a rainfed vertisol: Tillage effect. **European Journal Agronomy**. v.33, p. 182-187, 2010.

NGUYEN, H. T.; BABU, R. C.; BLUM, A. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. **Crop Science**, v. 37, p. 1426-1437, 1997.

OLIVEIRA, J. V.; FREITAS, T. F. S.; FIÚZA, L. M.; MENEZES, G.; DOTTO, G. **Manual de insetos associados à cultura do arroz irrigado**. Boletim Técnico n.8, Instituto Rio Grandense do Arroz. Cachoeirinha, 2010, 56p.

OLIVEIRA, A. C. B.; SEDIYAMA, M. A. N.; PEDROSA, M. W.; GARCIA, N. C. P.; GARCIA, S. L. R. Divergência genética e descarte de variáveis em alface cultivada sob sistema hidropônico. **Acta Scientiarum Agronomy**. v. 26, n. 2, p. 211-217, 2004.

PESSOA-FILHO, M.; BELO, A.; ALCOCHETE, A. A. N.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. A set of multiplex panels of microsatellite markers for rapid molecular characterization of rice accessions, **BMC Plant Biology**, v.7, n.23, 2007.

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

PINHEIRO, B. da S., **Arroz de terras altas: um salto de qualidade no Centro-Oeste do Brasil**, Arroz Brasileiro, set. de 2002, Disponível em: <<http://www.arroz.agr.br/site/artigos/020917.php>> Acesso em: 22/01/2007.

PRICE, A. H.; SHRESTHA, R.; PIFFANELLI, P.; LUPOTTO, E.; CASELLA, L. Soil-filled glass rhizotrons for visualizing roots. In: SHASHIDHAR, H. E.; HENRY, A.; HARDY, B. Methodologies for root drought studies in rice, **International Rice Research Institute**, Metro Manila, Philippines, 2013.

RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B.; PINTO, C. A. B. P. Genética na Agropecuária. 4.ed. Lavras: Ed. UFLA, 2008, 464 p.

RANGEL, P. N. Utilização da espécie silvestre *Oryza glumaepatula* como doadora de alelos para aumento da produção e da tolerância à seca do arroz (*Oryza sativa*) via análise de AB-QTLs. 2008. 123 p. **Tese** (Programa de pós-graduação em biologia) Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas, Goiânia 2008.

RANGEL, P. H. N.; OLIVEIRA, J. P.; COSTA, J. G. C.; FERREIRA, M. E.; ABREU, A. G. Banco Ativo de Germoplasma de Arroz e Feijão: Passado, Presente e Futuro. **Documentos 288**, Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás. 2013, 68p.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E.; *Biologia Vegetal*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2001. 906p.

RICESTAT, Global rice metrics at a glance, 2013. Disponível em: [http://ricestat.irri.org/vis/wrs\\_quickCharts.php](http://ricestat.irri.org/vis/wrs_quickCharts.php). Acesso em: 23/10/2013

REGITANO, L. C. A; VENERONI, G. B. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento animal. **Anais: II Simpósio de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal**. 2009. São Carlos – SP.

REICHARDT, K. **A água em sistemas agrícolas**, Editora Manole, Piracicaba, 1990, 188 p.

RESENDE, M. D. V.; SILVA, F. F.; RESENDE JÚNIOR, M. F. R. Genética de associação. In: BORÉM, A. FRITSCHÉ-NETO, R. **Biotecnologia aplicada ao melhoramento de plantas**. Visconde do Rio Branco, Suprema, p.31-58, 2013.

RESENDE M. D. V.; RESENDE JÚNIOR, M. F. R. R.; AGUIAR, A. M.; ABAD, J. I. M.; MISSIAGGIA, A. A.; SANSALONI, C.; PETROLI, C.; GRATTAPAGLIA, D. Computação da seleção genômica ampla (GWS). **Embrapa Florestas**, Documentos, 210. Colombo, 2010, 79p.

ROSA, G. J. M.; ROCHA, L. B.; FURLAN, L. R. Estudos de expressão gênica utilizando-se microarrays: delineamento, análise, e aplicações na pesquisa zootécnica. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v. 36, suplemento especial, p.185-209, 2007.

SANTOS, A. B. dos; RABELO, R. R. Informações Técnicas para a Cultura do Arroz Irrigado no Estado do Tocantins, **Embrapa Arroz e Feijão**, Documentos 218, Santo Antônio de Goiás, 2008, 136 p.

SHASHIDHAR, H. E.; HENRY, A.; HARDY, B. Methodologies for root drought studies in rice, **International Rice Research Institute**, Metro Manila, Philippines, 2013, 65 p.

SCHENA, M.; SHALON, D.; DAVIS, R.W.; Brown, P. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. **Science**, v.270, p.467-470, 1995.

STONE, L. F.; MOREIRA, J. A. A.; SILVA, S. C. da. Tensão da água no solo e produtividade do arroz, Circular Técnico 19, **Embrapa – Cnpaf**, Goiânia, 1986, 6 p.

TAIZ, L.; ZEIGUER, E. Fisiologia Vegetal, Tradução de: Elaine R. Santarém, [et al.], 3ª ed., Porto Alegre, Artimed, 2004, 719 pág.

TERRA, T. G. R. Avaliação de características morfofisiológicas de tolerância à seca em uma coleção nuclear de acessos de arroz de terras altas (*Oryza sativa* l.). 2008, 81 p. **Dissertação** (Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal) Universidade Federal do Tocantins - UFT. Gurupi, 2008.

TOMAZ, F. S. C. Análise de agrupamento para a avaliação de identidade de modelos não-lineares em análise de sobrevivência. 2009, 70p. **Dissertação de mestrado** (Programa de pós-graduação em estatística aplicada e biometria), Universidade Federal de Viçosa. Viçosa, 2009

TOPP, C. N.; IYER-PASCUZZI, A. S.; ANDERSON, J. T.; LEE, C.; ZUREK, P. R.; SYMONOA, E.; ZHENG, Y.; BUCKSCH, A.; MILEYKO, Y.; GALKOVSKYI, T.; MOORE, B. T.; HARER, J.; EDELSBRUNNER, H.; MITCHELL-OLDS, T.; WEITZ, J. S.; BENFEY, P. N. 3D phenotyping and quantitative trait locus mapping identify core regions of the rice genome controlling root architecture. **Plant Biology**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. v.110, n.18, 2013, p.1695-1704. doi:10.1073/pnas.1304354110.

TSUKAHARA, R. Y.; HIKISHIMA, M.; CANTERI, M. G. Relações entre o clima e o progresso da ferrugem asiática (*Phakopsora pachyrhizi*) em duas micro-regiões do Estado do Paraná. **Ciências Agrárias**, Londrina, v. 29, n. 1, p. 47-52, 2008.

UGA, Y.; OKUNO, K.; YANO, M. Dro1, a major QTL involved in deep rooting of rice under upland field conditions. **Journal of Experimental Botany**, v. 62, n.8, p. 2485-2494, 2011. doi:10.1093/jxb/erq429

UGA, Y. et al. Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. **Nature Genetics**. 2013. doi:10.1038/ng.2725

VASCONCELOS, A. C. M.; CASAGRANDE, A. A.; PERECIN, D.; JORGE, L. A. C.; LANDELL, M. G. A. Avaliação do sistema radicular da cana-de-açúcar por diferentes métodos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.849-858, 2003.

VASCONCELOS, E. S.; CRUZ, C. D.; BHERING, L. L.; FERREIRA, A. Estratégias de amostragem e estabelecimento de coleções nucleares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. v.42, n.4, p.507-514, abr. 2007.

VIGNAL, A.; MILAN, D.; SANCRISTOBAL, M.; EGGEN, A. A review on SNP and other types of molecular markers and their use in animal genetics. **Genetics Selection Evolution**, v. 34, n. 3, p. 275-305, 2002.

WAILES E. J.; CHAVEZ E. C. **World Rice Outlook, International Rice Baseline with Deterministic and Stochastic Projections, 2012-2021**. Department of Agricultural Economics and Agribusiness, Division of Agriculture. University of Arkansas, 2012, 80p.

WANG, D. G.; FAN, J. B.; SIAO, C. J.; et al., Large-scale identification, mapping, and genotyping of single-nucleotide polymorphisms in the human genome, **Science**, v. 280, p. 1077–1082, 1998. doi: 10.1126/science.280.5366.1077

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines, p. 30-39, 1981.

ZOU, G. H.; LIU, H. Y.; MEI, H. W.; LIU, G. L.; YU, X. Q.; LI, M. S.; WU, J.H.; CHEN, L.; LUO L. J. Screening for drought resistance of rice recombinant inbred populations in the field. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 49, p. 1508-1516, 2007.

## 4. CAPÍTULO 1

### Fenômica do sistema radicular em plantas por meio de metodologia não destrutiva

#### Resumo

O objetivo desse trabalho foi avaliar o sistema radicular em genótipos de arroz (subesp. japônica) por meio de uma metodologia não destrutiva. O experimento foi conduzido sob condição de ambiente protegido na fazenda Palmital, pertencente a Embrapa Arroz e Feijão, localizada no município de Goianira – GO em delineamento de blocos completos ao acaso com quatro repetições. A parcela foi formada por um tubo de PVC com 80 cm de comprimento por 30 cm de diâmetro interno. No interior desse tubo foi instalado um tubo de acrílico transparente com 6,4 cm de diâmetro interno e 67 cm de comprimento com tampas de vedação nas extremidades, envolto com solo. Foram utilizados oito genótipos de arroz: Azucena, Moroberekan, IAC 165, BRS Primavera, Chorinho, Puteca, Ligeiro e Catetão, com três plântulas de cada por parcela. Uma vez por semana foi realizada a digitalização de imagens da superfície externa do tubo de acrílico, por meio do scanner CI-600 Cano Scan, nas profundidades de 5 a 25 cm e de 25 a 45 cm. O software WinRhizo foi utilizado para quantificar as raízes das imagens disponibilizando as variáveis comprimento (CR), área de contato (AR), diâmetro médio (DR) e volume (VR). Os dados de cada variável foram distribuídos em gráficos ao longo de dez semanas, estimando-se a área sob a curva de crescimento das raízes. Os genótipos foram contrastantes ( $P < 0,05$ ) para caracteres do sistema radicular, com exceção do diâmetro, que não teve diferenças ( $P > 0,05$ ) entre os genótipos em ambas as profundidades. Na profundidade de 5 a 25 cm os melhores foram, respectivamente, Azucena, IAC 165 e Catetão, e, na profundidade de 25 a 45 cm Azucena, IAC 165 e BRS Primavera. Observando o desenvolvimento radicular total avaliado de 5 a 45 cm os melhores foram Azucena seguida por IAC 165, que tiveram os maiores sistema radicular. A metodologia mostrou-se rápida, prática e eficiente para avaliar sistema radicular em plantas *in situ*, ao longo do desenvolvimento da cultura.

## 1. Introdução

As raízes desempenham papel de fundamental importância na vida das plantas, servindo como sustentação e meio de absorção da água e nutrientes (Taiz e Zeiger, 2004; Topp et al., 2013), além da interação simbiótica que elas mantêm com outros organismos (Herder et al., 2010). Diversos efeitos que se encontram na parte aérea das plantas podem ser explicados por caracteres de raiz (Vasconcelos et al., 2003). Por isso, o sistema radicular tem sido foco de estudos que visam estabilizar, ou mesmo aumentar a produtividade em condições adversas ao desenvolvimento da planta, como por exemplo, solos salinos, ácidos ou com deficiência hídrica, além de melhorar a resistência às pragas e doenças, e reduzir o uso de fertilizantes (Topp et al., 2013), principalmente aqueles com reservas naturais limitadas, como é o caso do elemento fósforo (Gamuyao et al., 2012).

Historicamente, o estudo de processos subterrâneos envolvendo crescimento de raiz e cinética de absorção de água e de nutrientes tem sido um grande desafio para cientistas, na medida em que o solo atua como uma barreira para a observação e avaliação *in locu* dos processos fisiológicos e morfológicos das raízes (Abreu, 2005). Um dos primeiros trabalhos a respeito de estudos do sistema radicular data do século dezoito, onde Hales, em 1727, realizou uma escavação e determinou a morfologia, o peso e o comprimento das raízes em milho (Böhm, 1979). Posteriormente, diversas outras metodologias foram sendo desenvolvidas ou aprimoradas a fim de levantar dados a respeito de valores das raízes nas mais variadas culturas. As pesquisas com raízes tiveram um aumento considerável nos últimos anos e vem envolvendo pesquisadores de diversos setores. Como consequência, esses estudos sofrem uma série de imprecisões e erros na quantificação e informação das raízes levando a conclusões incertas ou enganosas (Dubrovskya e Forde, 2012).

Böhm (1979) e Shashidar et al. (2013) descrevem várias metodologias que são utilizadas, ou serviram de base, para avaliar raízes em plantas por meio da quantificação direta ou indireta, como: método da escavação ou trincheira (Cairns et al., 2009), método dos monólitos (Courtois et al., 2003), método do trado, método de parede vidro (Price et al., 2013), método da caixa transparente (Kono et al., 1987), método do tubo de vidro e o método do tubo de PVC. Dannoura et al. (2008) e Muñoz-

Romero et al. (2010) relatam uma metodologia que consiste em uma adaptação do método do tubo de vidro. Um tubo de acrílico é instalado na parcela das plantas a serem avaliadas, que possui tampas nas extremidades para evitar a entrada de solo, resíduos ou água. Um scanner de raiz CI – 600 Root Scan (<http://www.cid-inc.com/root-image/ci-600.php>) é colocado no interior do tubo de acrílico e escaneada a superfície em volta gerando uma imagem. Essa imagem passa por avaliação visual ou por meio de softwares que a quantificam. Esta metodologia é um exemplo da fenômica ou fenotipagem de próxima geração (*Next-Generation Phenotyping*), que é entendida como a fenotipagem em larga escala, de forma acurada (capaz de medir efetivamente as características), precisa (pequena variância entre medições repetidas), relevante e dentro de custos aceitáveis (Cobb et al., 2013; Fritsche-Neto e Borém, 2013), envolvendo uma série de técnicas *high-throughput* para automatizar e aumentar a capacidade de avaliação de genótipos com acurácia (Tisné et al., 2013).

Alguns dos principais softwares comerciais para fenotipagem de próxima geração de raízes são: *Delta-T-Scan* (<http://www.deltat.co.uk/groups.html?group2005092301354>); *RooTracker* ([www.biology.duke.edu/rootracker](http://www.biology.duke.edu/rootracker)); e *Win-RHIZO* ([http://www.regent.qc.ca/assets/winrhizo\\_systems.html](http://www.regent.qc.ca/assets/winrhizo_systems.html)); além de outros gratuitos como: *EzRhizo* (<http://www.psrg.org.uk/plant-biometrics.html>); *DART* (<http://www.avignon.inra.fr/psh/outils/dart>); *Root Image Analyzer* ([http://rootimage.msu.edu/root\\_images/new](http://rootimage.msu.edu/root_images/new)) e *SmartRoot* (<http://www.uclouvain.be/en-smartroot>). (Le Bot et al., 2010; Leitner e Schnepf, 2012)

A avaliação em termos de arquitetura radicular, comprimento das raízes e volume explorado é um processo trabalhoso e grandes dificuldades são encontradas em qualquer técnica de amostragem, como o tempo gasto, a pouca informação obtida e a grande variabilidade dos resultados (Fante Júnior e Reichardt, 1994). Dubrovskya e Forde (2012) relatam que a diferença entre valores encontrados para raízes laterais em um mesmo genótipo chega a 40 vezes, dependendo da forma como se quantifica.

Nesse sentido, uma metodologia de avaliação do sistema radicular em plantas com resultados eficientes, otimizando o tempo e o trabalho dispensados, sendo avaliado, preferencialmente *in-situ* e ao longo do crescimento das mesmas, seria, sem

sombra de dúvidas, uma importante ferramenta na tomada de decisões em diversas atividades da pesquisa.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o sistema radicular em variedades de arroz de *terras altas* (*Oryza sativa* subsp. japônica) por meio de uma metodologia não destrutiva.

## **2. Material e Métodos**

### **Condução do experimento**

O experimento foi conduzido em condição controlada no Campo Experimental da Fazenda Palmital da Embrapa Arroz e Feijão, no município de Goianira - GO, entre os meses de agosto a novembro de 2011. O delineamento experimental utilizado foi o de blocos completos casualizados com quatro repetições. Os tratamentos constaram de oito genótipos de arroz de terras altas com coletas de dados de raiz em duas profundidades.

A parcela foi formada por um tubo de PVC com 80 cm de comprimento por 30 cm de diâmetro interno. No interior desse tubo foi instalado um tubo de acrílico transparente com 6,4 cm de diâmetro interno e 67 cm de comprimento, envolto com solo. Nas extremidades do tubo de acrílico foram colocadas tampas de vedação feitas de borracha (*end caps*) para evitar a entrada de solo ou água no interior desse tubo. Foram transplantadas três plântulas de arroz com uma semana de emergência ao redor do tubo de acrílico (Figura 1).

O solo utilizado foi um latossolo vermelho com textura média. O mesmo foi homogeneizado com peneira de malha de 1,25 cm, com intuito de retirar os agregados maiores. Em seguida, 250 gramas do fertilizante 5-25-15 (N, P e K, respectivamente) foram adicionados a cada parcela.

### **Germoplasma**

A genotipagem nos programas de melhoramento de arroz desenvolvidos pela Embrapa propiciaram a estimativa de distância genética par-a-par entre os acessos e a

seleção destes oito acessos. Estes dados, além de dados de fenotipagem destes acessos obtidos em experimentos de campo e de telado para tolerância à seca, foram usados para selecionar materiais promissores para estudo e desenvolvimento de populações, bem como linhagens mais tolerantes ao estresse de seca.



Figura 1: Corte lateral em parcela experimental composta por um cano de PVC de 80 cm de comprimento e 30 cm de diâmetro, um tubo de acrílico instalado no interior com 67 cm de altura e 6,4 cm de diâmetro com tampas de vedação de borracha, solo ao redor do tubo de acrílico e plantas de arroz.

Oito variedades de arroz foram selecionadas para o estudo com base nos seguintes critérios: a) *Background* genético – todas as variedades são do grupo *japônica* tropical, anteriormente caracterizados por estudos de distância genética utilizando marcadores microssatélites. b) Tolerância à seca em condições de estresse hídrico - variedades apresentam diferentes mecanismos de tolerância à seca (arquitetura radicular, capacidade de penetração no solo, enrolamento foliar, etc.); e, c) Potencial produtivo em condições de estresse hídrico. A seleção destes acessos visou maximizar a possibilidade de se obter recombinantes com maior desenvolvimento radicular e adaptados às condições de plantio de sequeiro, capazes de absorver água nas camadas mais profundas do solo durante períodos de veranicos. Nesse contexto, as oito

variedades de arroz de *terras altas* selecionadas para este estudo são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1: Variedades de arroz de terras altas subespécie *japônica* tropical e suas respectivas características

Variedade	Código*	Característica
Chorinho	BGA800103	Variedade tradicional de arroz coletada em Minas Gerais, Brasil; subespécie <i>japônica</i> tropical; nível intermediário de tolerância à seca no campo; plantas altas; grãos tipo longo.
Puteca	BGA780217	Variedade tradicional de arroz coletada em Goiás, Brasil; subespécie <i>japônica</i> tropical; suscetível à seca no campo; plantas altas; grãos tipo longo.
BRS Primavera	BGA 8070	Variedade comercial desenvolvida pela Embrapa Arroz e Feijão, derivada do cruzamento entre as cultivares IRAT 10 e LS 85-158, lançada em 1987; subespécie <i>japônica</i> tropical; planta de porte intermediário (média de 100 cm), perfilhamento médio e baixa resistência ao acamamento; ciclo de 100 dias (precoce); suscetível à brusone; resistência moderada à escaldadura foliar e à mancha-de-grãos; produtividade média; exigente quanto ao ponto de colheita; elevada qualidade de grãos; suscetível à seca.
IAC 165	BGA 2075	Variedade comercial de arroz desenvolvida pelo Instituto Agrônomo de Campinas, oriunda do cruzamento entre Dourado Precoce e IAC 1245, lançada em 1980; subespécie <i>japônica</i> tropical; resistência moderada ao acamamento; forte desenvolvimento radicular; tolerante à seca; grãos longos; ciclo curto.
Catetão	BGA880081	Variedade tradicional de arroz coletada no Mato Grosso, Brasil; subespécie <i>japônica</i> tropical; tolerante à seca; elevada produtividade; plantas altas; grãos tipo longo.
Azucena	BGA 4627	Variedade de arroz oriunda das Filipinas; subespécie <i>japônica</i> tropical; forte desenvolvimento radicular e capacidade de penetração no solo; tolerante à seca e ao alumínio tóxico.
Moroberekan	BGA 2524	Variedade de arroz oriunda do Oeste Africano; subespécie <i>japônica</i> tropical; forte desenvolvimento radicular e capacidade de penetração no solo; tolerante à seca e ao alumínio tóxico; fonte de resistência (durável) à brusone.
Ligeiro	BGA790301	Variedade tradicional de arroz coletada no Maranhão, Brasil; subespécie <i>japônica</i> tropical; tolerante à seca; ciclo curto; baixa produtividade; grão tipo longo.

\* Código de acesso no Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Arroz e Feijão: <http://www.cnpaf.embrapa.br/cnae>.

## Coleta de dados

Duas semanas após o transplante (plantas com 22 DAE), iniciou-se a obtenção das imagens através do scanner de raiz CI – 600 *Cano Scan* (CID *Bio-Science*, Versão 3.1.19) inserido no tubo de acrílico (Figura 1) e conectado a um computador portátil para o armazenamento num banco de imagens. Em cada avaliação, feitas em intervalos de sete dias durante 10 semanas, foram geradas duas imagens por parcela, sendo uma na profundidade de 5 a 25 cm e outra na profundidade de 25 a 45 cm.

O tubo de acrílico foi instalado com a borda superior a aproximadamente 3 cm acima da superfície do solo, apresentando uma pequena variação de uma parcela para outra, devido ao rearranjo do solo (Figuras 2a e 2b). Um recipiente escuro foi colocado na parte superior do tubo de acrílico (Figura 2c e 2d) para evitar a entrada de luz durante a geração da imagem, como também, para padronizar a altura de trabalho do *scanner*, tomando como ponto inicial da imagem a linha do solo, e não a borda superior do tubo de acrílico.

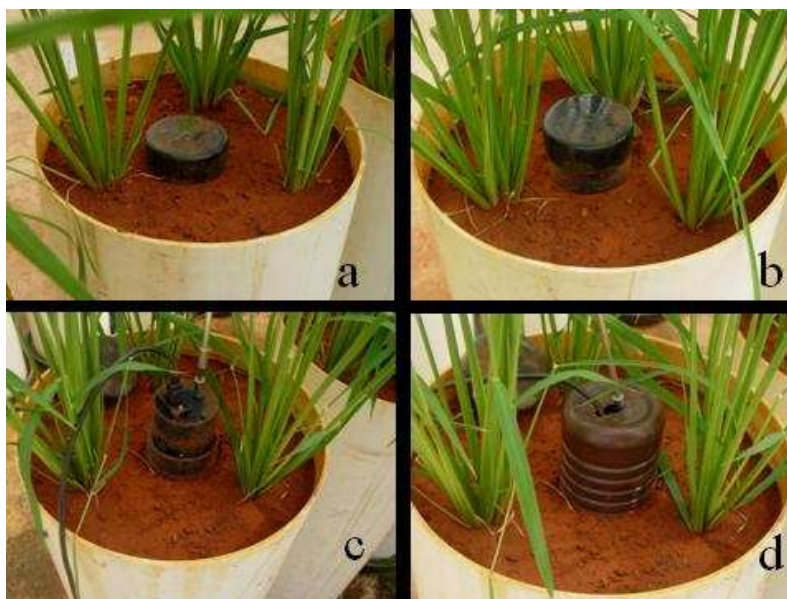


Figura 2: a) e b) Parcela com diferentes rearranjos do solo; c) *scanner* inserido no tubo de acrílico sem o recipiente de proteção; d) *scanner* inserido no tubo de acrílico com o recipiente de proteção.

Os dados obtidos em cada uma das quatro variáveis, ao longo das 10 semanas de avaliação, permitiram a geração de gráficos do desenvolvimento para os

caracteres de raiz. A estimativa da área sob a curva de crescimento radicular, com base nas quatro variáveis, foi usada para avaliar o desenvolvimento radicular das oito variedades de arroz. Gráficos XY foram obtidos onde a abscissa correspondeu ao intervalo de tempo (semana) e a ordenada aos valores obtidos para cada uma das variáveis do sistema radicular. Para isto, a área sob a curva foi dividida em 10 subintervalos pelo método dos trapézios. Cada intervalo entre semana correspondeu à área de um trapézio que, ao final, foram somadas, resultando na área total sob a curva ao longo das dez semanas. Os dados da área sob a curva de crescimento radicular foram obtidos por meio do *software* Excel 2007 (Microsoft Office Excel 2007).

A fórmula para o cálculo da integral no intervalo da semana 0 até a semana 10 foi:

$$A = \frac{h}{2} (f_0 + 2f_1 + 2f_2 + \dots + 2f_8 + 2f_9 + f_{10})$$

Onde  $h$  é a largura de cada subintervalo equidistante:

$$h = \frac{x_f - x_i}{n - 1}$$

Sendo  $x_f$  o valor final de  $x$ ,  $x_i$  o valor inicial de  $x$  e  $n$  o valor total de  $x$ .

### **Análises estatísticas**

Os dados da área sob a curva de desenvolvimento radicular ao longo das dez semanas para as variáveis comprimento da raiz (CR), volume da raiz (VR), diâmetro médio das raízes (DR), e estimativa da área de contato das raízes (AR), nas duas profundidades avaliadas foram submetidos à análise de variância conjunta de acordo com o modelo:

$Y_{ijk} = m + B_k + G_i + P_j + GP_{ij} + E_{ijk}$ , onde:

$Y_{ijk}$  = efeito do genótipo  $i$ , na profundidade  $j$  e no bloco  $k$ ;

$m$  = média geral do experimento;

$B_k$  = efeito do bloco  $k$ ;

$G_i$  = efeito do genótipo  $i$ ;

$P_j$  = efeito da profundidade  $j$ ;

$G_{Pij}$ = efeito da interação entre o genótipo  $i$  na profundidade  $j$ ;

$E_{ijk}$ = erro experimental do genótipo  $i$ , na profundidade  $j$  e no bloco  $k$ .

Os dados de cada variável também foram trabalhados de forma íntegra para cada parcela, somando-se os resultados da área sob a curva nas duas profundidades analisadas em cada uma das variáveis. Nesse caso o modelo estatístico foi o seguinte:

$Y_{ik} = m + B_k + G_i + E_{ik}$ , onde:

$Y_{ik}$  = efeito do genótipo  $i$  no bloco  $k$ ;

$m$ = média geral do experimento;

$B_k$ = efeito do bloco  $k$ ;

$G_i$ = efeito do genótipo  $i$ ;

$E_{ik}$ = erro experimental do genótipo  $i$  no bloco  $k$ .

As médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas utilizando-se o software estatístico Genes versão 2013.5.1 (Cruz, 2013).

### **3. Resultados e Discussão**

#### **Qualidade analítica das imagens**

O scanner de raiz possui um motor em sua extremidade superior, fazendo com que o feixe de luz gire em torno de um eixo central, e assim digitalize a área em volta do tubo de acrílico. A parte mais superficial (de 0 a 5 cm) do perfil do solo não foi digitalizada na imagem devido a ocupação dessa faixa pelo motor do scanner.

Através do recipiente que ocasionou o escurecimento do tubo de acrílico foi obtido um contraste mais nítido entre o solo e as raízes (Figura 3), proporcionando uma melhor quantificação das imagens por parte do software WinRhizo.

Os dados foram obtidos ao longo de dez semanas, devendo ser observado que na primeira semana de avaliação as raízes ainda não haviam atingido a camada de 25 a 45 cm de profundidade no solo.

Foi observada a ocorrência de pontos de enovelamento das raízes na profundidade de 5 a 25 cm (Figura 4), com mais frequência após oito semanas de avaliação nos genótipos com maior densidade de raiz.

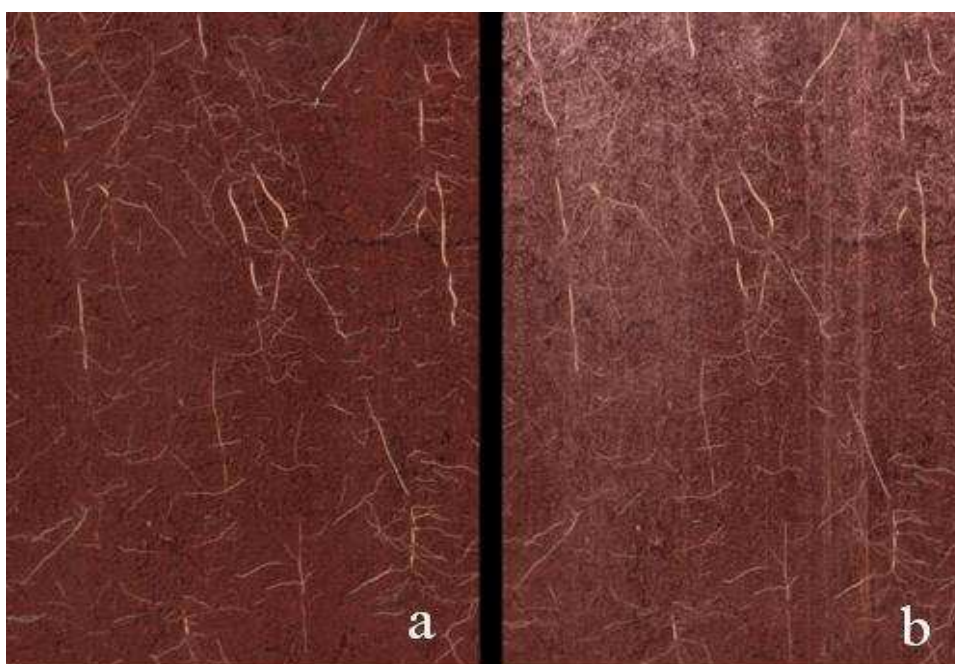


Figura 3: Imagem gerada pelo *scanner* CI 600 *Cano Scan*: a) com a utilização do recipiente para proteção contra a claridade e padronização; b) sem a utilização do recipiente para proteção contra a claridade e padronização.

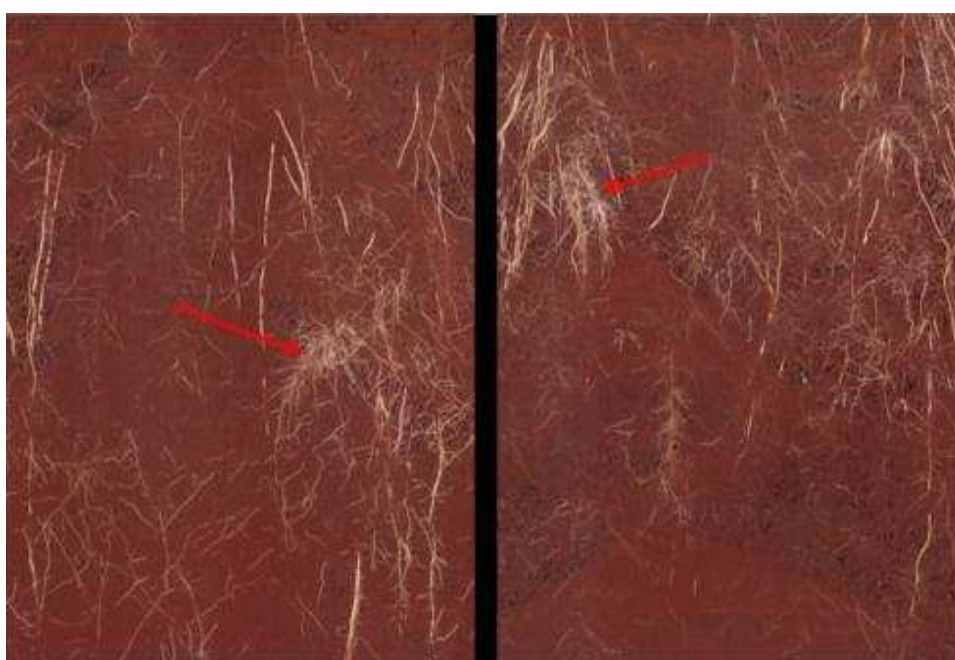


Figura 4: Pontos de enovelamento da raiz na camada de 5 a 25 cm em genótipos de arroz de terras altas subespécie *japônica*.

Enovelamentos de raiz causam dificuldade na quantificação dos dados e podem contribuir para o incremento do erro experimental, uma vez que o software que

quantifica as imagens comporta-se como sendo esse ponto uma única raiz. Em genótipos com sistema radicular muito desenvolvido e com espaço de solo limitado, como aqueles com alta densidade de plantio, esses pontos de enovelamento podem ocasionar competição das raízes na mesma planta por elementos do solo como água e nutrientes minerais.

Na parte mais profunda (25 a 45 cm), onde se encontram menor quantidade de raízes (Yoshida, 1981), não foram verificados esses pontos de enovelamentos nas imagens até a décima semana, podendo ser avaliada por um período de tempo maior.

### **Análise dos dados nas profundidades de 5 a 25 cm e de 25 a 45 cm**

A Tabela 2 apresenta o resumo da análise de variância com as estimativas dos quadrados médios para as características avaliadas. Foram encontradas diferenças significativas entre as variedades para as características CR ( $P < 0,01$ ) e AR ( $P < 0,05$ ). Não houve diferença significativa ( $P > 0,05$ ) para as variáveis VR e DR entre os genótipos. De acordo com Yoshida (1981) e Guimarães et al. (2002) o diâmetro das raízes em arroz gira em torno de 0,5 a 1,0 mm. Por esse motivo pode não ter sido encontrada diferença significativa entre os genótipos para essa variável.

As variedades tiveram diferenças no desenvolvimento do sistema radicular na profundidade de 5 a 25 cm em relação a 25 a 45 cm, o que foi evidenciado pelas diferenças altamente significativas ( $P < 0,01$ ) observadas para a fonte de variação “profundidade”, obtida para as quatro características avaliadas (Tabela 2).

Tabela 2: Resumo da análise de variância para as características do sistema radicular: comprimento total (CR), área de contato da raiz (AR), diâmetro médio (DR) e volume total (VR) nas duas profundidades avaliadas.

F. V.	GL	Quadrado médio			
		CR	AR	DR	VR
Bloco	3	71140,53	8832,23	0,81	5,54
Variedade	7	2274155,91**	118756,14*	0,99 <sup>ns</sup>	39,03 <sup>ns</sup>
Profundidade	1	55785626,76**	3065259,82**	140,63**	1026,49**
Var. x Prof.	7	521050,54*	43326,32*	0,72 <sup>ns</sup>	19,67*
Resíduo	45	169976,91	11910,68	0,92	4,90
Média <sup>1/</sup>		2377,71	454,03	5,60	6,92
CV (%)		17	24	17	32

\*\* , \* e <sup>ns</sup>: Significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

Todas as variáveis, com exceção do diâmetro da raiz, apresentaram diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) para a interação entre as variedades e a as profundidades de avaliação das raízes.

Analisando-se as médias das áreas sob a curva apresentadas na Tabela 3, verifica-se considerável variabilidade entre os oito genótipos estudados para caracteres do sistema radicular. Em geral, houve redução da área sob a curva de crescimento na profundidade de 25 a 45 cm, quando comparada com a profundidade de 5 a 25 cm. Resultado semelhante foi obtido por Guimarães et al. (2011) que encontraram redução do sistema radicular na camada de 20 a 40 cm em relação à camada de 0 a 20 cm do solo para 37 variedades de arroz de terras altas. O arroz é uma planta de hábito aquático, cujo processo evolutivo proporcionou a adaptação também em condições de sequeiro. Fato que deve ter contribuído para presença de maior concentração de raízes na camada mais superficial, uma vez que em condições aquáticas não é necessário o desenvolvimento radicular em profundidade em busca, principalmente de água.

Conforme a Tabela 3, as variedades com melhor desenvolvimento radicular estimado pelo CR e AR na profundidade de 5 a 25 cm foram, respectivamente, Azucena, Catetão e IAC 165, enquanto na profundidade de 25 a 45 cm foram, respectivamente, Azucena e IAC 165. Isto evidencia que Azucena e IAC 165 são as variedades com bom desenvolvimento das raízes nas duas profundidades de avaliação.

Tabela 3: Médias das áreas sob a curva para as variáveis comprimento (CR), área de contato 2D (A2D), área de contato das raízes com o solo (AR), diâmetro médio (DR) e volume (VR) ao longo de dez semanas de avaliação nas profundidades de 5 a 25cm e de 25 a 45cm.

Genótipos	CR		AR		DR		VR	
	5-25cm	25-45cm	5-25cm	25-45cm	5-25cm	25-45cm	5-25cm	25-45cm
Azucena	4597 Aa	2289 Ba	1020,0 Aa	393,2 Ba	8,05 Aa	4,14 Ba	17,39 Aa	5,32 Ba
Catetão	3862 Ab	1164 Be	808,5 Ab	177,9 Bd	7,34 Aa	4,19 Ba	14,53 Aa	2,30 Ba
IAC 165	3830 Ac	1812 Bb	782,7 Ac	280,2 Bb	7,46 Aa	4,15 Ba	12,86 Aa	3,10 Ba
Ligeiro	3332 Ad	1302 Bd	663,3 Ad	207,4 Bc	7,34 Aa	4,19 Ba	10,54 Aa	2,45 Ba
Chorinho	2856 Ae	1018 Bg	570,7 Ae	145,1 Be	7,18 Aa	4,00 Ba	9,15 Aa	1,86 Ba
Puteca	2718 Af	1132 Bf	517,0 Af	176,3 Bd	6,62 Aa	4,10 Ba	7,99 Aa	2,16 Ba
Moroberekan	2650 Ag	1419 Bc	506,2 Af	220,9 Bc	5,92 Aa	3,95 Ba	7,29 Aa	2,63 Ba
BRS Primav.	2647 Ag	1416 Bc	514,5 Af	280,1 Bb	6,74 Aa	4,22 Ba	7,67 Aa	3,54 Ba

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Babu et al. (2001) avaliaram variedades de arroz provenientes de várias partes do mundo e incluíram Azucena e IAC 165 entre os melhores genótipos para desenvolvimento radicular.

A Figura 4 mostra o comprimento das raízes (cm) para os oito genótipos estudados ao longo das dez semanas de avaliação.

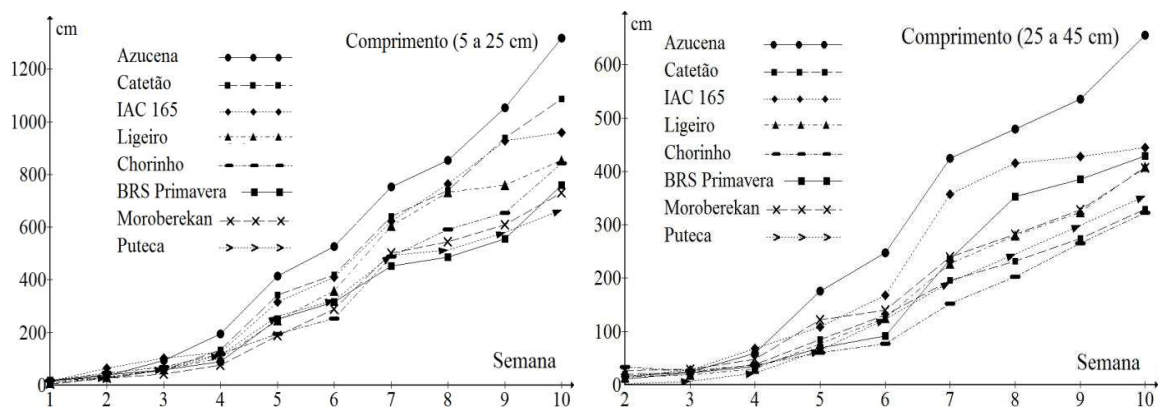


Figura 4: Comprimento das raízes (cm) nas profundidades de 5 a 25 cm e 25 a 45 cm em oito genótipos de arroz de terras altas ao longo das semanas de avaliação.

O gráfico do crescimento do sistema radicular indica que até quarta semana de avaliação as variedades mantiveram um crescimento de raiz gradual e sem grandes distinções entre os genótipos. Este período pode estar relacionado com o de maior perfilhamento nessas plantas de arroz, uma vez que existe um sincronismo entre a emissão dos perfilhos e a emissão de novas raízes adventícias (Guimarães et al., 2013). Após a quinta semana o incremento em CR foi mais expressivo para todos os materiais, aumentando em maior ou menor escala, dependendo do genótipo. Azucena manteve-se superior aos demais a partir da quarta semana até ao final das avaliações nas duas profundidades mensuradas. O genótipo IAC 165 manteve um crescimento acentuado até por volta da nona semana na profundidade de 5 a 25cm, reduzindo substancialmente o incremento no CR na décima semana. Já na profundidade de 25 a 45cm esse genótipo apresentou pouco incremento a partir da oitava semana. Tal fato pode estar relacionado com o período de florescimento desse genótipo que reduz o crescimento das raízes a fim de redirecionar grande parte dos fotoassimilados para os grãos. Azucena continuou em estágio vegetativo até o final da avaliação do sistema radicular raízes, continuando o crescimento das raízes.

Em trabalho desenvolvido por Terra (2008), com variedades tradicionais brasileiras avaliadas para tolerância à seca em condições de campo, as variedades Catetão e Ligeiro foram incluídas no grupo de acessos mais tolerantes ao déficit hídrico. Entre as características responsáveis por este comportamento, o autor discute a possível influência do sistema radicular mais agressivo e profundo destas variedades. Moroberekan é uma variedade que apresenta crescimento radicular bem desenvolvido, principalmente em profundidade, não apresentando, contudo, tolerância à condição de deficiência hídrica quando o crescimento das raízes é restrito (Henry, 2013).

A variável AR é uma característica de grande importância, pois estima o quanto da superfície da raiz está em contato com o solo. Os melhores genótipos na profundidade de 5 a 25 cm foram, Azucena, Catetão e IAC 165 e na profundidade de 25 a 45 cm, Azucena, IAC 165 e BRS Primavera. Azucena e IAC 165 foram superiores aos demais nas duas profundidades de avaliação. Na Figura 5 são apresentados os incrementos na AR para as oito variedades ao longo das semanas avaliadas.

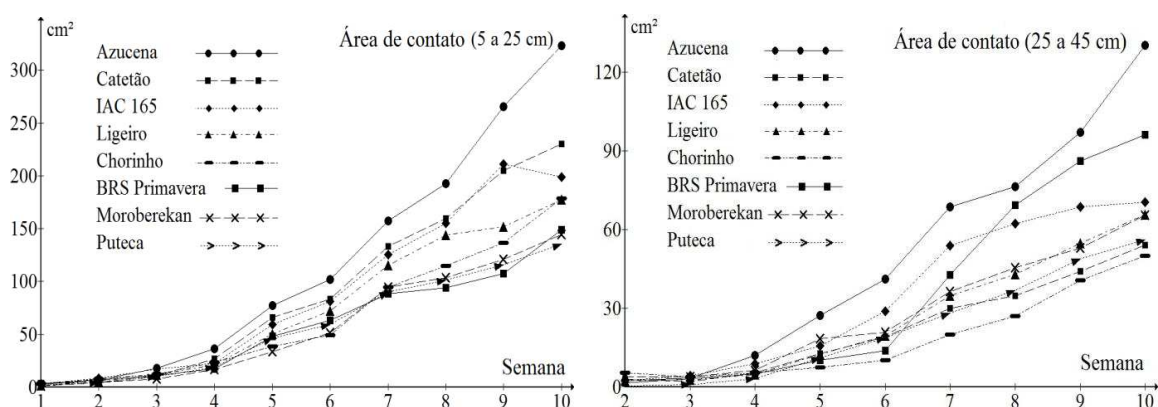


Figura 5: Área de contato da raiz ( $\text{cm}^2$ ) nas profundidades de 5 a 25 cm e de 25 a 45 cm em oito genótipos de arroz de terras altas ao longo das semanas de avaliação.

A variedade Azucena teve um aumento da área do sistema radicular mais expressivo a partir da quarta semana, principalmente nas duas profundidades, com tendência crescente da AR até a décima semana de avaliação. IAC 165 apresentou um declínio na AR a partir da nona semana, o que coincidiu com o período de amadurecimento dos grãos nessa variedade, pois pode ter começado a senescência das raízes.

O diâmetro das raízes não teve diferenças significativas entre variedades nas duas profundidades de avaliação. Entretanto, observa-se diminuição nos valores dessa característica na região mais profunda do solo quando comparada com a camada mais superficial (Tabela 3). Isso pode ser devido à maior quantidade de ramificações do sistema radicular à medida que aumenta a profundidade de solo, levando à redução no diâmetro médio das raízes secundárias, terciárias e quaternárias (Guimarães et al., 2002). Na figura 6 são apresentados os DR para os oito genótipos avaliados ao longo das dez semanas de avaliação.

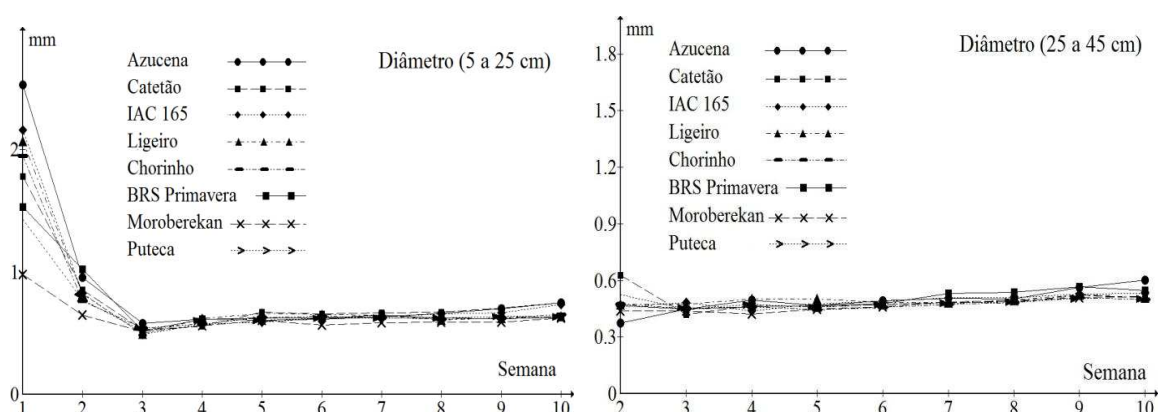


Figura 6: Diâmetro radicular médio (mm) nas profundidades de 5 a 25 cm (a) e 25 a 45 cm (b) em oito genótipos de arroz de terras altas ao longo das semanas de avaliação.

Observa-se que no início das avaliações foram detectados os maiores valores de diâmetro de raiz (Figura 6), tornando-se mais finas com o passar das semanas. Nas primeiras semanas de avaliação as plantas de arroz emitem as raízes primárias, seguidas das secundárias, terciárias e assim por diante. As raízes primárias, em geral, são mais grossas que as secundárias, e essas mais grossas que as terciárias e assim sucessivamente (Yoshida, 1981).

O volume do sistema radicular é, também, de grande importância e muito utilizado em trabalhos de raiz para a cultura do arroz (Courtois et al., 2009). Nesse experimento, as variedades não apresentaram diferenças significativas entre as médias de VR para as duas profundidades avaliadas (Tabela 3). Semelhante ao ocorrido com o DR, o VR reduziu significativamente ( $P < 0,01$ ) na profundidade de 25 a 45 cm em todas as variedades avaliadas em relação à profundidade de 5 a 25 cm. Verificou-se

incremento mais expressivo no volume a partir da quinta semana de avaliação, principalmente para as variedades Azucena e IAC 165 (Figura 8).

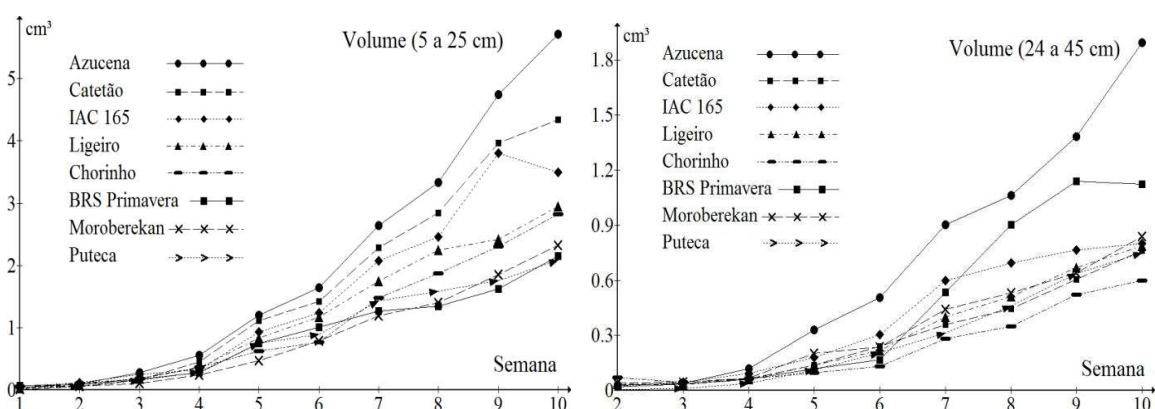


Figura 8: Volume radicular ( $\text{cm}^3$ ) nas profundidades de 5 a 25 cm (a) e 25 a 45 cm (b) em oito genótipos de arroz de terras altas ao longo das semanas de avaliação.

Price et al. (1997) estudando sistema radicular em arroz, encontraram menores valores para as variáveis comprimento, volume e diâmetro médio das raízes para a variedade Moroberekan em relação à variedade Azucena. Observaram, ainda, que a variedade IAC 25, um dos genitores de IAC 165, apresentava valores de comprimento, volume e diâmetro médio das raízes menores que Azucena.

### Análise dos dados na profundidade de 5 a 45 cm

A análise da soma dos dados coletados nas profundidades de 5 a 25 e de 25 a 45 cm de profundidade para cada uma das variáveis, encontrados na Tabela 4, indicaram que, com exceção do DR ( $P > 0,05$ ), existe diferença altamente significativa ( $P < 0,01$ ) entre médias das variedades para os caracteres CR, AR e VR.

Tabela 4: Análise de variância para as variáveis comprimento da raiz (CR), estimativa da área de contato da raiz (AR), diâmetro médio da raiz (DR) e volume da raiz (VR) na profundidade de 5 a 45 cm.

F. V.	GL	Quadrado médio			
		CR	AR	DR	VR
Bloco	3	163868,96	18482,97	1,75	11,46
Variedade	7	4441320,22**	234711,74**	1,37 <sup>ns</sup>	77,16**
Resíduo	21	589852,93	37372,30	1,79	13,60
Média		4749,17	907,17	6,50	13,83
CV (%)		16	21	21	27

\*, \*\* e <sup>ns</sup>: Significativo ao nível de 5 e 1% de probabilidade e não significativo, respectivamente, pelo teste F.

Quando se observa o teste comparativo entre as médias das oito variedades utilizadas no estudo, que estão apresentadas na Tabela 5 verifica-se que Azucena apresentou maior desenvolvimento radicular, seguida por IAC 165 e Catetão, para as variáveis CR, AR e VR na profundidade de 5 a 45 cm.

Tabela 5: Médias das áreas sob a curva para características de raiz, comprimento (CR), área de contato das raízes (AR) e volume (VR) ao longo de dez semanas de avaliação na profundidade de 5 a 45cm.

Genótipos	CR	AR	VR
Azucena	6841,32 a	1408,19 a	22,6103 a
IAC 165	5641,41 ab	1062,97 ab	15,958 ab
Catetão	5026,11 ab	986,439 ab	16,8295 ab
Chorinho	3873,5 b	715,818 b	11,0135 b
Puteca	3850,77 b	692,545 b	10,144 b
BRS Primavera	4062,98 b	794,665 b	11,2128 b
Moroberekan	4068,66 b	727,138 b	9,916 b
Ligeiro	4628,6 b	869,572 b	12,9753 b

Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Azucena é uma variedade tradicional das Filipinas, do grupo japônica tropical, tendo como características bom desenvolvimento radicular (Babu et al., 2001) e significativa tolerância ao estresse de seca (Gomez et al. 2006; Laffite et al., 2004; Price et al., 2002). IAC 165 lançado no início da década de 80, é um genótipo com alta rusticidade e boa produtividade mesmo quando comparado com variedades de terras altas atuais. Contudo, caiu em desuso devido ao tipo de grão longo e grosso, que não é muito aceito pelo mercado consumidor do Brasil. Catetão é uma variedade tradicional de arroz coletada no estado do Mato Grosso, Brasil, subespécie japônica tropical, apresentando elevada produtividade, com plantas altas e grãos tipo longo. É considerado um genótipo tolerante ao estresse por deficiência hídrica (Terra, 2008). Esses três genótipos apresentam certa tolerância ao estresse de seca, o que pode ser atribuído, em partes, ao seu bom desenvolvimento radicular como aqui observado.

A extração e separação das raízes e do solo nos métodos tradicionais avaliados de forma *ex situ*, mesmo tomando os devidos cuidados, são fontes de erro na determinação quantitativa de caracteres de raiz (Dubrovskya e Forde, 2012). O método utilizando o scanner CI 600 *Cano Scan* gera uma imagem do sistema radicular *in situ*, permitindo a separação das raízes e do solo pela diferença entre contrastes dos *pixels* da

imagem, que pode ser realizado por diferentes softwares desenvolvidos com esse objetivo (Le Bot et al., 2010). Por esse motivo, infere-se que as atividades de extração e separação das raízes não são incluídas no erro experimental nesse método, reduzindo, por consequência, o coeficiente de variação do experimento (CV).

Em genótipos com sistema radicular muito desenvolvido, com limitada área para o crescimento das raízes e em semanas avançadas de avaliação as imagens nas camadas mais superficiais podem ficar comprometidas. Isso se deve ao fato da grande formação de raízes em pontos da imagem, chamados aqui de pontos de enovelamento. Contudo, as análises podem decorrer por um período de tempo maior em áreas mais profundas do solo.

A velocidade de obtenção das imagens permitiu que centenas de amostras pudessem ser obtidas diariamente formando um ‘banco de imagens’. Aspectos que são positivos ao uso dessa metodologia de fenotipagem de próxima geração.

A metodologia é dinâmica e possibilita a coleta de um grande número de imagens do sistema radicular de forma não destrutiva, permitindo o acompanhamento do crescimento das raízes ao longo do tempo em diferentes profundidades do solo. Essa metodologia se encaixa no termo *Fenômica* ou fenotipagem de próxima geração (*Next-Generation Phenotyping*) que é entendida como a fenotipagem em larga escala, de forma acurada, precisa, relevante e dentro de custos aceitáveis (Frische-Neto e Borém 2013).

#### **4. Conclusão**

O bioensaio desenvolvido apresenta-se como metodologia rápida, prática, precisa e eficiente de avaliação *in situ* do sistema radicular em plantas, o que possibilita o acompanhamento do crescimento das raízes ao longo do tempo, e em diferentes profundidades do solo.

Entre as variedades de arroz utilizadas no estudo, Azucena obteve os maiores valores para as variáveis CR, AR e VR, seguida por IAC 165, apresentando um crescimento do sistema radicular bem expressivo tanto na parte mais superficial quanto em camadas mais profundas do solo.

A metodologia pode ser indicada para diversas atividades de pesquisa como em várias etapas dentro do melhoramento de plantas, em estudos genômicos e hereditários dos caracteres de raiz, em trabalhos com respostas das plantas a atividades física ou química dos solos, em fitopatologia, em botânica, dentre outras.

## 5. Referências bibliográficas

ABREU, F. L. G. Avaliação de sistema radicular de porta-enxertos para lima ácida ‘tahiti’ [*Citrus latifolia* (yu.tanaka) tanaka] e relação com atributos do solo. **Dissertação**, UFPI – Universidade Federal do Piauí. Teresina - PI, 42 p. 2005.

BABU, R. C.; SHASHIDHAR, H. E.; LILLEY, J. M.; THANH, N. D.; RAY, J. D.; SADASIVAM, S.; SARKARUNG, S.; O'TOOLE, J. C.; NGUYEN, H. T. Variation in root penetration ability, osmotic adjustment and dehydration tolerance among accessions of rice adapted to rainfed lowland and upland ecosystems. **Plant Breeding**, v.120, p. 233-238, 2001.

BÖHM, W. **Methods of studying root systems**. New York, Springer-Verlag, 1979. 189p.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.

CAIRNS, J. E.; AUDEBERT, A.; MULLINS, C. E.; PRICE, A. H. Mapping quantitative trait loci associated with root growth in upland rice (*Oryza sativa* L.) exposed to soil water-deficit in fields with contrasting soil properties. **Field Crops Research**, v. 114, 2009, p. 108–118.

COURTOIS, B.; AHMADI, N.; KHOWAJA, F. PRICE, A. H.; RAMI, J. F.; FROUIN, J.; HAMELIN, C.; RUIZ, M. Rice root genetic architecture: meta-analysis from a drought QTL database. **Rice**, v. 2, p. 115-128, 2009. DOI 10.1007/s12284-009-9028-9.

COURTOIS, B.; SHEN, L.; PETALCORIN, W.; CARANDANG, S.; MAULEON, R.; LI, Z. Locating QTLs controlling constitutive root traits in the rice population IAC 165 × Co39. **Euphytica**, v. 134, 2003, p. 335-345.

DANNOURA, M.; KOMINAMI, Y.; OGUMA, H.; KANAZAWA, Y. The development of an optical scanner method for observation of plant root dynamics. **Plant Root**, n.2, p.14-18, 2008.

DUBROVSKYA, J. G.; FORDE, B. G. Quantitative analysis of lateral root development: pitfalls and how to avoid them. **The Plant Cell**, v.24, n.1, p.4-14, 2012.

FANTE JÚNIOR, L.; REICHARDT, K.; JORGE L. A. C.; CRESTANA, S.; Distribuição do sistema radicular do milho em terra roxa estruturada latossólica: I.

Comparação de metodologias. **Scientia Agricola**, Piracicaba, n.51, v.3, p. 513-518, 1994

FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. Fenômica. In: BORÉM, A. E FRITSCHÉ-NETO, R. **Ômicas 360°: Aplicações e Estratégias para o Melhoramento de Plantas**. Visconde do Rio Branco: Editora Suprema. p. 243-245, 2013.

GOMEZ, S. M.; KUMAR, S. S.; JEYAPRAKASH, P.; SURESH, R.; BIJI, K. R.; BOOPATHI, N. M.; PRICE, A. H.; BABU, R. C. Mapping QTLs Linked to Physio-Morphological and Plant Production Traits under Drought Stress in Rice (*Oryza sativa* L.) in the Target Environment. **American Journal of Biochemistry and Biotechnology**, v. 2, n. 4, p. 161-169, 2006.

GAMUYAO, R.; CHIN, J. H.; PARIASCA-TANAKA, J.; PESARESI, P.; CATAUSAN, S.; DALID, C.; SLAMET-LOEDIN, I.; TECSON-MENDOZA, E. M.; WISSUWA, M.; HEUER, S. The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. **Nature**, 488, n. 7412, 2012, p. 535–539.

GUIMARÃES, C. M.; FAGERIA, N. K.; BARBOSA FILHO, M. P. Como a planta de arroz se desenvolve. **Potafós**, Arquivo do Agrônomo, v. 13, 2002

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; OLIVEIRA, J. P.; RANGEL, P. H. N.; RODRIGUES, C. A. P. Sistema radicular do arroz de terras altas sob deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, Goiânia, v. 41, n. 1, 2011, p. 126-134.

HENRY, A. IRRI's drought stress research in rice with emphasis on roots: accomplishments over the last 50 years. **Plant Root**, v. 7, 2013, p. 5-19.

HERDER, G. D.; ISTERDAEL, G. V.; BEECKMAN, T.; DE SMET, I. The roots of a new green revolution. **Trends in Plant Science**, v.15, n.17, 2010, p.600-607.

KONO, Y.; YAMAUCHI, A.; NONOYAMA, T.; TATSUMI, J.; KAWAMURA, N. A revised experiment system of root-soil interaction for laboratory work. **Environment Control in Biology**. v. 25, n. 4, p. 141–151, 1987.

LAFITTE, H. R.; PRICE, A. H.; COURTOIS, B. Yield response to water deficit in an upland rice mapping population: associations among traits and genetic markers. **Theoretical Applied Genetics**. v.109, p. 1237 - 1246, 2004.

LE BOT, J.; SERRA, V.; FABRE, J.; DRAYE, X.; ADAMOWICZ, S.; PAGÈS, L. DART: a software to analyse root system architecture and development from captured images. **Plant Soil**, v. 326, p. 261–273, 2010. DOI 10.1007/s11104-009-0005-2

LEITNER, D.; SCHNEPF, A. Image analysis of 2-dimensional root system architecture. **Proceedings of Algoritmy**. p. 113-119, 2012.

MUÑOZ-ROMERO, V.; BENÍTEZ-VEGA, J.; LÓPEZ-BELLIDO, L.; LÓPEZ-BELLIDO, R. J. Monitoring wheat root development in a rainfed vertisol: Tillage effect. **European Journal Agronomy**. v.33, p. 182-187, 2010.

PRICE A. H.; CAIRNS, J. E.; HORTON, P.; JONES, H. G.; GRIFFITHS, H. Linking drought-resistance mechanisms to drought avoidance in upland rice using a QTL approach: progress and new opportunities to integrate stomatal and mesophyll responses. **Journal of Experimental Botany**, v. 53, n. 371, p. 989-1004, 2002.

PRICE, A. H.; TOMOS, A. D.; VIRK, D. S. Genetic dissection of root growth in rice (*Oryza sativa* L.) I: a hydroponic screen. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 95, n.2, 1997, 132-142.

SHASHIDHAR, H. E.; HENRY, A.; HARDY, B. Methodologies for root drought studies in rice, **International Rice Research Institute**, Metro Manila, Philippines, 2013, 65p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia Vegetal**, Tradução de: Elaine R. Santarém, [et al.], 3ª ed., Porto Alegre, Artimed, 2004, 719 pág.

TERRA, T. G. R. Avaliação de características morfofisiológicas de tolerância à seca em uma coleção nuclear de acessos de arroz de terras altas (*Oryza sativa* l.). **Dissertação** (Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal do Tocantins - UFT. Gurupi, 2008.

TOPP, C. N.; IYER-PASCUZZI, A. S.; ANDERSON, J. T.; LEE, C.; ZUREK, P. R.; SYMONOA, E.; ZHENG, Y.; BUCKSCH, A.; MILEYKO, Y.; GALKOVSKYI, T.; MOORE, B. T.; HARER, J.; EDELSBRUNNER, H.; MITCHELL-OLDS, T.; WEITZ, J. S.; BENFEY, P. N. 3D phenotyping and quantitative trait locus mapping identify core regions of the rice genome controlling root architecture. **Plant Biology**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. v.110, n.18, 2013, p.1695-1704.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. International Rice Research Institute, Los Baños, Philippines, p. 30-39, 1981.

VASCONCELOS, A. C. M.; CASAGRANDE, A. A.; PERECIN, D.; JORGE, L. A. C.; LANDELL, M. G. A. Avaliação do sistema radicular da cana-de-açúcar por diferentes métodos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v.27, p.849-858, 2003.

## 5. CAPÍTULO 2

### Fenômica radicular em uma coleção nuclear de arroz de terras altas

#### Resumo

Coleções nucleares são formadas com objetivo de obter o menor número de genótipos com o máximo de representação alélica. O conhecimento dos caracteres fenotípicos nessas coleções é uma importante ferramenta para os programas de melhoramento. O objetivo desse trabalho foi avaliar caracteres de raiz em uma Coleção Nuclear Temática de Arroz para Tolerância à Seca (CNAS). Foram utilizados 87 acessos pertencentes à CNAS da Embrapa em delineamento em blocos ao acaso, com três repetições, sob condição controlada. Foi utilizada uma metodologia não destrutiva com a digitalização de imagens por meio de um *scanner* de raiz (CI – 600 *Root Scan*) e quantificação por meio do *software WinRhizo* versão 2008b. Os genótipos com sistema radicular mais desenvolvido para a condição de casa telada na profundidade de 5 a 25 cm foram Cajueiro Liso e Panamá. Já na profundidade de 25 a 45 cm os maiores sistemas radiculares foram de Meruim Ligeiro, Samambaia Amarelo e Legítimo. Tomando como base uma dissimilaridade de 20% entre os genótipos da CNAS foram formados nove grupos por meio do método de agrupamento do vizinho mais distante, mostrando a existência de grande variabilidade entre os acessos da CNAS para caracteres de raiz.

**Palavras chave:** fenômica, raiz, coleção nuclear, arroz, diversidade

#### 1. Introdução

O conhecimento da diversidade genética expressa por meio de caracteres fenotípicos é ferramenta essencial para a escolha de genitores nos programas de melhoramento. A análise da diversidade genética se destina à identificação de genitores mais adequados à obtenção de híbridos com maior efeito heterótico, proporcionando maior segregação em recombinações e o aparecimento de genótipos transgressivos (Cruz e Carneiro, 2006).

O Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Arroz e Feijão possui acervo de aproximadamente 27.006 acessos de arroz, sendo: 2.732 variedades

tradicionais do Brasil, 7.080 linhagens ou variedades oriundas de programas de melhoramento, 238 acessos de espécies silvestres coletadas no Brasil, e ainda, 16.956 acessos provindos da Coleção de arroz dos Estados Unidos (Rangel et al., 2013). O uso desses acessos como fonte de variabilidade genética para inúmeras características desejáveis nos programas de melhoramento é, sem sombra de dúvidas, relevante tesouro para a humanidade e o conhecimento desse background genético é indispensável quando se trata da busca de alelos de interesse.

Existe, porém, a dificuldade de realizar nessas coleções a avaliação, caracterização e documentação devido ao grande número de acessos existentes. Assim, apenas cerca de 4% dos acessos armazenados em todo o mundo vêm sendo utilizados (Vasconcelos, et al. 2007). No entanto, existe a possibilidade de se trabalhar com uma amostra que represente o *background* genético da população original, que nesse caso é conhecida como *core collection* ou *coleção nuclear* (Frankel e Brown, 1984). Esta estratégia permite priorizar e concentrar a aplicação de recursos de modo a formar um banco de dados mais completo sobre este conjunto de acessos levando, efetivamente, a ampliação no uso do germoplasma (Abadie et al., 2005).

Com intuito de desenvolver coleções de acessos com foco em determinados temas Pessoa-Filho et al. (2007) desenvolveram uma coleção nuclear temática de arroz para tolerância à seca, contendo 86 genótipos de arroz de terras altas (*Oryza sativa* subesp. *japônica*) provenientes das variedades tradicionais de coleta intitulada *Coleção Nuclear Temática de Arroz para Tolerância à Seca* (CNAS) da Embrapa. Essa coleção representa 85% da riqueza alélica de uma população formada por 485 acessos de arroz da subespécie japônica.

O comportamento das plantas para determinadas características acima do solo tornam-se mais fáceis de serem explicadas quando se compreende o que acontece abaixo da superfície do solo, principalmente, com relação ao crescimento e à distribuição de raízes no perfil do solo (Vasconcelos et al. 2003). Algumas características de grande importância agrônômica em plantas de arroz dependem direta ou indiretamente das raízes, que podem ser atacadas por larvas de insetos aquáticos causando a chamada bicheira da raiz (Oliveira et al., 2010) e pelo fungo *Pythium arrenomanes* causador da podridão da raiz. O sistema radicular do arroz influencia, ainda, a absorção de nutrientes (Li et al., 2009; Topp et al., 2013), a tolerância a solos

ácidos ou alcalinos, e a tolerância ao estresse de seca (Henry et al., 2011; Uga et al., 2013), que é o principal estresse abiótico responsável pela redução na produção do arroz sob o sistema de terras altas (Uga et al., 2011).

O objetivo desse trabalho foi fenotipar o sistema radicular da *Coleção Nuclear Temática de Arroz (subesp. japônica) para Tolerância a Seca* (CNAS) da Embrapa, por meio do scanner de raiz CI-600.

## 2. Material e Métodos

Este trabalho foi desenvolvido na Fazenda Palmital da Embrapa Arroz e Feijão, no município de Goianira – GO, entre os meses de agosto de 2011 a junho de 2012. O delineamento utilizado foi o de blocos casualizados com três repetições, conduzidos sob condição controlada.

A unidade experimental constou de um cano de polietileno de 30 cm de diâmetro interno com 80 cm de altura. No interior desse cano foi instalado um tubo de acrílico com 6,4 cm de diâmetro interno por 67 cm de comprimento envolto com latossolo vermelho, textura argilosa (Tabela 1).

Tabela 1: Resultado da análise do solo, 2011.

Análise de solo										
M.O.	pH	P(Mel.)	K	Ca	Mg	Al	H + Al.	Areia	Silte	Argila
%	CaCl <sub>2</sub>	mg dm <sup>-3</sup>	cmol dm <sup>-3</sup>				g kg <sup>-1</sup>			
1,9	5,4	0,5	0,24	2,0	0,8	0,0	2,5	590,0	120,0	290,0

Na ocasião do enchimento dos canos foram misturados, por meio de uma betoneira, 250 gramas do adubo 5-25-15 (N, P e K, respectivamente) no solo de cada parcela. Em volta do tudo de acrílico foram transplantadas três plantas de arroz com uma semana de emergência formando um triângulo.

O material genético utilizado foi a CNAS composta por 86 acessos provenientes do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) da Embrapa Arroz e Feijão. Foi incluída, ainda, a testemunha BRS Primavera, uma cultivar destinada ao cultivo em terras altas com boas características agrônômicas, principalmente tipo de grão (Tabela 2).

Duas semanas após o transplante iniciou-se a obtenção das imagens na profundidade de 5 a 25 cm e, na semana seguinte, na profundidade de 25 a 45 cm, quando se verificou a presença de raízes nessa profundidade. As imagens foram digitalizadas através de um *scanner* (CI – 600 *Cano Scan*) inserido no tubo de acrílico, sendo escaneada a superfície em volta desse tubo. As avaliações decorreram semanalmente até a oitava semana.

Tabela 2: Coleção nuclear temática de arroz de terras altas para tolerância a seca da Embrapa Arroz e Feijão com o código do acesso no Banco Ativo de Germoplasma.

BAG <sup>1/</sup>	Trat <sup>2/</sup>	Acessos	BAG	Trat	Acessos	BAG	Trat	Acessos
CA780044	1	Cateto Seda	CA800034	30	Iguapé sem Aresta	CNA 937	59	Catalão
CA780059	2	Maruim	CA800150	31	Vermelhão	CNA 1420	60	Carreon
CA780158	3	Cajueiro Liso	CA810050	32	Samambaia Amarelo	CNA 4487	61	Makouta
CA780033	4	Enche Tulha	CA810038	33	Samambaia	CNA 5667	62	Beira Campo Dourado
CA780170	5	Formosa	CA820069	34	Paulista	CNA 4623	63	Pico Negro
CA780202	6	Arroz Maranhão	CA820103	35	Arroz Carolino	CNA 4762	64	Paná
CA780287	7	Paulista Dourado	CA830133	36	Arroz Catetão	CA800143	65	Agulhinha Tardio
CA780299	8	Meruim Ligeiro	CA840023	37	Gergelim	CA790241	66	Muruim Branco
CA780301	9	Maranhão (Verdadeiro)	CA840049	38	Arroz do Sul	CA790359	67	Toró Vermelho
CA780308	10	Amarelão Ligeiro	CA860089	39	Arroz Branco Bico Preto	CA800015	68	Douradão
CA780217	11	Puteca	CA870050	40	Branco 4 Meses	CA800178	69	Arroz Agulhinha
CA780329	12	Comum Crioulo	CA840058	41	Arroz Cabeludo	CA870068	70	Arroz Comprido
CA780336	13	Pratão Goiano	CA870056	42	Carioca / Rabo carneiro	CA940003	71	Japonês
CA780261	14	Prata Branco	CA840148	43	Fundo Roxo	CA970012	72	Agulhinha Vermelho
CA790032	15	Palha Murcha	CA870078	44	3 meses amarelo	CA980005	73	Arroz Toro Graúdo
CA780281	16	Cano Roxo	CA870092	45	Branquinho	CA980008	74	Arroz Agulha
CA790282	17	Chatão Vermelho	CA870109	46	4 Meses Antigo	CA980029	75	Arroz Pindare
CA790301	18	Ligeiro	CA870139	47	Noventinha	CNA 2878	76	Rexoro
CA780295	19	Santo Américo	CA870152	48	Carolina	CNA 3275	77	64 Dias
CA790328	20	Vermelho	CA870175	49	Arroz do Maranhão	CNA 3487	78	Lambari
CA780324	21	Cacho Duplo	CA870177	50	Arroz Roxo ou Caqui	CNA 3151	79	Zenith
CA790346	22	Nenén	CA880010	51	Legítimo	CNA 4510	80	Piedad
CA800068	23	Amarelão / Douradão	CA880053	52	Bico Ganga Cana Roxa	CNA 8429	81	Agulhinha Ipameri
CA800081	24	Brejeiro / Nenenzinho	CNA 5659	53	Arroz Ligeiro	CA960008	82	Caiana Grande
CA800082	25	Brejeiro	CA880093	54	Arroz Periquito	CA790238	83	Jatobá
CA800091	26	Quebra Cacho	CA870064	55	Arroz Santa Inês	CA780357	84	Araçatuba
CA800127	27	Bico de Rola	CA880081	56	Catetão	CA790176	85	Buriti Vermelho
CA790337	28	Muruim Branco	CA980023	57	Arroz Canela de Ferro	CNA 3056	86	Tapuripa
CA800020	29	Douradão / Amarelão	CNA 27	58	Agulha ESAV	CNA 8070	87	BRS Primavera

<sup>1/</sup> Código de acesso Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão; <sup>2/</sup> Tratamento.

As imagens geradas pelo *scanner* foram analisadas por meio do *software* de análise de imagens WinRhizo, versão 2008, o qual disponibiliza, dentre algumas características o comprimento total das raízes (CR), volume total (VR), diâmetro médio

das raízes (DR) e estimativa da área de contato das raízes com o solo (AR). Os dados obtidos desta forma possibilitaram a geração de gráficos do desenvolvimento radicular ao longo das semanas para as variáveis descritas. A partir desses gráficos foram gerados dados sob a curva de crescimento das raízes ao longo das semanas de avaliação. Utilizou-se para tanto o método dos *trapézios*.

O método utilizando o scanner CI 600 Cano Scan gera uma imagem do sistema radicular, o que permite a separação das raízes e do solo pela diferença entre contrastes dos *pixels* da imagem pelo software WinRhizo. Essa fenotipagem em larga escala, rápida e de forma acurada pode ser inserida no termo Fenômica (Fritsch-Neto e Borém, 2013).

Os dados foram submetidos à análise de variância conjunta nas duas profundidades na condição de casa telada, cujo modelo matemático foi  $Y_{ijk} = \mu + B_k + G_i + P_j + GP_{ij} + E_{ijk}$ .

As médias das variedades no experimento em casa telada foram comparadas pelos testes de Tukey ou pelo agrupamento Scott-Knott, também, a 5% de probabilidade. Considerando-se as variáveis do sistema radicular na condição de casa telada, foi formado um dendrograma com método de Mahalanobs para estimar as dissimilaridades, e o agrupamento por meio do Vizinho Mais Distante (Cruz e Carneiro, 2006), utilizando-se o *software* de análises estatísticas Genes v.2013, 5.1 (Cruz, 2013).

### **3. Resultados e Discussão**

De posse dos dados da área sob a curva de crescimento na condição de casa telada efetuou-se a análise de variância conjunta para as quatro variáveis do sistema radicular da CNAS, nas profundidades de 5 a 25 cm e de 25 a 45 cm (Tabela 2).

Com base na análise de variância observa-se a existência de diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) para as variáveis do sistema radicular CR, AR, DR e VR entre contrastes de médias dos genótipos e das profundidades, e, a ocorrência de interação entre genótipo e profundidade de raiz na CNAS. Essas diferenças encontradas na análise de variância podem ser atribuídas à grande variabilidade genotípica encontrada nessa população, refletida fenotipicamente nas variáveis do sistema radicular.

Tabela 2: Resumo da análise de variância para área sob a curva de crescimento nas variáveis do sistema radicular: comprimento (CR), área de contato (AR), diâmetro médio (DR) e volume (VR) em duas profundidades avaliadas (5-25 e 25-45 cm) em uma CNAS. Goiânia, 2013.

F, V,	GL	Quadrado médio			
		CR	AR	DR	VR
Bloco	2	1571325,08	38937,80	6,507	7,216
Variedade	86	1145470,40**	31442,49**	0,25**	6,183**
Profundidade	1	116991626,15**	5513885,94**	254,047**	1453,926**
Interação	86	1050252,84**	28295,27**	0,214**	5,320**
Resíduo	346	95539,70	2590,11	0,145	0,553
Média		1686,1015	276,5481	3,4129	3,6871
CV (%)		18,33	18,40	4,09	20,16

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade pelo teste F.

Verificada a presença de diferenças significativas, aplicou-se o teste de comparativo e de agrupamento entre médias dos genótipos para as quatro variáveis avaliadas e nas duas profundidades (Tabela 5).

Quando se observa o teste comparativo entre médias de CR para a área sob a curva de crescimento de raiz todos os acessos evidenciam diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) entre as profundidades avaliadas. A grande maioria apresenta redução no comprimento de raiz da camada mais superficial (5 a 25 cm) para a camada mais profunda (25 a 45 cm). Contudo, alguns materiais mostraram comportamento contrário, apresentando maior comprimento de raiz na profundidade 25 a 45 cm em relação à camada mais superficial (5 a 25 cm), sendo eles: Arroz Ligeiro, Samambaia Amarelo, Arroz Cabeludo, Tapuripa, Beira Campo Dourado, Agulhinha Vermelho, BRS Primavera, Arroz Branco Bico Preto, Iguape sem Aresta, Arroz do Sul e 4 Meses Antigo.

Os dados sob a curva para a variável CR na profundidade de 5 a 25 cm, os genótipos que mais se destacaram foram: Cajueiro Liso e Panamá. O acesso Cajueiro Liso é um genótipo coletado pela Embrapa com ciclo aproximado, até o florescimento, de 90 dias e porte mais elevado (em torno de 116 cm). Já o Panamá é um acesso proveniente do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) com ciclo até o florescimento em torno de 89 dias e altura de 98 cm (Adorian, 2010). Na profundidade de 25 a 45 cm os materiais que mostraram os melhores desempenhos foram, respectivamente, Meruim Ligeiro, Samambaia Amarelo, Legítimo, Carioca / Rabo de Carneiro, Arroz Cabeludo, Arroz Ligeiro, Arroz Branco do Bico Preto, Agulhinha Vermelho, Arroz Roxo ou

Caqui, Iguape sem Aresta, Arroz do Sul e Prata Branco. Dentre aqueles que se enquadraram no grupo dos menores valores para área sob a curva na profundidade de 5 a 25 cm destacam-se, respectivamente, 4 meses Antigo, Tapuripa e Beira Campo Dourado, e, na profundidade 25 a 45 cm, destacam-se, respectivamente, Paná, Douradão / Amarelão e Caiana Grande.

É conveniente ressaltar que o genótipo Paná destacou-se dentre os maiores valores na profundidade de 5 a 25 cm. Porém, na profundidade de 25 a 45 cm, apresentou um dos menores valores para o comprimento de raiz, ou seja, o maior percentual de raiz desse material está nas camadas mais superficiais do solo. Esse genótipo pode ser indicado para estudos fenotípicos e genotípicos quanto aos caracteres de raiz, principalmente em profundidade.

Tabela 5: Teste comparativo e de agrupamento entre médias da área sob a curva de crescimento de raiz em uma CNAS para as variáveis: comprimento (CR), área de contato (AR), diâmetro (DR) e volume (VR), Goiânia, 2013.

Trat. <sup>1</sup>	CR		AR		DR		VR									
	5 a 25	25 a 45	5 a 25	25 a 45	5 a 25	25 a 45	5 a 25	25 a 45								
1	3141	Ab <sup>2)</sup>	1655	Bb	529	Ac	240	Bb	3,86	Ab	2,78	Aa	7,12	Ab	2,79	Ab
2	2881	Ac	1114	Bc	490	Ac	139	Bd	3,66	Ab	2,37	Aa	6,71	Ab	1,38	Ad
3	3902	Aa	756	Bd	692	Aa	101	Bd	3,76	Ab	2,39	Aa	9,94	Aa	1,07	Ad
4	1940	Ad	1385	Bb	361	Ad	205	Bc	4,56	Aa	2,69	Aa	5,38	Ac	2,45	Ac
5	2240	Ad	1621	Bb	405	Ad	181	Bc	4,26	Aa	2,93	Aa	5,85	Ab	2,38	Ac
6	2181	Ad	1649	Bb	371	Ad	239	Bb	3,80	Ab	2,63	Aa	5,06	Ac	2,75	Ab
7	1414	Ae	1360	Bb	262	Ae	193	Bc	5,08	Aa	2,81	Aa	3,89	Ad	2,19	Ac
8	2877	Ac	2521	Ba	485	Ac	387	Ba	3,84	Ab	2,89	Aa	6,54	Ab	4,77	Aa
9	3187	Ab	1392	Bb	581	Ab	191	Bc	3,79	Ab	2,53	Aa	8,52	Aa	2,09	Ac
10	2242	Ad	1764	Bb	382	Ad	262	Bb	3,86	Ab	2,58	Aa	5,18	Ac	3,12	Ab
11	2998	Ac	905	Bc	547	Ab	135	Bd	4,11	Ab	2,76	Aa	7,96	Aa	2,06	Ac
12	2171	Ad	781	Bd	364	Ad	115	Bd	3,88	Ab	2,79	Aa	4,89	Ac	1,36	Ad
13	1967	Ad	1359	Bb	341	Ad	185	Bc	4,32	Aa	2,63	Aa	4,74	Ac	2,03	Ac
14	3042	Ab	1905	Ba	507	Ac	254	Bb	3,61	Ab	2,51	Aa	6,76	Ab	2,71	Ab
15	2688	Ac	1242	Bc	483	Ac	182	Bc	3,80	Ab	2,82	Aa	6,94	Ab	2,14	Ac
16	2858	Ac	1629	Bb	478	Ac	225	Bb	3,70	Ab	2,59	Aa	6,45	Ab	2,49	Ac
17	1851	Ad	1764	Bb	329	Ad	261	Bb	4,11	Ab	2,80	Aa	4,68	Ac	3,09	Ab
18	2837	Ac	669	Bd	483	Ac	95	Bd	4,11	Ab	2,84	Aa	6,57	Ab	1,08	Ad
19	1088	Af	398	Bd	205	Af	59	Bd	4,54	Aa	2,52	Aa	3,10	Ad	0,70	Ad
20	2816	Ac	1176	Bc	477	Ac	174	Bc	4,66	Aa	2,73	Aa	6,47	Ab	2,05	Ac
21	1804	Ad	1737	Bb	344	Ad	251	Bb	5,12	Aa	2,69	Aa	5,28	Ac	2,89	Ab
22	2644	Ac	1454	Bb	486	Ac	232	Bb	4,00	Ab	2,94	Aa	7,12	Ab	2,99	Ab
23	1722	Ae	1324	Bb	290	Ae	197	Bc	4,40	Aa	2,94	Aa	3,93	Ad	2,34	Ac
24	1602	Ae	743	Bd	287	Ae	106	Bd	4,02	Ab	3,02	Aa	4,10	Ad	1,22	Ad
25	1554	Ae	943	Bc	280	Ae	138	Bd	4,29	Aa	2,90	Aa	4,07	Ad	1,61	Ac
26	1652	Ae	635	Bd	310	Ae	90	Bd	4,05	Ab	2,76	Aa	4,71	Ac	1,03	Ad
27	2223	Ad	744	Bd	387	Ad	103	Bd	4,20	Ab	2,68	Aa	5,42	Ac	1,15	Ad
28	2556	Ac	958	Bc	447	Ac	134	Bd	4,26	Aa	2,59	Aa	6,25	Ab	1,49	Ad
29	1122	Af	349	Bd	205	Af	53	Bd	4,54	Aa	2,98	Aa	3,01	Ad	0,65	Ad
30	1645	Be	1987	Aa	279	Be	298	Aa	3,78	Ab	2,78	Aa	3,79	Ad	3,56	Ab
31	1752	Ae	1321	Bb	294	Ae	178	Bc	3,77	Ab	2,51	Aa	3,94	Ad	1,92	Ac
32	1814	Bd	2434	Aa	343	Bd	396	Aa	4,79	Aa	3,09	Aa	5,23	Ac	5,18	Aa
33	2071	Ad	1116	Bc	395	Ad	159	Bc	4,69	Aa	2,73	Aa	6,03	Ab	1,81	Ac
34	2091	Ad	867	Bc	370	Ad	119	Bd	4,62	Aa	2,61	Aa	5,27	Ac	1,31	Ad
35	1630	Ae	1043	Bc	268	Ae	131	Bd	4,65	Aa	2,44	Aa	3,53	Ad	1,32	Ad

36	1927	Ad	1502	Bb	347	Ad	199	Bc	3,96	Ab	2,49	Aa	5,04	Ac	2,11	Ac
37	1447	Ae	1084	Bc	250	Af	149	Bc	4,16	Ab	2,61	Aa	3,48	Ad	1,65	Ac
38	1696	Be	1980	Aa	303	Ae	308	Aa	4,04	Ab	3,07	Aa	4,35	Ad	3,87	Aa
39	1645	Be	2243	Aa	306	Ae	310	Aa	4,65	Aa	2,53	Aa	4,56	Ac	3,42	Ab
40	1917	Ad	947	Bc	337	Ad	133	Bd	3,93	Ab	2,75	Aa	4,77	Ac	1,50	Ad
41	1883	Bd	2340	Aa	319	Bd	360	Aa	3,95	Ab	2,84	Aa	4,32	Ad	4,46	Aa
42	2946	Ac	2354	Ba	585	Ab	366	Ba	4,33	Aa	2,89	Aa	9,27	Aa	4,55	Aa
43	2700	Ac	1426	Bb	446	Ac	199	Bc	3,57	Ab	2,64	Aa	5,88	Ab	2,23	Ac
44	1952	Ad	729	Bd	339	Ad	106	Bd	4,14	Ab	2,81	Aa	4,70	Ac	1,22	Ad
45	1778	Ae	1053	Bc	307	Ae	160	Bc	4,32	Aa	2,91	Aa	4,28	Ad	1,95	Ac
46	1426	Be	1491	Ab	245	Af	198	Bc	4,28	Aa	2,52	Aa	3,35	Ad	2,12	Ac
47	2485	Ac	651	Bd	521	Ac	100	Bd	4,51	Aa	2,89	Aa	8,81	Aa	1,25	Ad
48	2314	Ad	747	Bd	405	Ad	105	Bd	4,18	Ab	2,82	Aa	5,71	Ab	1,20	Ad
49	2442	Ac	1497	Bb	429	Ac	189	Bc	3,81	Ab	2,44	Aa	6,05	Ab	1,90	Ac
50	2293	Ad	2106	Ba	407	Ad	345	Ba	3,94	Ab	3,12	Aa	5,75	Ab	4,51	Aa
51	2657	Ac	2401	Ba	478	Ac	379	Ba	3,94	Ab	2,86	Aa	6,91	Ab	4,81	Aa
52	2767	Ac	1291	Bb	478	Ac	180	Bc	3,81	Ab	2,63	Aa	6,62	Ab	2,01	Ac
53	2175	Bd	2289	Aa	359	Ad	328	Ba	3,97	Ab	2,69	Aa	4,74	Ac	3,77	Aa
54	1748	Ae	1197	Bc	288	Ae	165	Bc	4,14	Ab	2,59	Aa	3,79	Ad	1,81	Ac
55	2351	Ac	1187	Bc	389	Ad	167	Bc	3,64	Ab	2,66	Aa	5,13	Ac	1,86	Ac
56	3265	Ab	949	Bc	597	Ab	124	Bd	4,46	Aa	2,52	Aa	8,89	Aa	1,33	Ad
57	1440	Ae	644	Bd	253	Af	96	Bd	3,87	Ab	2,85	Aa	3,56	Ad	1,14	Ad
58	3075	Ab	486	Bd	550	Ab	69	Bd	3,93	Ab	2,74	Aa	7,87	Aa	0,78	Ad
59	3132	Ab	1306	Bb	523	Ac	184	Bc	3,74	Ab	2,79	Aa	7,01	Ab	2,07	Ac
60	2575	Ac	1485	Bb	520	Ac	197	Bc	4,25	Aa	2,54	Aa	8,50	Aa	2,12	Ac
61	1717	Ae	909	Bc	299	Ae	128	Bd	4,35	Aa	2,83	Aa	4,17	Ad	1,44	Ad
62	1544	Be	1657	Ab	252	Af	230	Bb	4,03	Ab	2,68	Aa	3,29	Ad	2,56	Ac
63	1426	Ae	767	Bd	240	Af	109	Bd	3,83	Ab	3,28	Aa	3,23	Ad	1,24	Ad
64	3927	Aa	246	Bd	651	Aa	36	Bd	3,70	Ab	2,96	Aa	8,66	Aa	0,42	Ad
65	1471	Ae	384	Bd	265	Ae	55	Bd	4,46	Aa	2,42	Aa	3,82	Ad	0,63	Ad
66	1892	Ad	1389	Bb	350	Ad	189	Bc	4,28	Aa	2,52	Aa	5,17	Ac	2,05	Ac
67	3243	Ab	1324	Bb	527	Ac	176	Bc	3,82	Ab	2,68	Aa	6,84	Ab	1,88	Ac
68	2266	Ad	1468	Bb	411	Ad	205	Bc	4,19	Ab	2,79	Aa	5,99	Ab	2,30	Ac
69	1834	Ad	408	Bd	307	Ae	57	Bd	3,66	Ab	2,79	Aa	4,14	Ad	0,64	Ad
70	2712	Ac	506	Bd	459	Ac	71	Bd	3,76	Ab	2,73	Aa	6,21	Ab	0,81	Ad
71	2034	Ad	1352	Bb	367	Ad	185	Bc	3,95	Ab	2,66	Aa	5,30	Ac	2,03	Ac
72	1617	Be	2218	Aa	291	Be	333	Aa	4,10	Ab	2,80	Aa	4,17	Ad	3,99	Aa
73	2046	Ad	717	Bd	344	Ad	105	Bd	3,96	Ab	2,80	Aa	4,63	Ac	1,22	Ad
74	911	Af	708	Bd	159	Af	94	Bd	4,16	Ab	2,62	Aa	2,23	Ad	1,00	Ad
75	2522	Ac	1021	Bc	444	Ac	133	Bd	4,26	Aa	2,54	Aa	6,25	Ab	1,39	Ad
76	1920	Ad	546	Bd	341	Ad	75	Bd	4,23	Aa	2,67	Aa	4,83	Ac	0,83	Ad
77	1681	Ae	1187	Bc	287	Ae	167	Bc	3,92	Ab	2,68	Aa	3,93	Ad	1,88	Ac
78	1666	Ae	628	Bd	286	Ae	88	Bd	4,14	Ab	2,65	Aa	3,95	Ad	0,99	Ad
79	2947	Ac	532	Bd	480	Ac	78	Bd	3,88	Ab	2,76	Aa	6,26	Ab	0,91	Ad
80	2322	Ad	827	Bd	401	Ad	121	Bd	4,11	Ab	2,84	Aa	5,55	Ac	1,43	Ad
81	1308	Af	796	Bd	230	Af	116	Bd	5,06	Aa	2,86	Aa	3,23	Ad	1,34	Ad
82	2836	Ac	380	Bd	447	Ac	49	Bd	3,52	Ab	2,56	Aa	5,64	Ac	0,50	Ad
83	2156	Ad	710	Bd	375	Ad	97	Bd	4,61	Aa	2,64	Aa	5,22	Ac	1,06	Ad
84	1064	Af	656	Bd	201	Af	103	Bd	4,43	Aa	3,19	Aa	3,05	Ad	1,30	Ad
85	1575	Ae	789	Bd	303	Ae	106	Bd	4,28	Aa	2,71	Aa	4,69	Ac	1,14	Ad
86	1381	Be	1483	Ab	270	Ae	238	Bb	4,42	Aa	3,10	Aa	4,20	Ad	3,09	Ab
87	1622	Be	1810	Ab	270	Ae	249	Bb	4,13	Ab	2,67	Aa	3,59	Ad	2,76	Ab

<sup>1/</sup> Banco Ativo de Germoplasma - Embrapa Arroz e Feijão.

<sup>2/</sup> Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna não se diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, respectivamente, pelos testes de Tukey e Scott Knott.

Observou-se a presença de diferenças significativas ( $P < 0,05$ ) quanto à estimativa da área de contato das raízes com o solo (AR) entre os genótipos e entre as profundidades avaliadas para os valores da área sob a curva de crescimento. Assim

como o comprimento das raízes, a área de superfície teve redução nos valores em profundidade para a grande maioria dos acessos. Porém, alguns deles apresentaram maiores valores, na camada de 25 a 45 cm, a exemplo de Samambaia Amarelo, Arroz Cabeludo, Agulhinha Vermelho e Iguapé Sem Aresta, respectivamente. Tomando como base a profundidade de 5 a 25 cm os genótipos que tiveram os maiores valores foram, respectivamente, Cajueiro Liso e Panamá. Já na profundidade de 25 a 45 cm, os acessos mais destacados no grupo dos maiores valores foram, respectivamente, Samambaia Amarelo, Arroz Cabeludo e Agulhinha Vermelho. Quanto aos materiais com os menores valores na profundidade de 5 a 25 cm, destacam-se, respectivamente, Arroz Agulha, Araçatuba e Douradão / Amarelão. Na profundidade de 25 a 45 cm os materiais que se destacaram dentre os menores valores foram, respectivamente: Panamá, Caiana Grande e Douradão / Amarelão.

O genótipo Douradão / Amarelão apresentou-se dentre os de menores valores para as variáveis CR e AR tanto na profundidade de 5 a 25 cm quanto na profundidade de 25 a 45 cm. Ainda para essas duas variáveis, os genótipos Samambaia Amarelo, Arroz Cabeludo e Agulhinha Vermelho apresentaram maiores valores na profundidade de 5 a 25 cm quando comparado com a profundidade de 25 a 45 cm, sendo esses genótipos, também, alocados dentre os de maiores valores da CN para a camada mais profunda (25 a 45 cm).

A variável DR não apresentou diferença significativa ( $P>0,05$ ) entre as profundidades para nenhum dos genótipos avaliados. Na profundidade de 5 a 25 cm foram formados dois grupos de acordo com os valores obtidos da área sob a curva ao longo do período de avaliação para o diâmetro médio das raízes. Já na profundidade de 25 a 45 cm não foram verificadas diferenças significativas entre as médias dos genótipos.

Para a área sob a curva do VR não foram verificadas diferenças significativas ( $P>0,05$ ) entre as profundidades avaliadas. Na profundidade de 5 a 25 cm os genótipos do grupo com os maiores valores foram, respectivamente, Cajueiro Liso, Carioca / Rabo de Carneiro, Catetão, Noventinha, Panamá, Maranhão (verdadeiro), Carreon, Puteca e Agulhinha ESAV. Na profundidade de 25 a 45 cm os maiores valores foram observados nos genótipos Samambaia Amarelo, Legítimo, Meruim Ligeiro, Carioca / Rabo de Carneiro, Arroz Roxo ou Caqui, Arroz Cabeludo, Agulhinha

Vermelho, Arroz do Sul e Arroz Ligeiro. Para os menores valores na profundidade de 5 a 25 cm destacam-se: Arroz Agulha, Douradão / Amarelão e Araçatuba, respectivamente, e, para a profundidade de 25 a 45 cm destacam-se Paná, Caiana Grande e Agulhinha Tardio.

Guimarães et al. (2011) encontraram nos genótipos Muruim Branco, Puteca e Amarelão Ligeiro os maiores valores de raiz dentre 37 genótipos pertencentes à Coleção Nuclear de Arroz de Seca da Embrapa submetidos à condição de estresse de seca, e para a profundidade de 20 a 40 cm os genótipos com os maiores valores de raiz foram Araçatuba, Arroz Agulhinha e Muruim Branco.

Alguns genótipos tiveram aumento na média das variáveis CR, AR e VR na profundidade de 25 a 45cm em relação à profundidade de 5 a 25cm. Esse aumento de raízes em profundidade pode ter sido promovido devido à adubação que foi realizada em todo o solo da parcela, o qual estimulou o aprofundamento das raízes em busca de nutrientes. Quando se tem uma condição desfavorável à planta, como aquela causada por estresse de seca, a adubação em camadas mais profundas do solo pode induzir ao aprofundamento das raízes na busca por nutrientes nesses genótipos. Com esse estímulo, as plantas podem ficar menos propensas ao estresse de seca devido ao aprofundamento das raízes em regiões mais úmidas do solo e, assim, promover uma maior estabilidade na produção.

A partir dos valores da área sob a curva das quatro variáveis analisadas procedeu-se a análise de agrupamento dos 87 genótipos da coleção nuclear (Figura 1).

Com base na Figura 1, observa-se, com quase 100% de dissimilaridade, a formação de dois grandes grupos dividindo-se a coleção nuclear praticamente ao meio, sendo um grupo formado por 44 acessos e o outro grupo formado por 43 acessos. Adorian (2010) avaliou essa mesma coleção nuclear com base em 34 descritores morfológicos nas fases vegetativa, reprodutiva e pós-colheita, e também encontrou dois grandes grupos com similaridade de aproximadamente 0%. Nesse mesmo trabalho, o autor constatou, com similaridade de 30%, a formação de onze grupos, mostrando a grande divergência dessa Coleção Nuclear de Arroz.

Quando se toma por base uma dissimilaridade de 60% observa-se a formação de quatro grupos: o primeiro formado por 34 acessos, o segundo formado por

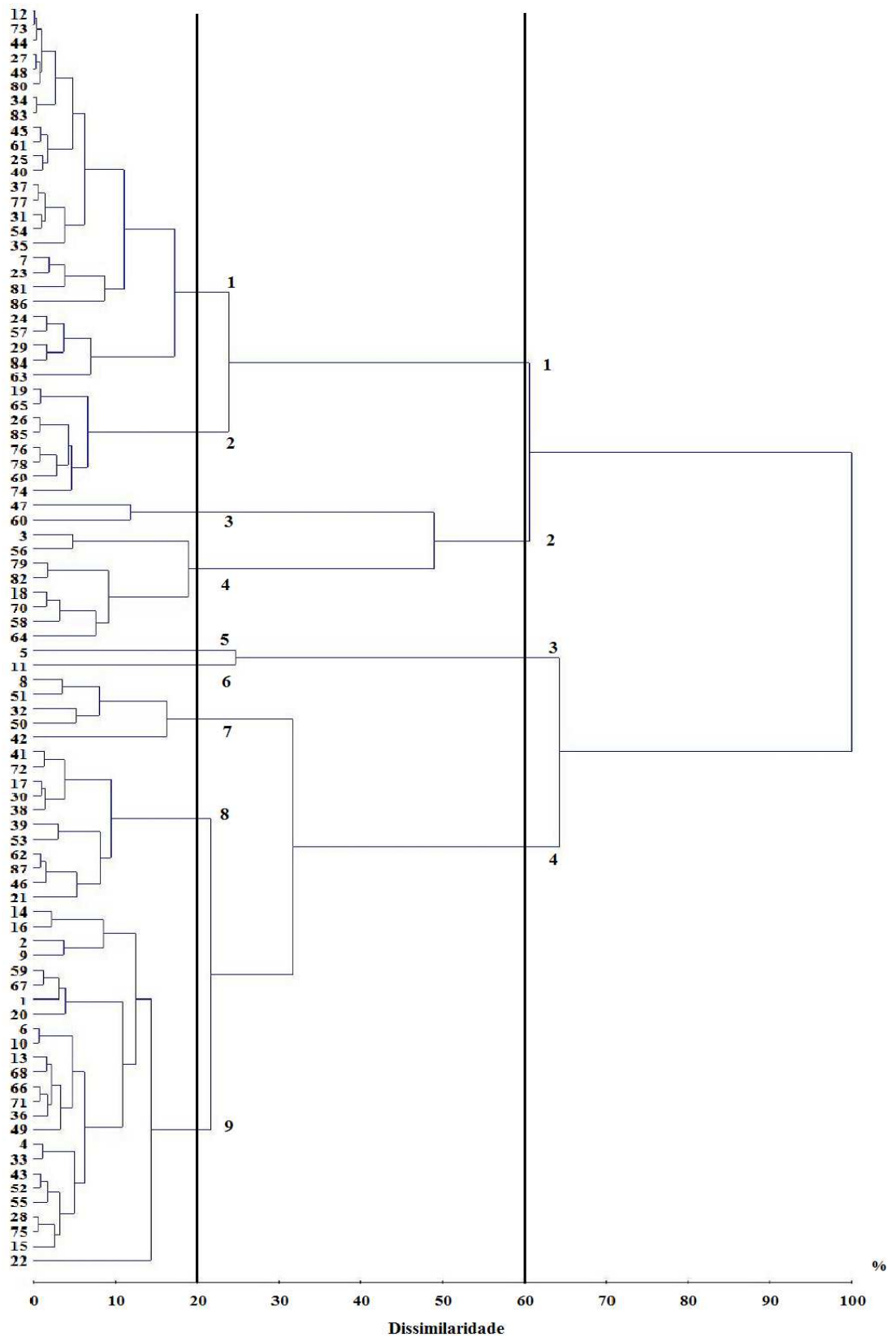


Figura 1: Dendrograma obtido pelo método do vizinho mais distante a partir das médias de dissimilaridade de quatro variáveis do sistema radicular pelo método de Mahalanobis em 87 genótipos de arroz de terras altas.

10 acessos, o terceiro e menor grupo formado por apenas 2 acessos (Formosa e Puteca), e, por último, o quarto e maior grupo, formado por 41 acessos.

Para dissimilaridade de 20%, houve a formação de nove grupos:

✓ Primeiro grupo: formado por 26 acessos, é o maior em quantidade de genótipos, que mostraram semelhança pelos valores médios encontrados nas variáveis comprimento, área de superfície e volume quando comparados com todos os outros genótipos da CN;

✓ Segundo grupo: formado por oito acessos (Santo Américo, Quebra Cacho, Agulhinha Tardio, Arroz Agulhinha, Arroz Agulha, Rexoro, Lambarí e Buriti Vermelho) cuja característica principal é o pouco desenvolvimento das raízes para as variáveis comprimento, área de superfície e volume das raízes, principalmente na profundidade de 25 a 45 cm;

✓ Terceiro grupo: tem como característica principal a grande semelhança de todas as variáveis de raiz na profundidade de 5 a 25 cm, sendo formado por apenas dois acessos (Noventinha e Carreon);

✓ Quarto grupo: formado por oito acessos (Cajueiro Liso, Ligeiro, Catetão, Agulhinha Esav, Panamá, Arroz Comprido, Zenith e Caiana Grande) com semelhança pelos grandes valores de desenvolvimento das raízes para as variáveis comprimento, superfície e volume, na profundidade de 5 a 25 cm, porém com pouco desenvolvimento de raiz para essas variáveis na profundidade de 25 a 45 cm. Terra (2008), avaliando essa mesma coleção nuclear de arroz, constatou que os genótipos Ligeiro e Catetão foram alocados dentre os mais tolerantes à condição de estresse por deficiência hídrica. Tal fato leva a questão sobre os caracteres que conferem essa tolerância, pois neste trabalho esses genótipos apresentaram bom desenvolvimento de raiz na camada superficial e valores menos expressivos na camada mais profunda, que é onde se encontra as regiões mais úmidas do solo. Talvez esses genótipos apresentem boa sinalização para a condição de estresse de seca, e quando, ao se encontrarem nesta condição, invistam seus fotoassimilados no crescimento de raízes em profundidade, ou apresentem mecanismo de controle da perda ou eficiência no uso da água pela planta convertendo em produtividade;

✓ Quinto grupo: constituído apenas pelo acesso Formosa;

✓ Sexto grupo: formado pelo acesso Puteca, o qual se destaca pelo grande desenvolvimento de suas raízes na parte mais superficial do solo, e com poucas raízes na profundidade de 25 a 45 cm, apresentando grande VR na camada de 5 a 25 cm, Guimarães et al, (2011) encontraram resultados compatíveis com os encontrados para o genótipo Puteca, com valores maiores na profundidade de 0 a 20 cm, diminuindo em função da profundidade,

✓ Sétimo grupo: formado por cinco acessos (Meruim Ligeiro, Samambaia Amarelo, Carioca / Rabo de Carneiro, Arroz Roxo ou Caqui e Legítimo) que se assemelham pelo grande desenvolvimento das raízes para as variáveis CR, AR e VR na profundidade de 25 a 45 cm,

✓ Oitavo grupo: formado por 11 acessos (Chatão Vermelho, Cacho Duplo, Arroz do Sul, Arroz Branco do Bico Preto, Arroz Cabeludo, 4 Meses Antigo, Arroz Ligeiro, Beira Campo Dourado, Agulhinha Vermelho e BRS Primavera), esse grupo tem como destaque a pouca diferença entre os valores nas profundidades de 5 a 25 cm e de 25 a 45 cm para as variáveis de raiz;

✓ Nono grupo: formado por 25 acessos os quais se assemelham por valores pouco acima da média nas variáveis de raiz, principalmente, na profundidade de 5 a 25 cm.

Quando se busca o entendimento do efeito genético sobre as características das raízes é necessário o conhecimento prévio dos genitores utilizados nos cruzamentos. Muitos dos trabalhos de identificação de QTLs responsáveis por variáveis do sistema radicular realizados para a cultura do arroz são feitos por meio de cruzamentos inter-subespecíficos entre genótipos de subespécie *indica* com *japônica* (Steele et al., 2007; Uga et al., 2011; Courtois et al., 2003; Ping et al., 2003). Nesse tipo de cruzamento a segregação é ampla, podendo encontrar QTL em várias regiões do genoma para determinada característica. Quando se tem o entendimento prévio dos genitores e das características contrastantes, como raiz, dentro de uma espécie, subespécie ou mesmo um grupo, o cruzamento entre esses genótipos segrega para uma quantidade menor de características. Com isso, o estudo de diversidade fenotípica dentro de uma subespécie é fundamental para a escolha correta dos genitores utilizados no melhoramento e em estudos genômicos.

#### 4. Conclusão

Os genótipos Cajueiro Liso e Paná se sobressaíram, por terem os maiores valores de raiz na profundidade de 5 a 25 cm, porém, alocados dentre os piores valores na profundidade de 25 a 45 cm, sendo assim mais indicados para solos rasos.

O bioensaio de fenômica radicular possibilitou identificar genótipos transgressivos para variáveis do sistema radicular que podem ser utilizados pelos programas de melhoramento genético.

A CNAS possui grande divergência entre os acessos para as variáveis do sistema radicular, sendo, portanto excelente fonte de variabilidade para programas de melhoramento visando estudos relacionados à raiz.

#### 5. Referências Bibliográficas

ABADIE, T.; CORDEIRO, C. M. T.; FONSECA, J. R.; ALVES, R. de B. N.; BURLE, M. L.; BRONDANI, C.; RANGEL, P. H. N.; CASTRO, E. M.; SILVA, H. T.; FREIRE, M. S.; ZIMMERMANN, F. J. P.; MAGALHÃES, J. R. Construção de uma coleção nuclear de arroz para o Brasil. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.40, n. 2, p.129-136, 2005.

ADORIAN, G. C. Caracterização da diversidade fenotípica existente em uma coleção nuclear de arroz de terras altas. 2010, 72 p. **Dissertação** (Programa de pós-graduação em Produção Vegetal) Universidade Federal do Tocantins - UFT, Gurupi, 2010.

COURTOIS, B.; SHEN, L.; PETALCORIN, W.; CARANDANG, S.; MAULEON, R.; LI, Z. Locating QTLs controlling constitutive root traits in the rice population IAC 165 × Co39, **Euphytica**, v. 134, 2003, p.335-345.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.

FRANKEL, O. H.; BROWN, A. H. D. Plant genetic resources today: a critical appraisal. In: HOLDEN, J. H. W.; WILLIAMS, J. T. (Ed.), **Crop genetic resources: conservation & evaluation**. London: Allen & Unwin, 1984, p.249-257.

FRITSCHÉ-NETO, R.; BORÉM, A. Fenômica. In: BORÉM, A. E FRITSCHÉ-NETO, R. **Ômicas 360º: Aplicações e Estratégias para o Melhoramento de Plantas**. Visconde do Rio Branco: Editora Suprema. p. 243-245, 2013.

GUIMARÃES, C. M.; STONE, L. F.; OLIVEIRA, J. P.; RANGEL, P. H. N.; RODRIGUES, C. A. P. Sistema radicular do arroz de terras altas sob deficiência hídrica. **Pesquisa Agropecuária Tropical**. v. 41, n. 1, 2011, p.126-134.

HENRY, A.; GOWDA, V. R. P.; TORRES, R. O.; MCNALLY, K. L.; SERRAJ, R. Variation in root system architecture and drought response in rice (*Oryza sativa*): Phenotyping of the OryzaSNP panel in rainfed lowland fields. **Field Crops Research**. v.120, p.205-214, 2011.

HUANG, Y.; XIAO, B.; XIONG, L. Characterization of a stress responsive proteinase inhibitor gene with positive effect in improving drought resistance in rice. **Planta**. v.226, p.73-85, 2007.

LI, J.; XIE, Y.; DAI, A.; LIU, L.; LI, Z. Root and shoot traits responses to phosphorus deficiency and QTL analysis at seedling stage using introgression lines of rice. **Journal of Genetics and Genomics**. v.36, p.173-183, 2009.

NGUYEN, H, T.; BABU, R, C.; BLUM, A, Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. **Crop Science**. v.37, p.1426-1437, 1997.

OLIVEIRA, J. V.; FREITAS, T. F. S.; FIÚZA, L. M.; MENEZES, G.; DOTTO, G. **Manual de insetos associados à cultura do arroz irrigado**. Boletim Técnico, n.8, Instituto Rio Grandense do Arroz, Cachoeirinha, 2010, 56p.

PESSOA-FILHO, M.; BELO, A.; ALCOCHETE, A. A. N.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. A set of multiplex panels of microsatellite markers for rapid molecular characterization of rice accessions. **BMC Plant Biology**. v.7, n.23, 2007.

PING, M.; ZICHAO, L.; CHUNPING, L.; HONGLIANG, Z.; CHANGMING, W.; CHEN, L.; XIANGKUN, W. QTL mapping of the root traits and their correlation analysis with drought resistance using DH lines from paddy and upland rice cross. **Chinese Science Bulletin**. v.48, n.24, p.2718 - 2724, 2003.

RANGEL, P. H. N.; OLIVEIRA, J. P.; COSTA, J. G. C.; FERREIRA, M. E.; ABREU, A. G. Banco Ativo de Germoplasma de Arroz e Feijão: Passado, Presente e Futuro. **Documentos 288**. Embrapa Arroz e Feijão, Santo Antônio de Goiás, 2013, 68p.

STEELE, K. A.; VIRK, D. S.; KUMAR, R.; PRASAD, S. C.; WITCOMBE, J. R. Field evaluation of upland rice lines selected for QTLs controlling root traits. **Field Crops Research**. v.101, p.180–186, 2007. doi:10.1016/j.fcr.2006.11.002

TAIZ, L.; ZEIGUER, E. **Fisiologia Vegetal**. Tradução de: Elaine R. Santarém, [et al.], 3ª Ed., Porto Alegre: Artimed, 2004, 719p.

TERRA, T. G. R. Avaliação de características morfofisiológicas de tolerância à seca em uma coleção nuclear de acessos de arroz de terras altas (*Oryza sativa* L.), **Dissertação**.

(Mestrado em Produção Vegetal) Universidade Federal do Tocantins - UFT, Gurupi, 2008.

UGA, Y.; OKUNO, K.; YANO, M. Dro1, a major QTL involved in deep rooting of rice under upland field conditions. **Journal of Experimental Botany**. v.62, n.8, p.2485-2494, 2011, doi:10.1093/jxb/erq429.

UGA, Y. et al. Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. **Nature Genetics**. 2013. doi:10.1038/ng.2725.

VASCONCELOS, A. C. M.; CASAGRANDE, A. A.; PERECIN, D.; JORGE, L. A. C.; LANDELL, M. G. A. Avaliação do sistema radicular da cana-de-açúcar por diferentes métodos. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. v.27, p.849-858, 2003.

VASCONCELOS, E. S.; CRUZ, C. D.; BHERING, L. L.; FERREIRA, A. Estratégias de amostragem e estabelecimento de coleções nucleares. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. V.42, n.4, p.507-514, 2007.

ZOU, G. H.; LIU, H. Y.; MEI, H. W.; LIU, G. L.; YU, X. Q.; LI, M. S.; WU, J. H.; CHEN, L.; LUO, L. J. Screening for drought resistance of rice recombinant inbred populations in the field. **Journal of Integrative Plant Biology**. v.49, p.1508-1516, 2007.

## 6. CAPÍTULO 3

### **Identificação de QTLs para características do sistema radicular em arroz de terras altas por meio de *Chip* de DNA**

#### **Resumo**

Esse trabalho objetivou a construção de um mapa genético e a identificação de locos de características quantitativas (QTLs) que controlam características do sistema radicular do arroz. Foi avaliada uma população  $F_{2:3}$  composta por 150 famílias provenientes do cruzamento entre as variedades IAC 165 x BRS Primavera. A genotipagem foi realizada na população  $F_2$  utilizando 3,742 marcadores SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). A avaliação do sistema radicular na população  $F_3$  foi realizada por meio do método de fenotipagem em larga escala baseado na geração de imagens com o *scanner* de raiz CI-600 e na quantificação por meio do *software WinRhizo*<sup>®</sup>. Foi utilizado delineamento de blocos ao acaso com três repetições, realizado em condição de casa telada. Foram consideradas as variáveis comprimento, área de contato da raiz e volume nas profundidades de 5 a 25 cm e de 25 a 45 cm. A análise dos marcadores SNP permitiu a construção do mapa genético com comprimento total de 1424 cM. O grupo de ligação com maior área de cobertura foi o número 3 com 270 cM (100 SNP's), seguido pelos grupos de ligação 1, com 249 cM (170 SNP's), e 2 com 163 cM (99 SNP's). A análise genética permitiu a detecção de QLT para todas as características estudadas.

**Palavras chave:** Fenômica, *Oryza sativa* L., *chip* de DNA, mapeamento de QTL, sistema radicular.

#### **1. Introdução**

O arroz no Brasil vem sendo cultivado basicamente em dois sistemas produtivos denominados terras altas e várzea, sendo o primeiro sistema responsável por aproximadamente 21% da produção nacional. A falta de água ao longo do seu processo produtivo tem impacto negativo na cultura (Toescher et al., 2007), sendo que a ocorrência de estiagem ao longo do cultivo causam decréscimos na sua produtividade, afetando também a absorção de nutrientes (Stone, 1985). O entendimento da genética e

do efeito dos genes associados ao desenvolvimento do sistema radicular do arroz, visando seleção que otimize a absorção de água tem papel essencial para o melhoramento da cultura em vista das mudanças climáticas observadas no planeta.

Os marcadores de DNA auxiliaram nos avanços alcançados pelo melhoramento de plantas, seja na orientação de cruzamentos em etapas de pré-melhoramento, formação de populações base, desenvolvimento de populações divergentes (Li-Na et al., 2013), construção de mapas genéticos (Jun-Zhi et al., 2009), na identificação de QTL – locos de características quantitativas (Uga et al., 2011), identificação demarcadores funcionais (Andersen e Lübberstedt, 2003), ou diretamente no processo seletivo por meio da seleção assistida por marcadores moleculares – SAM (Steele et al., 2007; Uga et al., 2013). Para tais fins, os marcadores SNPs constituem a classe de marcadores resultantes da variação de um único nucleotídeo na estrutura do DNA (Caixeta et al., 2013), sendo os marcadores mais abundantes nas plantas (Mammadov et al., 2012). Podem ser encontrados em praticamente todo o genoma, sendo por esse motivo preferidos para a análise genética. Os SNPs possuem maior estabilidade quando comparado a outros marcadores, além da possibilidade de automação em situações que exigem a análise de grandes números de indivíduos e de marcadores, quando se objetiva varreduras completas de genomas para detecção de QTLs (Regitano e Veneroni, 2009).

Mapas de ligação podem ser utilizados para a identificação de regiões cromossômicas que contêm genes controladores de características oligogênicas, como também características poligênicas ou quantitativas, por meio da análise de QTL (Collard et al., 2005). Desde 1995, o mapeamento de QTL para diversas características na cultura do arroz vem sendo realizados tanto em populações temporárias, como as famílias segregantes (Sabouri et al., 2011) ou retrocruzamentos (Steele et al., 2007), assim como em populações permanentes como as linhagens puras recombinantes – RIL's (Uga et al., 2011; Liang et al., 2013b), linhagens duplo-haplóide – DH (Ping et al., 2003; Bing-Song et al., 2006) e as linhas puras derivadas de retrocruzamentos – BIL (Liang et al., 2013a).

A tolerância a seca constitui característica muito dependente do sistema radicular (Henry et al., 2011; Nguyen et al., 1997; Uga et al., 2013), além de outras características de importância agrônômica na cultura do arroz de terras altas, dentre elas, a eficiência na absorção de nutrientes principalmente fósforo (Li et al., 2009), a

resistência a pragas (Oliveira et al., 2010) e a doenças da raiz. Por tais motivos, essa região da planta é frequentemente estudada, dado o potencial para estabilizar ou mesmo aumentar a produtividade sob condições adversas (Topp et al., 2013; Gamuyao et al., 2012).

Tendo em vista a importância do sistema radicular para a cultura do arroz, esse trabalho objetivou avaliar uma população segregante  $F_{2:3}$  de arroz de terras altas com o intuito de construir um mapa de ligação visando a identificação de QTLs para características do sistema radicular, por meio do uso da tecnologia chip de DNA.

## **2. Material e Métodos**

### **Material genético**

O material genético avaliado nesse experimento foi constituído de uma população segregante ( $F_{2:3}$ ), composta por 148 famílias e seus dois genitores, proveniente de uma única planta  $F_1$ , oriunda do cruzamento entre as variedades de arroz de terras altas (subespécie *japônica* tropical) IAC 165 e BRS Primavera.

IAC 165 é uma variedade comercial de arroz de terras altas desenvolvida pelo Instituto Agronômico de Campinas, oriunda do cruzamento entre Dourado Precoce e IAC 1245. Possui resistência moderada ao acamamento, forte desenvolvimento radicular, tolerante ao déficit hídrico, ciclo relativamente curto e grãos longos e espessos. BRS Primavera é uma variedade comercial lançada para cultivo em *terras altas*, desenvolvida pela Embrapa Arroz e Feijão, derivada do cruzamento entre as cultivares IRAT 10 e LS 85-158. Possui porte intermediário (média de 100 cm), perfilhamento médio, baixa resistência ao acamamento, ciclo precoce (média de 100 dias) e grãos do tipo longo e fino. Apresenta produtividade média, sendo exigente quanto ao ponto de colheita e susceptível ao estresse de seca.

### **Fenotipagem radicular**

A fenotipagem radicular foi realizada no campo experimental da Fazenda Palmital da EMBRAPA Arroz e Feijão, no município de Goianira – GO, no período de

outubro de 2012 a junho de 2013. O experimento foi instalado em delineamento de blocos ao acaso com três repetições, e conduzidos sob condição controlada.

A unidade experimental foi constituída de um cano de polietileno de 30 cm de diâmetro interno com 80 cm de altura, preenchido com latossolo vermelho de textura argilosa e (tabela 1). Foram adicionados, ainda, 250 gramas do adubo 5-25-15 na formulação N, P e K, sendo, respectivamente, uréia, super fosfato simples e cloreto de potássio. No interior da unidade experimental foi instalado um tubo de acrílico de 6 cm de diâmetro interno, com tampas de borracha para proteção contra a entrada de solo, água ou resíduos orgânicos, nas extremidades.

Tabela 1: Análise do solo do experimento (setembro de 2011).

Análise de solo										
M.O.	pH	P(Mel.)	K	Ca	Mg	Al	H + Al	Areia	Silte	Argila
g dm <sup>-3</sup>	CaCl <sub>2</sub>	mg dm <sup>-3</sup>	cmol dm <sup>-3</sup>			cmol dm <sup>-3</sup>		g kg <sup>-1</sup>		
19,0	5,4	0,5	0,24	2,0	0,8	0,0	2,5	590,0	120,0	290,0

Em volta do tubo de acrílico foram transplantadas três plantas de arroz com uma semana de emergência, formando-se um triângulo. Duas semanas após o transplântio iniciou-se a geração das imagens na profundidade de 5 a 25 cm e três semanas após o transplântio na profundidade de 25 a 45 cm. As imagens foram digitalizadas por meio de um *scanner* (CI – 600 *Cano Scan*) inserido no tubo de acrílico, sendo escaneada a superfície em volta do tubo. As avaliações decorreram semanalmente até completarem-se oito semanas.

As imagens geradas foram analisadas através do *software* de quantificação de imagens *WinRhizo*, versão 2008, o qual disponibiliza, dentre outras variáveis, o comprimento total das raízes (COM), a estimativa da área de contato das raízes (ACR) e o volume total da raiz (VOL).

### Genotipagem com *Chip* de DNA

Para a genotipagem dessa população foi utilizado um *Chip* de DNA constituído por marcadores do tipo SNP (*Single Nucleotide Polymorfism*). Para a construção dos *Chips* de DNA foram empregados dados de sequenciamento genético de oito variedades

de arroz de *terras altas*, subespécie *japônica*, cujas características relacionadas ao sistema radicular estão descritas na Tabela 2.

Foram desenvolvidos 3742 marcadores SNP distribuídos ao longo dos 12 cromossomos do arroz. Esses marcadores foram submetidos à técnica do *chip* de DNA (Schena et al., 1995). Os SNP que não apresentaram polimorfismo, que não foram avaliados em pelo menos 80% da população, ou que apresentaram distorção de segregação, pelo teste de qui-quadrado ao nível de 5% de probabilidade, foram eliminados na ocasião da construção dos mapas genéticos e para identificação dos QTL.

Tabela 2: Variedades de arroz de terras altas (subespécie *japônica*) e suas características relacionadas ao sistema radicular:

Variedade	Características relacionadas ao sistema radicular
<i>Azucena</i>	Variedade oriunda das Filipinas, conhecida na literatura internacional como genótipo de bom desenvolvimento radicular e tolerância ao estresse de seca e ao alumínio tóxico.
<i>Moroberekan</i>	Variedade oriunda do Oeste Africano, também conhecida na literatura internacional como genótipo de bom desenvolvimento radicular, boa capacidade de penetração da raiz no solo, tolerante à seca e ao alumínio tóxico.
<i>Chorinho</i>	Variedade tradicional coletada no estado de Minas Gerais, Brasil, com tolerância intermediária ao estresse por deficiência hídrica no campo, com plantas altas.
<i>Puteca</i>	Variedade tradicional de arroz coletada no estado de Goiás, Brasil, suscetível ao estresse por deficiência hídrica, com plantas altas.
<i>IAC 165</i>	Variedade comercial de arroz desenvolvida pelo Instituto Agrônomo de Campinas, com alta rusticidade, bom desenvolvimento radicular e tolerância ao estresse de seca.
<i>BRS Primavera</i>	Variedade comercial desenvolvida pela Embrapa Arroz e Feijão, apresentando susceptibilidade ao estresse de seca, cujas plantas são de porte intermediário (média de 100 cm).
<i>Catetão</i>	Variedade tradicional coletada no estado do Mato Grosso, Brasil, tolerante ao estresse de seca, cujas plantas são altas.
<i>Ligeiro</i>	Variedade tradicional de arroz coletada no estado do Maranhão, Brasil, tolerante ao estresse de seca, apresentando ciclo curto e baixa produtividade.

## **Análise dos dados**

Os dados de fenotipagem disponibilizados pelo *software WinRhizo* permitiram o acompanhamento desenvolvimento radicular ao longo das semanas, por meio da geração de informações a respeito das características COM, ACR e VOL nas profundidades de 5 a 25cm e de 25 a 45cm. Foram estimadas as áreas sob a curva de crescimento para cada variável de raiz, ao longo das semanas de avaliação, utilizando-se, para tanto, o método dos trapézios. Os dados da área sob a curva foram submetidos à análise de variância conjunta, considerando as duas profundidades, e as hipóteses formuladas testadas por meio do teste F ( $p < 0,05$ ). Essa análise objetivou a verificação de diferenças significativas dentro da população para as variáveis do sistema radicular. Foi utilizando o aplicativo computacional *Genes* versão 2013 (Cruz, 2013).

A construção dos mapas genéticos foi realizada por meio do *software QTL IciMapping* (versão 2012 3.2), considerado um LOD *Score* de 3,0 (Collard et al., 2005). Para a identificação dos QTLs relacionados aos caracteres de raiz foi considerado o método de mapeamento por intervalo composto por meio do software Windows QTL *Cartographer* (versão 2.5\_011, 2012).

## **3. Resultados e Discussão**

Os dados provenientes da fenotipagem foram submetidos à análise de variância conjunta para as duas profundidades, e os testes realizados ao nível 1% de probabilidade. Os resultados evidenciaram a existência de diferenças significativas para todas variáveis e para todos os fatores considerados, genótipos, profundidade e interação. Os resultados estão apresentados na Tabela 3.

A partir da constatação, na análise de variância, da ocorrência de diferenças significativas ( $P < 0,01$ ) entre as variáveis do sistema radicular para as duas profundidades avaliadas, prosseguiu-se com a construção do mapa genético e a identificação dos QTLs para essas características.

A genotipagem permitiu a seleção de um subconjunto de marcadores que compunham o *chip de DNA*. SNPs que não cobriram pelo menos 80% da população segregante, ou aqueles que não apresentaram polimorfismo, ou ainda, aqueles que

apresentaram distorção de segregação, detectado por meio de teste qui-quadrado ( $P < 0,05$ ), foram descartados.

Tabela 3: Análise de variância para as variáveis do sistema radicular: comprimento (COM), área de contato (ACR) e volume (VOL) das raízes nas profundidades de 5 a 25 cm e de 25 a 45 cm, Embrapa CNPAF, 2013.

F. V.	GL	Quadrado médio		
		COM	ACR	VOL
Bloco	2	7943175,928	227320,4909	42,2381
Genótipos(G)	149	645107,393**	17818,12539**	3,56258**
Profundidade(P)	1	44593404,605**	2080284,098**	550,4029**
G x P	149	596237,468**	16523,015**	3,1816**
Resíduo	598	179663,0624	5420,11687	1,2345
Média		1657,23	275,7271222	3,6949
Média prof. 1		1879,82887	323,80442	4,47698
Média prof. 2		1434,64024	227,64982	2,91293
CV (%)		25,57	26,7	30,07

\*\*, \* e ns: Significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade, e não significativo respectivamente, pelo teste F.

Mil e sessenta e um marcadores polimórficos foram considerados para análise genética. Dessa forma, os mapas genéticos foram construídos com base em 1.061 marcadores polimórficos, utilizando um LOD *score* de 3,0 e máxima frequência de recombinação de 30%. O processo de mapeamento permitiu a construção de 12 grupos de ligação (Figura 1), o mesmo número de cromossomos correspondente espécie de arroz considerada (Cheng, et al., 2001).

Os marcadores no mapa genético apresentaram o mesmo ordenamento apresentado no mapa físico, a partir dos quais foram selecionados os SNPs, ao longo dos 12 cromossomos do arroz, com base no banco de dados disponibilizado pelo portal Gramene (Jaiswal et al., 2006). Os grupos de ligação 1 e 7 foram os que apresentaram maior número de marcadores (170 SNPs em cada cromossomo), seguido pelo grupo de ligação 11 (130 SNPs) e o 3 (100 SNPs). O grupo de ligação com menor número de marcadores foi o 9, com apenas 18 marcadores SNPs. Na ocasião da construção dos mapas, muitos marcadores apresentaram a mesma posição no grupo de ligação, sendo omitidos no mapa de ligação pelo aplicativo QTL *Cartografer*. Em geral, os marcadores apresentaram boa distribuição ao longo dos cromossomos, com exceção do cromossomo 9, que apresentou um comprimento total de 6 cM. Sabouri et al. (2011), em trabalho realizado com a espécie *Oryza sativa* L., também encontraram menor comprimento para o cromossomo 9.



O cromossomo 3 foi o que apresentou maior comprimento, com 270 cM, seguido pelo cromossomo 1 com 249 cM e pelo cromossomo 2 com 163 cM. O comprimento total do mapa genético originado foi de 1.424 cM. O tamanho encontrado para esse mapa está próximo aos encontrados por outros autores em diversos trabalhos para a espécie *O. sativa* L. (Liang et al., 2013a).

A característica comprimento das raízes (COM) é governada por uma quantidade menor de genes quando comparada a outras variáveis do sistema radicular, como, por exemplo, crescimento em profundidade a qual possui outras variáveis envolvidas, como o próprio COM e o ângulo de crescimento das raízes (Uga et al., 2011).

Para característica COM, foram detectados QTLs com efeito significativo associado a duas profundidades avaliadas, de 5 a 25cm (Figura 2) e de 25 a 45 cm (Figura 3), posicionados nos grupos de ligação 3 e 1, respectivamente. Para a profundidade de 5 a 25 cm, o QTL foi posicionado na fração distal do grupo de ligação 3, na posição 258-260 cM. Esse QTL foi identificado entre os marcadores OsC1r3\_18199829 e OsC1r3\_18195592 com um LOD de 3,22.

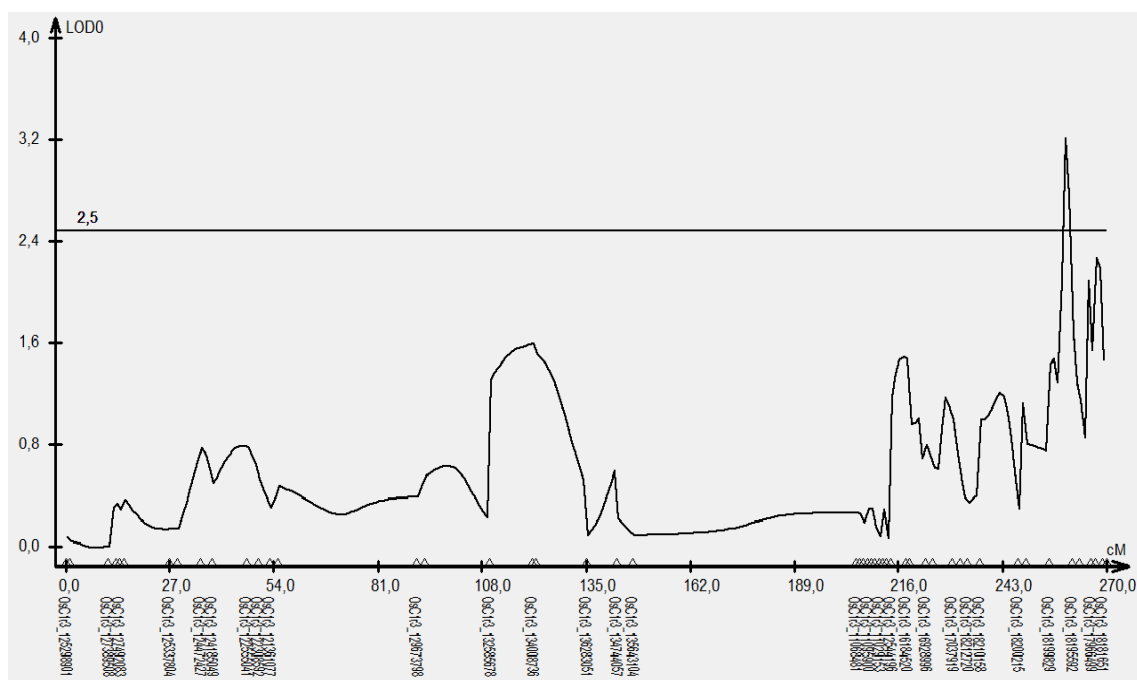


Figura 2: QTL associado à característica COM na profundidade de 5 a 25 cm em uma população  $F_{2:3}$  de arroz no cromossomo 3 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. Valor crítico do LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

Para a profundidade de 25 a 45, o QTL foi posicionado na fração proximal do grupo de ligação 1, posicionado entre os marcadores OsC1r1\_14021996 e OsC1r1\_141152310 com um LOD de 3,37.

A característica área de contato da raiz (ACR) é intimamente associada com a capacidade de absorção de água e nutrientes do solo, sendo de grande importância para o crescimento e desenvolvimento da planta. Para essa característica, na profundidade de 5 a 25 cm, foi detectado um QTL no cromossomo 3. Esse QTL foi posicionado na fração distal do grupo de ligação, posicionado a 256-260 cM, entre os marcadores OsC1r3\_18199829 e OsC1r3\_18195592 com um LOD de 3,02 (Figura 4). Na profundidade de 25 a 45 cm foi identificado um QTL (Figura 5) no início do grupo de ligação 1 a uma distância de 5-8 cM, entre os marcadores OsC1r1\_142021996 e OsC1r1\_141152310. O LOD para esse QTL foi de 3,06.

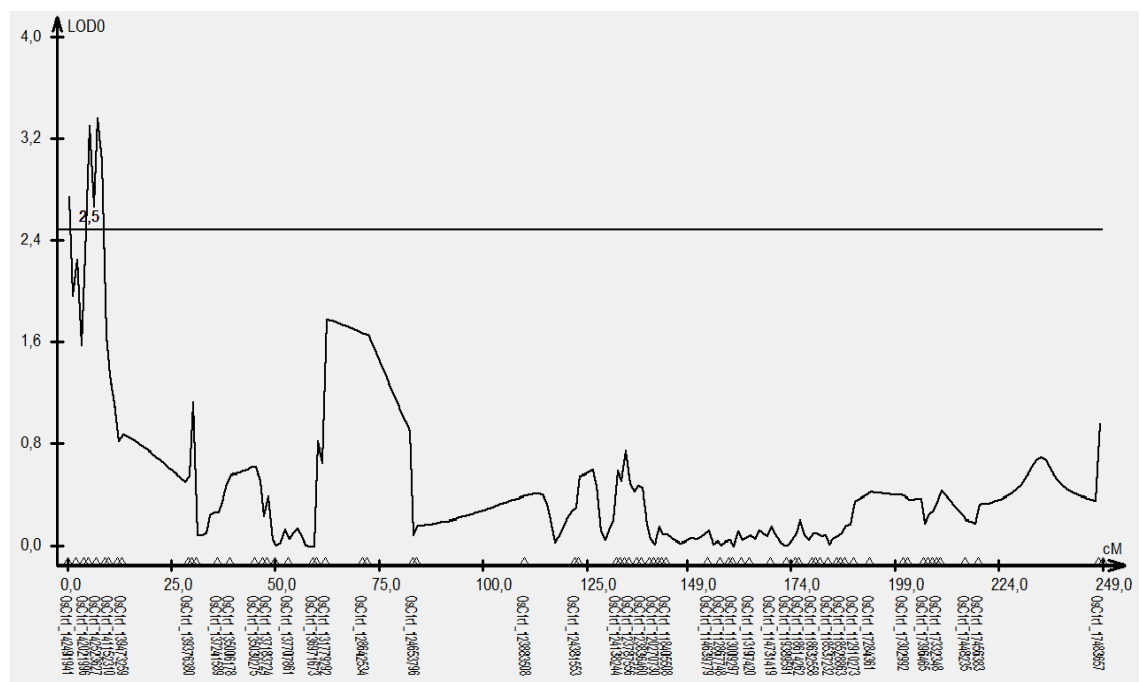


Figura 3: QTL associado à característica COM na profundidade de 25 a 45 cm em uma população  $F_{2:3}$  de arroz no cromossomo 1 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. Valor de crítico do LOD de 2,5 está representado pela linha horizontal.

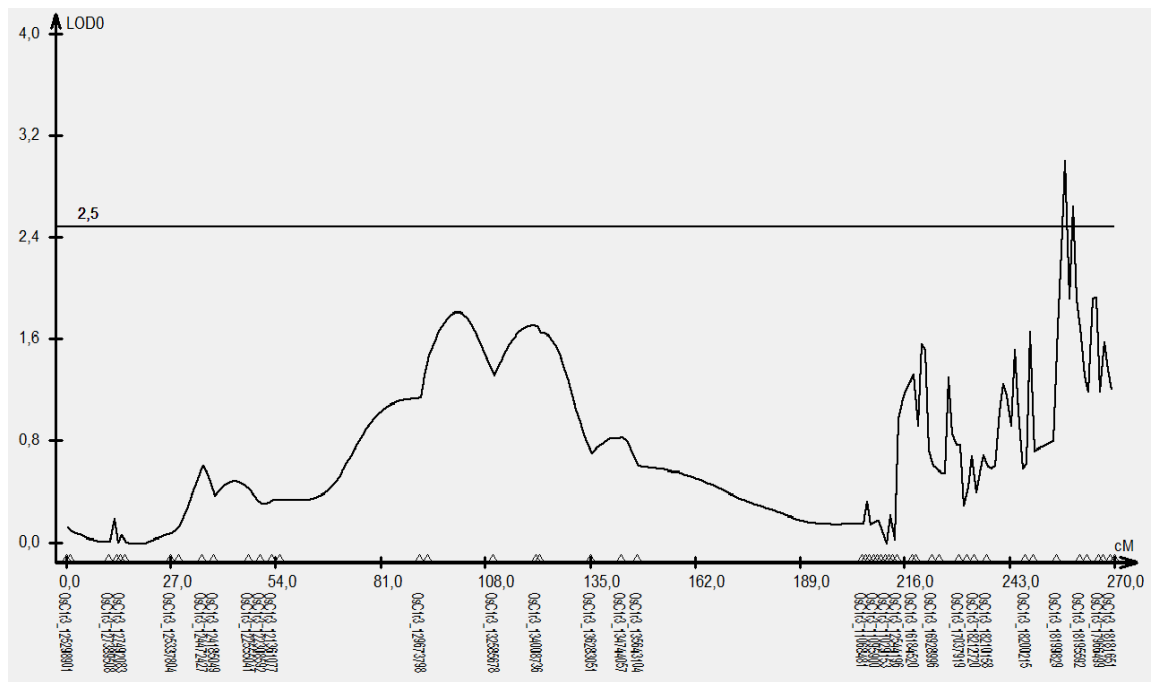


Figura 4: QTL associado à característica área de contato da raiz (ACR) na profundidade de 5 a 25 cm em uma população  $F_{2:3}$  de arroz no cromossomo 3 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. Valor de crítico do LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

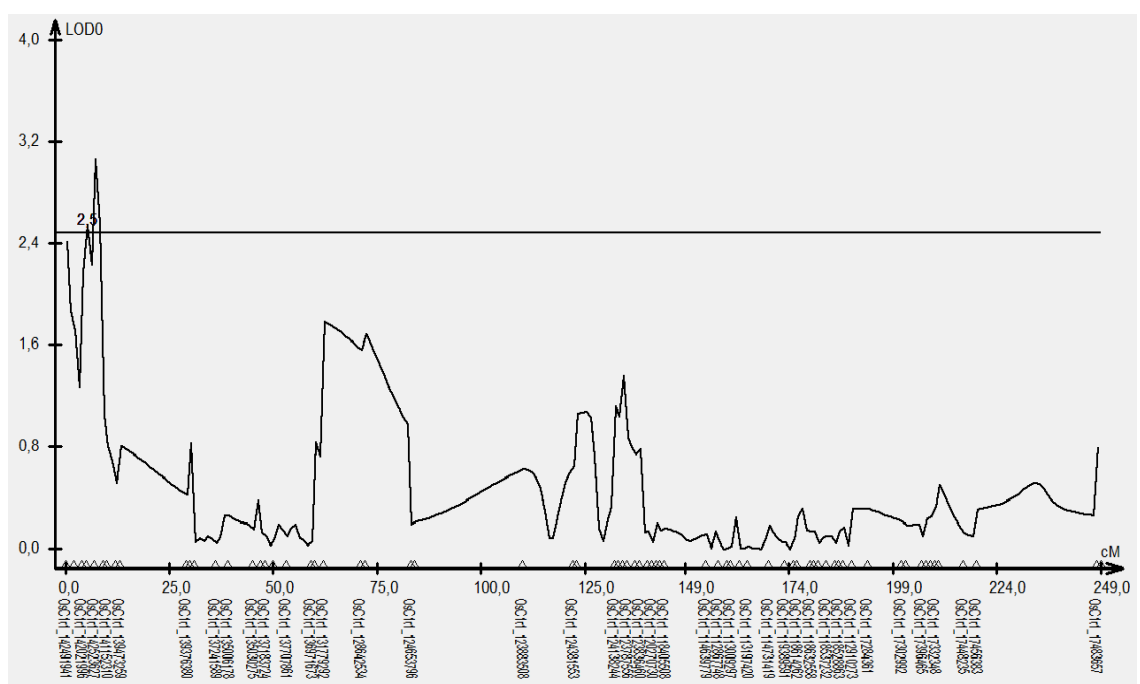


Figura 5: QTL associado à característica área de contato da raiz (ACR) na profundidade de 25 a 45 cm em uma população  $F_{2:3}$  de arroz no cromossomo 1 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. Valor de crítico do LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

Para a variável VOL na profundidade de 5 a 25 cm não foi encontrado QTL, contudo na profundidade de 25 a 45 cm foram encontrados dois QTLs no cromossomo 1 (Figura 6). O primeiro QTL no início do cromossomo a uma distância de 5 a 9 cM entre os marcadores OsC1r1\_142021996 e OsC1r1\_141152310 com LOD de 2,99. O segundo QTL foi localizado a uma distância de 67 a 76 cM entre os marcadores OsC1r1\_128642534 e OsC1r1\_124653796 com um LOD de 3,05.

A identificação de duas regiões controlando uma característica quantitativa pode supor a existência de mais características envolvidas em VOL nessa profundidade, quando comparado com a profundidade de 5 a 25 cm. Tal constatação infere na existência de mais genes envolvidos em VOL para alcançar regiões mais profundas do solo (Uga et al., 2011). Outras variáveis do sistema radicular ou, ainda, genes que sinalizam alterações bioquímicas que estimulam o crescimento da raiz em sentido vertical, como o alongamento das células das raízes (Uga et al., 2013), podem estar envolvidas no aprofundamento da raiz no solo, respondendo em um maior número de QTLs.

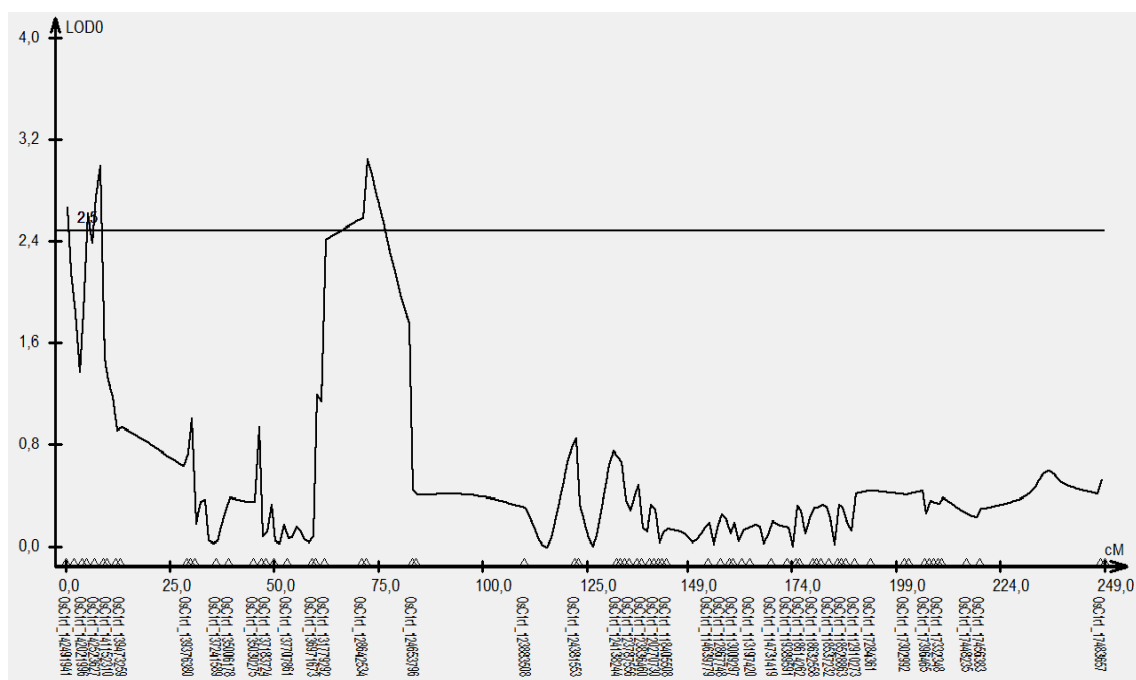


Figura 6: QTL associado ao Volume das raízes na profundidade de 25 a 45 cm em uma população F<sub>2:3</sub> de arroz no cromossomo 1 pela análise de Mapeamento de Intervalo Composto. Valor de crítico do LOD de 2,5, representado pela linha horizontal.

A identificação de duas regiões controlando uma característica quantitativa permite inferir sobre a uma herança de controle poligênico para a característica VOL. Tal constatação permite inferir sobre a existência de mais genes envolvidos no controle de VOL, o que permitiria a planta alcançar regiões mais profundas do solo (Uga et al., 2011). Tais genes permitiriam a planta estimular o crescimento da raiz em sentido vertical por meio, por exemplo, do alongamento das células das raízes (Uga et al., 2013).

Outros trabalhos realizados com o arroz (*O. sativa* L.) também identificaram QTLs para as variáveis COM, ACR e VOL nesses mesmos cromossomos corroborando com os resultados da presente pesquisa, e estão disponíveis em: ([http://www.gramene.org/db/qtl/qtl\\_display?trait\\_category=Anatomy;query=RTVOL;search\\_field=trait\\_symbol;submit=Submit](http://www.gramene.org/db/qtl/qtl_display?trait_category=Anatomy;query=RTVOL;search_field=trait_symbol;submit=Submit)). Courtois et al. (2003), estudando uma população de linhagens endogâmicas provenientes do cruzamento entre as variedades IAC 165 (*O. sativa* L. subesp. *japônica*) e Co39 (*O. sativa* L. subesp. *indica*), encontraram, para características do sistema radicular, os principais QTL nos cromossomos 1 e 4. Deve-se ressaltar que IAC 165 foi um dos genitores utilizados nesse trabalho.

O limitado progresso para tolerância a seca na cultura do arroz tem sido atribuído, em parte, à grande quantidade de genes envolvidos e à grande influência do ambiente nesta característica. Contudo, Uga et al. (2013) desenvolveram uma variedade de arroz com grande produtividade, mesmo quando submetido ao estresse de seca. A linhagem foi desenvolvida por meio de retrocruzamento, utilizando seleção assistida por marcadores, com monitoramento do gene *dro1*. Esse gene está localizado no cromossomo 9, sendo responsável pelo alongamento das células da raiz.

Muitos dos trabalhos de identificação de QTLs na cultura do arroz, e relacionados a características do sistema radicular foram realizados são feitos por meio de cruzamentos entre subespécies com genótipos *O. sativa* indica com *O. sativa* japônica (Steele et al., 2007; Uga et al., 2011; Courtois et al., 2003; Ping et al., 2003). Nesse tipo de cruzamento há grande segregação, podendo-se encontrar QTL em várias regiões do genoma para uma determinada característica. Quando se tem o conhecimento prévio dos genitores e das características contrastantes dentro de uma subespécie ou mesmo um grupo de materiais genéticos, o cruzamento entre tais genótipos resulta em

segregação para uma quantidade menor de características. Com isso, o estudo molecular para a característica torna-se mais refinado e pode ser mais preciso que estudos em populações provenientes de genitores muito contrastantes, como nos cruzamentos interespecíficos e entre subespécies.

#### 4. Conclusões

A população segregante, resultante do cruzamento entre as variedades IAC 165 e BRS Primavera, mostrou ampla divergência para os caracteres de raiz estudados.

A técnica do *Chip* de DNA permitiu a construção de um mapa genético do arroz de terras altas, com boa cobertura do genoma, com um comprimento total de 1424 cM, abrangendo todos os cromossomos da espécie, com exceção do cromossomo 9.

Os grupos de ligação 1 e 3 apresentaram QTLs relacionados aos caracteres do sistema radicular na população proveniente do cruzamento entre as variedades IAC 165 e BRS Primavera.

#### 5. Referências bibliográficas

ANDERSEN, J. R.; LÜBBERSTEDT, T. Functional markers in plants. **Trends in Plant Science**. v.8, n.11, p.554–560, 2003.

BING-SONG, Z.; LING, Y.; CHUAN-ZAO, M.; WEI-PING, Z.; PING, W. QTLs and candidate genes for rice root growth under flooding and upland conditions. **Acta Genetica Sinica**. v.33, n.2, p.141–151, 2006.

CAETANO, A. R. Marcadores SNP: conceitos básicos, aplicações no manejo e no melhoramento animal e perspectivas para o futuro. **Revista Brasileira de Zootecnia**. v.38, p.64-71, 2009.

CAIXETA, E. T.; FERRÃO, L. F. V.; MACIEL-ZAMBOLIM, E. Marcadores moleculares. In: BORÉM, A. FRITSCHÉ-NETO, R. Biotecnologia aplicada ao melhoramento de plantas. Visconde do Rio Branco, Suprema, p.31-58, 2013.

CHENG, Z.; BUELL, C.R.; WING, R.A.; GU, M.; JIANG, J. Toward a Cytological Characterization of the Rice Genome. *Genome Research*, 11:2133–2141, 2001.

COLLARD, B. C. Y.; JAHUFER, M. Z. Z.; BROUWER, J. B.; PANG, E. C. K. An introduction to markers, quantitative trait loci (QTL) mapping and marker-assisted

selection for crop improvement: The basic concepts. **Euphytica**. v.142, p.169-196, 2005.

COURTOIS, B.; SHEN, L.; PETALCORIN, W.; CARANDANG, S.; MAULEON, R.; LI, Z. Locating QTLs controlling constitutive root traits in the rice population IAC 165 × Co39. **Euphytica**. v.134, p. 335-345, 2003.

CRUZ, C. D. GENES - a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.

GAMUYAO, R.; CHIN, J. H.; PARIASCA-TANAKA, J.; PESARESI, P.; CATAUSAN, S.; DALID, C.; SLAMET-LOEDIN, I.; TECSON-MENDOZA, E. M.; WISSUWA, M.; HEUER, S. The protein kinase Pstol1 from traditional rice confers tolerance of phosphorus deficiency. **Nature**. 488, n.7412, p.535–539, 2012.

HENRY, A.; GOWDA, V. R. P.; TORRES, R. O.; MCNALLY, K. L.; SERRAJ, R. Variation in root system architecture and drought response in rice (*Oryza sativa*): Phenotyping of the OryzaSNP panel in rainfed lowland fields. **Field Crops Research**. v.120, p.205-214, 2011. doi:10.1016/j.fcr.2010.10.003.

JAISWAL, P. *et al.* Gramene: a bird's eye view of cereal genomes. **Nucleic Acids Research**. v. 34, 2006. Database issue. D717–D723. doi:10.1093/nar/gkj154.

JUN-ZHI, Z.; XIAO, L.; CHAO, L.; KE, X.; YAN-JUN, D. Genetic analysis and molecular mapping of light-sensitive red-root mutant in rice. **Rice Science**. v.16, n.1, p.27–32, 2009, doi:10.1016/S1672-6308(08)60053-0.

LI, J.; XIE, Y.; DAI, A.; LIU, L.; LI, Z. Root and shoot traits responses to phosphorus deficiency and QTL analysis at seedling stage using introgression lines of rice. **Journal of Genetics and Genomics**. 36, p.173-183, 2009. doi: 10.1016/S1673-8527(08)60104-6.

LIANG, G.; ZHEN-HUA, Z.; JIE-YUN, Z. Quantitative trait loci for heading date and their relationship with genetic control of yield traits in rice (*Oryza sativa*). **Rice Science**. v.20, n.1, p.1-12, 2013a. doi:10.1016/S1672-6308(13)60101-8.

LIANG, Y. S. Locating QTLs controlling several adult root traits in an elite Chinese hybrid rice. **Gene**. v.526, p.331–335, 2013b. Link: <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2013.04.010>.

LI-NA, Z.; GUI-LAN, C.; LONG-ZHI, H. Genetic Diversity of Rice Landraces from Lowland and Upland Accessions of China. **Rice Science**. v. 20, n. 4, p.259–266, 2013, doi:10.1016/S1672-6308(13)60139-0.

MAMMADOV, J.; AGGARWAL, R.; BUYYARAPU, R.; KUMPATLA, S. SNP Markers and their impact on plant breeding. **International Journal of Plant Genomics**. v.2012, 11p. doi:10.1155/2012/728398.

NGUYEN, H. T.; BABU, R. C.; BLUM, A. Breeding for drought resistance in rice: physiology and molecular genetics considerations. **Crop Science**. v.37, p.1426-1437, 1997.

OLIVEIRA, J. V.; FREITAS, T. F. S.; FIÚZA, L. M.; MENEZES, G.; DOTTO, G. **Manual de insetos associados à cultura do arroz irrigado**. Boletim Técnico n.8, Instituto Rio Grandense do Arroz. Cachoeirinha, 2010, 56p.

PESSOA-FILHO, M.; BELO, A.; ALCOCHETE, A. A. N.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. A set of multiplex panels of microsatellite markers for rapid molecular characterization of rice accessions. **BMC Plant Biology**. v.7, n.23, 2007.

PING, M.; ZICHAO, L.; CHUNPING, L.; HONGLIANG, Z.; CHANGMING, W.; CHEN, L.; XIANGKUN, W. QTL mapping of the root traits and their correlation analysis with drought resistance using DH lines from paddy and upland rice cross. **Chinese Science Bulletin**. v.48, n.24, p.2718-2724, 2003.

REGITANO, L. C. A.; VENERONI, G. B. Marcadores moleculares e suas aplicações no melhoramento animal. **Anais: II Simpósio de Biologia Molecular Aplicada à Produção Animal**. 2009, São Carlos – SP.

SABOURI, H.; SABOURI, A.; JAFARZADEH, M. R.; MOLLASHAHI, M. Detection of QTLs controlling field blast resistance in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Omics Journal**. v.4, n.1, p.1-5, 2011.

SCHENA, M.; SHALON, D.; DAVIS, R. W.; Brown, P. Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA microarray. **Science**. v.270, p.467-470, 1995.

STEELE, K. A.; VIRK, D. S.; KUMAR, R.; PRASAD, S. C.; WITCOMBE, J. R. Field evaluation of upland rice lines selected for QTLs controlling root traits. **Field Crops Research**. v.101, p.180-186, 2007. doi:10.1016/j.fcr.2006.11.002.

STONE, L. F. Absorção de P, K, Mg, Ca e S por arroz influenciada pela deficiência hídrica, vermiculita e cultivar. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.20, n.11, p.1251-1258, 1985

TOESCHER, C. F.; AFRÂNIO A. R.; REIMAR C. Volume de água aplicada e produtividade do arroz sob diferentes métodos de irrigação. **Revista da FZVA**. v.4, n.1, 2007.

TOPP, C. N.; IYER-PASCUZZI, A. S.; ANDERSON, J. T.; LEE, C.; ZUREK, P. R.; SYMONOA, E.; ZHENG, Y.; BUCKSCH, A.; MILEYKO, Y.; GALKOVSKYI, T.; MOORE, B. T.; HARER, J.; EDELSBRUNNER, H.; MITCHELL-OLDS, T.; WEITZ, J. S.; BENFEY, P. N. 3D phenotyping and quantitative trait locus mapping identify core regions of the rice genome controlling root architecture. **Plant Biology**. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. v.110, n.18, p.1695-1704, 2013. doi:10.1073/pnas.1304354110.

UGA, Y. et al. Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. **Nature Genetics**. 2013. doi:10.1038/ng.2725.

UGA, Y.; OKUNO, K.; YANO, M. Dro1, a major QTL involved in deep rooting of rice under upland field conditions. **Journal of Experimental Botany**. v.62, n.8, p.2485-2494, 2011. doi:10.1093/jxb/erq429.

## 7. Conclusões Gerais

O bioensaio desenvolvido apresenta-se como metodologia rápida, prática, precisa e eficiente de avaliação *in situ* do sistema radicular em plantas, o que possibilita o acompanhamento do crescimento das raízes ao longo do tempo, e em diferentes profundidades do solo.

A metodologia pode ser indicada para diversas atividades de pesquisa como em várias etapas dentro do melhoramento de plantas, em estudos genômicos e hereditários dos caracteres de raiz, em trabalhos com respostas das plantas a atividades física ou química dos solos, em fitopatologia, em botânica, dentre outras.

A variedade Azucena obteve os maiores valores para as variáveis CR, AR e VR, seguida por IAC 165, apresentando um crescimento do sistema radicular bem expressivo tanto na parte mais superficial quanto em camadas mais profundas do solo.

Os genótipos Cajueiro Liso e Paná se sobressaíram, por terem os maiores valores de raiz na profundidade de 5 a 25 cm, porém, alocados dentre os piores valores na profundidade de 25 a 45 cm, sendo assim mais indicados para solos rasos.

A CNAS possui grande divergência entre os acessos para os caracteres do sistema radicular, sendo, portanto excelente fonte de variabilidade para programas de melhoramento visando estudos relacionados à raiz.

A técnica do *Chip* de DNA permitiu a construção de um mapa genético do arroz de terras altas, com boa cobertura do genoma, com um comprimento total de 1424 cM, abrangendo todos os cromossomos da espécie, com exceção do cromossomo 9.

Os grupos de ligação 1 e 3 apresentaram QTLs relacionados aos caracteres do sistema radicular na população proveniente do cruzamento entre as variedades IAC 165 e BRS Primavera.