



*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

ISSN 1678-9644

Dezembro, 2004

Documentos 169

Utilização de Marcadores Microssatélites no Melhoramento Populacional do Arroz

Claudio Brondani
Rosana Pereira Vianello Brondani
Tereza Cristina Oliveira Borba
Tuliana Brunet
Paulo Hideo Nakano Rangel
Elcio Perpétuo Guimarães

Santo Antônio de Goiás, GO
2004

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Arroz e Feijão

Rodovia Goiânia a Nova Veneza Km 12 Zona Rural
Caixa Postal 179
75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO
Fone: (62) 533 2110
Fax: (62) 533 2100
www.cnpaf.embrapa.br
sac@cnpaf.embrapa.br

Comitê de Publicações

Presidente: *Carlos Agustin Rava*
Secretário-Executivo: *Luiz Roberto Rocha da Silva*
Membros: *Josias Corrêa de Faria*
Rosângela Bevitóri

Supervisor editorial: *Marina A. Souza de Oliveira*
Revisão de texto: *Vera Maria T. Silva*
Normalização bibliográfica: *Ana Lúcia D. de Faria*
Capa: *Neriton Paulino*
Editoração eletrônica: *Fabiano Severino*

1ª edição

1ª impressão (2004): 500 exemplares

Todos os direitos reservados.

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Arroz e Feijão

Utilização de marcadores microssatélites no melhoramento populacional do arroz / Claudio Brondani ... [et al.]. – Santo Antônio de Goiás : Embrapa Arroz e Feijão, 2004. 32 p. – (Documentos / Embrapa Arroz e Feijão, ISSN 1678-9644 ; 169)

1. Arroz – Melhoramento Genético. 2. Arroz – Seleção Recorrente. 3. Marcador Molecular. I. Brondani, Claudio. II. Embrapa Arroz e Feijão. III. Série.

CDD 633.1823 (21. ed.)

© Embrapa 2004

Autores

Cláudio Brondani

Engenheiro Agrônomo, Doutor em Biologia Molecular,
Embrapa Arroz e Feijão
Rod. Goiânia a Nova Veneza, Km 12
75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO
brondani@cnpaf.embrapa.br

Rosana Pereira Vianello Brondani

Engenheiro Agrônomo, Doutora em
Biologia Molecular Vegetal,
Embrapa Arroz e Feijão
rosanavb@cnpaf.embrapa.br

Tereza Cristina Oliveira Borba

Bolsista, Embrapa Arroz e Feijão

Tuliana Brunet

Bolsista, Embrapa Arroz e Feijão

Paulo Hideo Nakano Rangel

Engenheiro Agrônomo, Doutor em
Genética e Melhoramento de plantas,
Embrapa Arroz e Feijão
phrangel@cnpaf.embrapa.br

Elcio Perpétuo Guimarães

Engenheiro Agrônomo, Ph.D. em
Genética e Melhoramento,
Embrapa Arroz e Feijão
eguimara@cnpaf.embrapa.br

Apresentação

O arroz é cultivado entre as latitudes 55°N e 36°S, sob diversos ecossistemas e, no Brasil, os sistemas de cultivo são o irrigado e o de terras altas. A produção do arroz duplicou entre 1966 e 1990, principalmente devido ao lançamento comercial de cultivares altamente produtivas. Contudo, o uso intensivo do germoplasma melhorado de arroz, altamente aparentados entre si, como genitores de programas de melhoramento, reduziu a variabilidade genética disponível para se realizar a seleção.

Existe, atualmente, uma necessidade urgente de desenvolver cultivares de arroz com maior potencial produtivo e estabilidade da produção do que as disponíveis hoje.

A ampliação da base genética do arroz, através da incorporação genótipos com grande variabilidade genética como novos genitores do programa de melhoramento, permite que novas combinações alélicas possam ser obtidas e selecionadas, resultando em cultivares comerciais que atendam as demandas de produção da cultura. A utilização de marcadores moleculares abre a possibilidade de obtenção de estimativas da diversidade genética de acessos armazenados em bancos de germoplasma com muito maior precisão do que as baseadas unicamente na análise morfológica.

Com a publicação deste documento, pretende-se disponibilizar aos interessados no tema, um estudo de caso sobre a utilização de marcadores microssatélites no melhoramento populacional do arroz, realizado na Embrapa Arroz e Feijão.

Beatriz da Silveira Pinheiro
Chefe-Geral da Embrapa Arroz e Feijão

Sumário

| | |
|---|----|
| Introdução | 9 |
| Estudo de Caso - Análise Molecular da Cultivar Tio Taka por Marcadores Microssatélites | 12 |
| Análise dos Genitores da População CNA-IRAT | 19 |
| Variabilidade Genética do Germoplasma de Arroz | 21 |
| Escolha de Genitores para a Composição de Novas Populações de Seleção Recorrente | 27 |
| Considerações Finais | 28 |
| Referências Bibliográficas | 29 |

Utilização de Marcadores Microssatélites no Melhora- mento Populacional do Arroz

Claudio Brondani

Rosana Pereira Vianello Brondani

Tereza Cristina Oliveira Borba

Tuliana Brunes

Paulo Hideo Nakano Rangel

Elcio Perpétuo Guimarães

Introdução

O arroz (*Oryza sativa*) possui uma das maiores coleções de germoplasma dentre as espécies de interesse comercial, e estima-se que existam no mundo ao redor de 120.000 variedades diferentes de arroz (Khush, 1997), resultantes de um processo contínuo de seleção e adaptação a diversos ambientes. O arroz é cultivado entre as latitudes 55°N e 36°S, sob diversos ecossistemas, e no Brasil, os sistemas de cultivo são o irrigado e o de terras altas. A produção do arroz duplicou entre 1966 e 1990, principalmente devido ao lançamento comercial de cultivares altamente produtivas. Contudo, o uso intensivo do germoplasma melhorado de arroz, altamente aparentados entre si, como genitores de programas de melhoramento, reduziu a variabilidade genética disponível para se realizar a seleção. Esta é a principal causa apontada para a estagnação dos patamares de produtividade alcançada pelas cultivares modernas de arroz (Rangel et al., 1996; Tanksley & McCouch, 1997). Além disto, a limitada variabilidade genética disponível para o programa de melhoramento tem resultado em cultivares mais suscetíveis a pragas e doenças.

O aumento da população mundial projeta um acréscimo de 290 milhões de toneladas anuais em relação a produção atual de 560 milhões de toneladas, em um cenário que inclui a redução da área de plantio devido a degradação dos recursos naturais e o aumento da urbanização (Khush, 1997; Tanksley & McCouch, 1997). Deste modo, existe uma necessidade urgente de desenvolver cultivares de arroz com maior potencial produtivo e estabilidade da produção do que as disponíveis hoje.

A ampliação da base genética do arroz, através da incorporação genótipos com grande variabilidade genética como novos genitores do programa de melhoramento, permite que novas combinações alélicas possam ser obtidas e selecionadas, resultando em cultivares comerciais que atendam as demandas de produção da cultura. A utilização de marcadores moleculares abre a possibilidade de obtenção de estimativas da diversidade genética de acessos armazenados em bancos de germoplasma com muito maior precisão do que as baseadas unicamente na análise morfológica. Acessos com perfis de DNA mais distintos em relação às linhagens e cultivares comerciais provavelmente contêm um número maior de novos alelos de genes relacionados a características de interesse (Tanksley & McCouch, 1997). Identificados os acessos de arroz geneticamente mais divergentes, existem duas estratégias que podem ser utilizadas para a exploração destes recursos genéticos pelo programa de melhoramento: o retrocruzamento e a seleção recorrente.

O método de retrocruzamento é geralmente utilizado para melhorar um caráter deficiente de uma cultivar (Fehr, 1987). Dois ou três retrocruzamentos são necessários, na direção do parental cultivado, quando o retrocruzamento envolve uma cultivar como parental recorrente e um germoplasma exótico (variedades tradicionais e espécies silvestres) como parental doador. Isto permite gerar uma progênie sem as características indesejáveis incorporadas do germoplasma exótico, herdadas devido a ligação gênica com o gene de interesse deste germoplasma. Neste caso, a ampliação da base genética está restrita a estas regiões genômicas incorporadas.

A criação de populações com ampla base genética e sua administração através da seleção recorrente têm a vantagem de possibilitar o ganho genético em sucessivos ciclos de melhoramento (Rangel et al., 2000). Hull (1945) reportou, pela primeira vez, a seleção recorrente como um método para selecionar e inter cruzar famílias selecionadas, geração após geração, a fim de obter a recombinação genética e desenvolver populações melhoradas. A característica cíclica do procedimento de seleção recorrente permite o desenvolvimento de séries de linhagens para avaliação, seleção e recombinação em cada ciclo. Progênies derivadas destas linhagens podem resultar em novas cultivares com ampla base genética, se a população original possuir alta variabilidade genética.

Apesar de gerar diversos genótipos para o programa de melhoramento de arroz irrigado e de terras altas no Brasil, somente um destes foi lançado como

cultivar comercial, no ano de 2002 - a cultivar SCS BRS-113 Tio Taka (referida como Tio Taka, Figura 1). Esta cultivar, resultante de um esforço cooperativo entre a Embrapa (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária) e a Epagri (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina), foi a primeira derivada de um programa de melhoramento populacional de arroz no mundo. Ela foi obtida da população de seleção recorrente CNA-IRAT 4, que foi desenvolvida para explorar a variabilidade genética do grupo *indica*, a partir do inter cruzamento de dez linhagens e cultivares de arroz: BG 90-2, CNA-7, CNA-3815, CNA-3848, CNA-3887, Colômbia 1, Eloni, Nanicão, UPR 103 80 1 2, e IR 36 (fonte de macho-esterilidade genética, de acordo com Singh & Ikehashi, 1981). Após dois ciclos de seleção recorrente completo, um grupo de famílias foi selecionado da população CNA-IRAT 4 para ser avaliado preliminarmente em ensaios multilocais. Após cinco anos de avaliação e seleção, a linhagem SC 169 foi escolhida no Estado de Santa Catarina, mostrando alto potencial de produção de grãos, resistência à doença brusone e tolerância à toxidez de ferro. Por três anos, a SC 169 foi avaliada em experimentos de produtividade em Santa Catarina produzindo, em média, 8.861 kg/ha, sendo significativamente mais produtiva que as outras linhagens e testemunhas. A SC 169 recebeu o nome de SCS BRS 113 - Tio Taka. As principais características desta cultivar são: alto potencial de produção, baixa estatura de planta (100 cm), resistência ao acamamento, alta capacidade de perfilhamento, e alto rendimento de engenho e qualidade de cocção.



Fig. 1. Lavoura plantada com a cultivar Tio Taka.

O aumento da disponibilidade de marcadores genéticos altamente polimórficos e seu custo decrescente para genotipagem têm possibilitado um alto poder de resolução do relacionamento biológico entre indivíduos (Presciuttini et al., 2002). Marcadores microssatélites, também conhecidos como SSR (Simple Sequence Repeat), têm sido amplamente utilizados em análise genética devido a sua alta capacidade de detecção de alelos, em comparação a outras classes de marcadores moleculares (Rafalski et al. 1996). O arroz possui uma grande série de marcadores microssatélites disponíveis, desenvolvidos tanto a partir do seqüenciamento do genoma do arroz, quanto de bibliotecas genômicas enriquecidas para seqüências microssatélites (Chen et al., 1997; Brondani et al., 2001). Este grande número de marcadores permite que se faça a seleção dos marcadores mais informativos e bem distribuídos no genoma do arroz.

Melhoristas exploram a variabilidade genética do arroz através da seleção recorrente, fundamentalmente por que as linhagens ou cultivares produzidas utilizando esta metodologia podem combinar genes de vários genitores da população base, e com isto terão maior variabilidade genética do que as cultivares comerciais em uso. Este trabalho, utilizando os dados referentes ao desenvolvimento e análise molecular da cultivar Tio Taka, discute a importância de se criar populações de ampla base genética para o programa de melhoramento, e a possibilidade da utilização de marcadores moleculares para determinar a variabilidade genética do arroz e monitorar esta variabilidade nos diferentes ciclos de recombinação de populações de seleção recorrente.

Estudo de Caso - Análise Molecular da Cultivar Tio Taka por Marcadores Microssatélites

O material vegetal utilizado neste estudo incluiu a cultivar Tio Taka, dez genitores da população CNA-IRAT 4 (que deu origem a esta cultivar), 43 cultivares comerciais de arroz, 14 linhagens, nove acessos de arroz vermelho (*O. sativa* L.), 14 variedades tradicionais de arroz e quatro acessos da espécie silvestre *Oryza glumaepatula* (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Genitores da população de seleção recorrente CNA-IRAT 4 e suas respectivas genealogias.

| <i>Linhagens/Cultivares</i> | <i>Genealogia</i> |
|-----------------------------|------------------------------|
| BG 90-2 | IR 262/Remadja |
| CNA 7 | T 141/IR 665-1-1-75-3 |
| CNA 3815 | CICA 4/BG 90-2//SML 1517 |
| CNA 3848 | IR 36/CICA 7//5461 |
| CNA 3887 | BG 90-2/Tetep//4440 |
| Colômbia 1 | Napal/Takao IKU 18 |
| Eloni | IR 454/SML KAPURI//SML 66410 |
| Nanicão | Variedade Tradicional |
| UPR 103-80-1-2 | IR 24/Cauvery |
| IR 36 (msms) | IR 36 mutante macho-estéril |

Tabela 2. Relação dos 95 genótipos avaliados no estudo por marcadores SSR.

| <i>Genótipo</i> | <i>Germoplasma</i> | <i>Genótipo</i> | <i>Germoplasma</i> |
|-----------------------|-----------------------|-----------------|-----------------------|
| 1. Tio Taka | Cultivar | 49. CNA 8502 | Linhagem |
| 2. BG 90-2 (*) | Linhagem | 50. CNAi 8859 | Linhagem |
| 3. CNA 3815 (*) | Linhagem | 51. CNAi 8860 | Linhagem |
| 4. Upr 103 80 1 2 (*) | Linhagem | 52. CNAi 8870 | Linhagem |
| 5. CNA 3848 (*) | Linhagem | 53. CNAi 9025 | Linhagem |
| 6. CNA 3887 (*) | Linhagem | 54. CNAi 9051 | Linhagem |
| 7. IR 36 (*) | Cultivar | 55. CNAi 9150 | Linhagem |
| 8. Eloni (*) | Cultivar | 56. CNAi 9606 | Linhagem |
| 9. Colômbia 1 (*) | Cultivar | 57. CNAi 9687 | Linhagem |
| 10. Nanicao (*) | Variedade Tradicional | 58. CNAi 9705 | Linhagem |
| 11. CNA 7(*) | Linhagem | 59. CNAi 9747 | Linhagem |
| 12. AS 3510 | Linhagem | 60. CNAi 9748 | Linhagem |
| 13. Basmati 370 | Cultivar | 61. CNAi 9834 | Linhagem |
| 14. BlueBelle | Cultivar | 62. CNAi 9838 | Linhagem |
| 15. BR IRGA 409 | Cultivar | 63. Diamante | Cultivar |
| 16. BR IRGA 410 | Cultivar | 64. EEA 406 | Variedade Tradicional |

continua...

Continuação... **Tabela 2.**

| <i>Genótipo</i> | <i>Germoplasma</i> | <i>Genótipo</i> | <i>Germoplasma</i> |
|------------------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|
| 17. BR IRGA 411 | Cultivar | 65. Embrapa 6 Chui | Cultivar |
| 18. BR IRGA 412 | Cultivar | 66. Embrapa 7 Taim | Cultivar |
| 19. BR IRGA 413 | Cultivar | 67. Epagri 109 | Cultivar |
| 20. BR IRGA 417 | Cultivar | 68. Gen 1 | Arroz Vermelho |
| 21. BR IRGA 418 | Cultivar | 69. Gen 11 | Arroz Vermelho |
| 22. BR IRGA 419 | Cultivar | 70. Gen 13 | Arroz Vermelho |
| 23. BR IRGA 420 | Cultivar | 71. Gen 141 | Arroz Vermelho |
| 24. BRS Agrisul | Cultivar | 72. Gen 145 | Arroz Vermelho |
| 25. BRS Atalanta | Cultivar | 73. Gen 19 | Arroz Vermelho |
| 26. BRS Biguá | Cultivar | 74. Gen 2 | Arroz Vermelho |
| 27. BRS Bojuru | Cultivar | 75. Gen 752 | Arroz Vermelho |
| 28. BRS Bonança | Cultivar | 76. Gen 9 | Arroz Vermelho |
| 29. BRS Firmeza | Cultivar | 77. IR 22 | Cultivar |
| 30. BRS Formoso | Cultivar | 78. IR 8 | Cultivar |
| 31. BRS Jaburu | Cultivar | 79. IR 841 | Cultivar |
| 32. BRS Ligeirinho | Cultivar | 80. Javae | Cultivar |
| 33. BRS Ouro minas | Cultivar | 81. Jequitiba | Cultivar |
| 34. BRS Pelota | Cultivar | 82. Marajo | Cultivar |
| 35. BRS Soberana | Cultivar | 83. Maravilha | Cultivar |
| 36. BRS Talento | Cultivar | 84. Metica 1 | Cultivar |
| 37. Pacholinha (CA 780320) | Variedade Tradicional | 85. O. glumaepatula P | Espécie Silvestre |
| 38. Precoce (CA 780403) | Variedade Tradicional | 86. O. glumaepatula RN | Espécie Silvestre |
| 39. Matao (CA 800120) | Variedade Tradicional | 87. O. glumaepatula RS | Espécie Silvestre |
| 40. Saquarema (CA 840018) | Variedade Tradicional | 88. O. glumaepatula VG | Espécie Silvestre |
| 41. Lageado (CA 840075) | Variedade Tradicional | 89. Oryzica 1 | Cultivar |
| 42. Palha Murcha (CA 840165) | Variedade Tradicional | 90. Paga Dívida | Variedade Tradicional |
| 43. Japonês (CA 940002) | Variedade Tradicional | 91. Rio Grande | Cultivar |
| 44. Farroupilha (CA 940007) | Variedade Tradicional | 92. São Francisco | Cultivar |
| 45. Cateto (CA 950011) | Variedade Tradicional | 93. SCS 112 | Cultivar |
| 46. CICA 4 | Cultivar | 94. SCS BRS 111 | Cultivar |
| 47. CICA 8 | Cultivar | 95. Skrivimangoti | Variedade Tradicional |
| 48. CICA 9 | Cultivar | | |

* Genitores que deram origem à população CNA-IRAT 4.

A análise genética foi efetuada com 16 marcadores microssatélites, cuja escolha foi feita levando-se em conta o alto conteúdo informativo, qualidade da amplificação e representatividade dos 12 cromossomos do arroz (Tabela 3). A análise estatística dos genótipos do arroz, baseada nos dados moleculares, consistiu na determinação de alelos privados e das frequências alélicas em cada loco, e na determinação da distância genética utilizando o coeficiente J&C (Jukes & Cantor, 1969), a qual possibilitou a obtenção dos dendrogramas.

Tabela 3. Relação dos 16 marcadores SSR utilizados com as respectivas seqüências, localização cromossômica (Chr.) e referência.

| <i>Marcador SSR</i> | <i>Seqüência do Primer (5' -3')</i> | <i>Chr.</i> | <i>Fonte</i> |
|---------------------|--|-------------|--|
| OG17 | Forward CATGCATCAACAACGATC Reverse GTGCTCAAGTTAGCTGCTC | 2 | Brondani et al. (2001) |
| RM207 | Forward CCATTCGTGAGAAGATCTGA Reverse CACCTCATCCTCGTAACGCC | 2 | Chen et al. (1997) |
| OG44 | Forward ACACCAGCTCAGCTCATC Reverse TGCCAGGTAGTACAAGCTC | 3 | Brondani et al. (2001) |
| MRG4879 | Forward CAGAGATCGATTGGTAGC Reverse CCTTGTACTCAGCTCCAT | 4 | National Center for Biotechnology Information (2004) |
| OG61 | Forward GCATGCTGATGACTGAAGG Reverse GAAACGAACGGATGGACA | 5 | Brondani et al. (2001) |
| RM204 | Forward GTGACTGACTTGGTCATAGGG Reverse GCTAGCCATGCTCTCGTACC | 6 | Chen et al. (1997) |
| RM11 | Forward TCTCCTCTTCCCCGATC Reverse ATAGCGGGCAGGCTTAG | 7 | Panaud et al. (1996) |
| RM248 | Forward TCCTTGTGAAATCTGGTCCC Reverse GTAGCCTAGCATGGTGCATG | 7 | Chen et al. (1997) |
| RM223 | Forward GAGTGAGCTTGGGCTGAAAC Reverse GAAGGCAAGTCTTGGCACTG | 8 | Chen et al. (1997) |
| OG106 | Forward GGCCGTGTCACCATCTTCTCTA Reverse GGGGATCTGACATGCCATATGA | 9 | Brondani et al. (2001) |
| RM304 | Forward TCAAACCGGCACATATAAGAC Reverse GATAGGGAGCTGAAGGAGATG | 10 | Temnykh et al. (2000) |
| OG7 | Forward CAGGTTCTTGTGAAATGTGT Reverse AACTGACCACCATCTCC | 11 | Brondani et al. (2001) |
| RM224 | Forward ATCGATCGATCTTACGAGG Reverse TGCTATAAAAGGCATTCTGGG | 11 | Chen et al. (1997) |
| MRG4961 | Forward CCACTTGTCTCCTGTATGCT Reverse GTGATGTGAACGCCTCTACT | 11 | National Center for Biotechnology Information (2004) |
| RM229 | Forward CACTCACACGAACGACTGAC Reverse CGCAGTTCTTGTGAAATGT | 11 | Chen et al. (1997) |
| RM247 | Forward TAGTGCCGATCGATGTAACG Reverse CATATGGTTTTGACAAAGCG | 12 | Chen et al. (1997) |

Os 16 marcadores SSR produziram altos valores de PIC (*Polymorphism Information Content*), o qual variou de 0,89 (marcador OG17) a 0,45 (marcador MRG4879), com uma média de 0,70 (Tabela 4). Estes marcadores SSR identificaram 203 alelos, com uma média de 12,7 alelos por loco. Considerando apenas os genótipos de arroz cultivado, foram identificados 137 alelos, reduzindo a média para 8,6 alelos por loco, o que reflete a menor variabilidade genética deste grupo. Este número de alelos foi superior ao encontrado em cultivares de trigo (7,4 alelos, Prasad et al., 2000) e idêntico ao encontrado em cevada (8,6 alelos, Struss & Plieske, 1998). Em geral, marcadores que detectaram um maior número de alelos produziram os valores mais elevados de PIC (Tabela 4).

Tabela 4. Resultado da análise de 95 genótipos de arroz com 16 marcadores SSR.

| SSR | Chr, | Número de alelos | PIC | Tamanho do alelo na Tio Taka | Frequência do alelo nos genitores | Frequência do alelo em todos genótipos |
|---------|------|------------------|------|------------------------------|-----------------------------------|--|
| RM11 | 7 | 10 | 0,73 | 148 | 0,60 | 0,43 |
| RM204 | 6 | 14 | 0,76 | 116 | 0,20 | 0,24 |
| RM207 | 2 | 18 | 0,82 | 142 | 0,40 | 0,36 |
| RM223 | 8 | 11 | 0,60 | 164 | 0,70 | 0,52 |
| RM229 | 11 | 11 | 0,72 | 134 | 0,20 | 0,48 |
| RM247 | 12 | 15 | 0,56 | 148 | 0,50 | 0,65 |
| RM304 | 10 | 15 | 0,58 | 182 | 0,80 | 0,56 |
| OG61 | 5 | 17 | 0,82 | 108 | - | 0,07 |
| OG106 | 9 | 14 | 0,76 | 218 | 0,35 | 0,39 |
| MRG4961 | 11 | 6 | 0,75 | 140 | 0,40 | 0,38 |
| OG17 | 2 | 15 | 0,89 | 126 | 0,10 | 0,12 |
| OG44 | 3 | 12 | 0,50 | 158 | 0,10 | 0,006 |
| RM224 | 11 | 12 | 0,83 | 158 | 0,30 | 0,15 |
| MRG4879 | 4 | 10 | 0,45 | 108 | 0,90 | 0,7 |
| RM248 | 7 | 11 | 0,78 | 94 | 0,10 | 0,21 |
| OG7 | 11 | 12 | 0,73 | 154 | 0,20 | 0,46 |
| Average | - | 12,70 | 0,70 | - | 0,31 | 0,36 |

Chr.: localização cromossômica; PIC: *Polymorphism Information Content*.

Na análise com marcadores microssatélites, existem duas possibilidades para interpretação de bandas que co-migraram na mesma posição em um gel, em indivíduos distintos: a) os segmentos de DNA amostrados são idênticos em estado (ou parálogos), originados a partir de processos evolutivos diferentes, ou b) os segmentos de DNA amostrados são idênticos por descendência (ou ortólogos), havendo entre os dois indivíduos, um ancestral comum. Esta

abordagem diferenciada indica que pode haver limitação do uso de marcadores SSR em estudos filogenéticos (Robinson & Harris, 1999). Contudo, para a determinação de variabilidade genética em arroz, tal limitação não se aplica. Em espécies autógamas como o arroz, há um alto grau de desequilíbrio de ligação, devido ao número reduzido de genitores que deram origem ao germoplasma cultivado. Isto implica na constatação de que a maioria dos alelos que co-migram em um gel (possuem a mesma massa molecular) são idênticos por descendência. A utilização de marcadores SSR em mais de um ponto no genoma, também aumenta a precisão das estimativas de relacionamento genético entre acessos, diminuindo o problema de bandas parálogas (Ishii et al., 2001).

Um total de 58 alelos privados foram observados, distribuídos em 31 dos 95 genótipos analisados. O maior número de alelos privados, 21, foi encontrado na espécie silvestre *O. glumaepatula*: seis alelos do acesso coletado no Pantanal, quatro alelos do acesso coletado no Rio Negro, sete alelos do acesso coletado no Rio Solimões e quatro alelos do acesso coletado em Goiás (Tabela 5). A cultivar comercial BRS Bojuru apresentou três alelos privados, assim como o acesso de arroz vermelho Gen 11.

Tabela 5. Relação do número de alelos privados nos 95 genótipos de arroz analisados.

| <i>Genótipo</i> | <i>Marcador</i> | <i>Alelo</i> | <i>Frequência</i> |
|-----------------|-----------------|--------------|-------------------|
| AS3510 | RM204 | 130 | 1 |
| Basmati 370 | RM248 | 74 | 1 |
| BlueBelle | RM304 | 170 | 1 |
| BR IRGA 413 | RM229 | 132 | 1 |
| BRS Bojuru | RM204 | 190 | 1 |
| BRS Bojuru | OG61 | 96 | 1 |
| BRS Bojuru | OG106 | 228 | 1 |
| BRS Formoso | RM207 | 114 | 0,5 |
| BRS Talento | RM204 | 200 | 0,5 |
| BRS Talento | RM204 | 180 | 0,5 |
| CA780403 | RM223 | 174 | 1 |
| CA780403 | RM247 | 150 | 1 |
| CA780403 | MRG4879 | 146 | 1 |
| CA800120 | RM207 | 146 | 1 |
| CA840018 | RM223 | 166 | 1 |
| CA840018 | OG106 | 212 | 0,5 |

Continua...

Continuação... Tabela 5.

| <i>Genótipo</i> | <i>Marcador</i> | <i>Alelo</i> | <i>Frequência</i> |
|---------------------------|-----------------|--------------|-------------------|
| CA940002 | RM247 | 166 | 1 |
| CA940002 | MRG4879 | 116 | 0,5 |
| CA940007 | OG106 | 250 | 1 |
| CA950011 | RM207 | 118 | 1 |
| CNA3815 | RM207 | 158 | 1 |
| CNA7 | RM304 | 186 | 1 |
| CNA8502 | RM304 | 194 | 1 |
| Gen11 | RM304 | 176 | 1 |
| Gen11 | OG106 | 226 | 1 |
| Gen11 | MRG4879 | 150 | 0,5 |
| Gen13 | OG61 | 140 | 1 |
| Gen141 | RM247 | 190 | 1 |
| Gen141 | RM304 | 156 | 1 |
| Gen145 | RM224 | 154 | 0,5 |
| Gen752 | RM248 | 100 | 1 |
| IR8 | RM207 | 150 | 1 |
| Metica1 | OG61 | 124 | 0,5 |
| <i>O. glumaepatula</i> P | RM223 | 154 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> P | RM229 | 114 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> P | RM247 | 140 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> P | OG44 | 186 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> P | RM224 | 132 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> P | OG07 | 136 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> RN | RM247 | 134 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> RN | OG17 | 146 | 0,5 |
| <i>O. glumaepatula</i> RN | OG44 | 184 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> RN | OG07 | 144 | 0,5 |
| <i>O. glumaepatula</i> RS | OG106 | 242 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> RS | RM247 | 130 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> RS | OG44 | 180 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> RS | RM224 | 130 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> RS | MRG4879 | 128 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> RS | OG07 | 124 | 0,5 |
| <i>O. glumaepatula</i> RS | RM207 | 100 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> VG | RM247 | 136 | 0,5 |
| <i>O. glumaepatula</i> VG | OG61 | 112 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> VG | OG17 | 140 | 1 |
| <i>O. glumaepatula</i> VG | OG44 | 182 | 1 |
| Paga Dívida | OG61 | 132 | 1 |
| Paga Dívida | RM248 | 96 | 1 |
| Skrivimangoti | RM304 | 158 | 1 |
| Upr 103 80 1 2 | RM11 | 140 | 1 |

Alelos privados em populações silvestres são originados do isolamento natural ou reprodutivo. Em variedades de arroz, os alelos privados são decorrentes de mutação, migração, adaptação e seleção a condições ambientais muito específicas. Os alelos privados são importantes para definir a identidade genética de cada genótipo, e podem ser utilizados para a determinação do relacionamento genético entre genótipos, e para acompanhar a frequência de cada alelo durante os sucessivos ciclos de uma população de seleção recorrente. A existência de alelos privados nos genitores de uma população de seleção recorrente pode facilitar a determinação da contribuição real de cada genitor em genótipos selecionados desta população.

Nenhum alelo privado foi detectado nos genitores da população CNA-IRAT 4 com os 16 marcadores SSR analisados. Contudo, aumentando o número de marcadores SSR para a caracterização molecular dos genitores, alelos privados podem ser identificados, e também haplótipos de cada genitor podem ser obtidos. Esta informação pode ser utilizada alternativamente aos alelos privados para identificar os genitores que apresentam maior capacidade de gerar as melhores linhagens para o programa de melhoramento.

Análise dos Genitores da População CNA-IRAT

Baseado nos alelos da cultivar Tio Taka para os 16 marcadores SSR, efetuou-se uma busca sobre o provável genitor que originou estes alelos. As frequências dos alelos variou de 0,9 (MRG4879) a zero (alelo 108, OG61), com uma média de 0,31. Considerando todos os 95 genótipos avaliados, a frequência variou de 0,7 (alelo 108, MRG4879) A 0,07 (alelo 108, OG61), com uma média de 0,36 (Tabela 4). Em geral, os alelos mais frequentes nos genitores foram também mais frequentes nos 95 acessos.

A linhagem elite BG 90-2 foi o genitor que mostrou o maior número de alelos em comum com a Tio Taka, 11 no total. Como consequência, apresentou o menor coeficiente de distância J&C (Tabela 6 e Figuras 3 e 4). Por outro lado, o genitor Colômbia 1 apresentou apenas dois alelos em comum com Tio Taka, e o maior coeficiente de distância J&C. A fonte doadora do gene de macho-esterilidade, IR-36, mostrou cinco alelos em comum com Tio Taka, claramente indicando que apenas dois ciclos de recombinação e seleção foram suficientes para diminuir a contribuição de IR-36.

Tabela 6. Número de alelos em comum e coeficiente de distância J&C entre Tio Taka e os genitores da população CNA-IRAT 4.

| <i>Genitor</i> | <i>Alelos comuns</i> | <i>J&C Genitor x Tio Taka</i> |
|----------------|----------------------|-----------------------------------|
| BG 90-2 | 11 | 0,0510 |
| Upr 103 80 1 2 | 9 | 0,0833 |
| CNA 3815 | 8 | 0,0888 |
| CNA 3848 | 6 | 0,1056 |
| Nanicão | 6 | 0,1056 |
| CNA 3887 | 5 | 0,1171 |
| IR 36 | 5 | 0,1171 |
| Eloni | 4 | 0,1287 |
| CNA 7 | 3 | 0,1404 |
| Colômbia 1 | 2 | 0,1524 |

A similaridade genética entre BG 90-2 e Tio Taka pode ser resultante da maior capacidade geral de combinação do genitor BG 90-2 em comparação aos outros genitores da CNA-IRAT 4. Com isto, indivíduos resultantes de cruzamentos onde BG 90-2, ou um de seus descendentes, teriam sido um dos genitores, apresentariam melhor desempenho, e dentre estes indivíduos, estaria a linhagem que deu origem à Tio Taka. Além disto, BG 90-2 tem a melhor arquitetura de planta e potencial produtivo entre os genitores da população CNA-IRAT 4, características estas que podem facilmente serem identificadas e selecionadas, e que provavelmente contribuíram decisivamente para a alta proporção de alelos de BG 90-2 no genoma da Tio Taka.

O alelo 108 (marcador SSR OG 61) detectado na Tio Taka, não foi identificado em nenhum dos dez genitores da população CNA-IRAT 4 (Figura 2, Tabela 4). Este alelo é comum no conjunto gênico do arroz, e neste trabalho foi identificado nas cultivares BRS Formoso, BRS Ourominas, SCS 112 e BRS Talento, e nas linhagens CNAi 9834 e CNAi 9838. As duas possíveis razões da ocorrência deste alelo na Tio Taka seriam a mistura de sementes, que originariam plantas de arroz que poderiam polinizar plantas macho-estéreis durante o primeiro ou segundo ciclo de recombinação, ou a migração de grãos de pólen oriundos de genótipos de arroz plantados em área experimental adjacente ao local onde estaria sendo feito o primeiro ou segundo ciclo de recombinação. Neste caso, uma observação adicional deve ser feita, devido a utilização de plantas macho-estéreis: o gene da macho-esterilidade é o responsável por importante redução do custo para a realização da etapa de recombinação de populações de seleção recorrente, por eliminar a hibridação manual. Contudo, devido ao risco de contaminação do grão-de-pólen, é importante manter a população que utiliza o gene da macho-esterilidade o mais distante possível de outros genótipos de arroz, para reduzir a possibilidade de polinização cruzada. Uma planta de arroz doadora de pólen tem potencial de fecundar plantas receptoras a uma distância de 10 metros (Messegueur et al., 2001).



Fig. 2. Polimorfismo alélico do marcador SSR OG 61 em 95 genótipos de arroz avaliados. O alelo 108 (indicado pelas duas setas) esteve presente na Tio Taka (linhas 1 e 12) e ausente nos genitores da população CNA-IRAT 4. Entre as linhas 1 e 12 (da esquerda para a direita), estão localizados os genitores: BG 90-2, CNA 3815, Upr 103 80 1 2, CNA 3848, CNA 3887, IR 36, Eloni, Colômbia 1 e Nanicão. M: Marcador de massa molecular Ladder 10 pares de base (Invitrogen).

Variabilidade Genética do Germoplasma de Arroz

As cultivares comerciais de arroz atualmente em uso são derivadas de um grupo restrito de linhagens geneticamente semelhantes. Os marcadores moleculares podem auxiliar a ampliação da base genética do arroz, através da identificação de genótipos mais variáveis e a posterior utilização destes nos programas de melhoramento genético.

As estimativas de distância genética obtidas pelo coeficiente J&C na análise dos 95 genótipos foram utilizadas para a construção de dendrograma, que indica o grau de relacionamento genético entre eles (Figura 3). Para melhor visualização da variabilidade genética entre as cultivares comerciais de arroz avaliadas neste trabalho, foi obtido um dendrograma contendo apenas os 54 genótipos cultivados (Figura 4). A distância J&C média entre estes genótipos (0,11) foi utilizada como valor de corte para a formação dos agrupamentos de similaridade genética. Quatro agrupamentos foram formados, os quais incluíram 50 genótipos, sendo os quatro restantes, não agrupados (Nanicão, BRS Bojuru, Colômbia 1 e Maravilha). O agrupamento A foi constituído por 43 genótipos de arroz irrigado, incluindo Tio Taka e sete dos dez genitores da CNA-IRAT 4 (BG 90-2, CNA 3815, CNA 3848, CNA 3887 Upr 103 80 1 2, IR 36 e Eloni). O agrupamento B incluiu CNA 7, um dos genitores da CNA-IRAT 4, e BRS Soberana, uma cultivar de arroz de terras altas. O agrupamento C incluiu BRS Firmeza e seus dois genitores, Blue Belle e BR Irga 411. O agrupamento D incluiu duas cultivares de arroz de terras altas, BRS Bonança e BRS Talento, as quais possuem dois de seus três genitores em comum. Os genitores restantes da CNA-IRAT 4, Nanicão e Colômbia 1, não foram incluídos em agrupamentos.

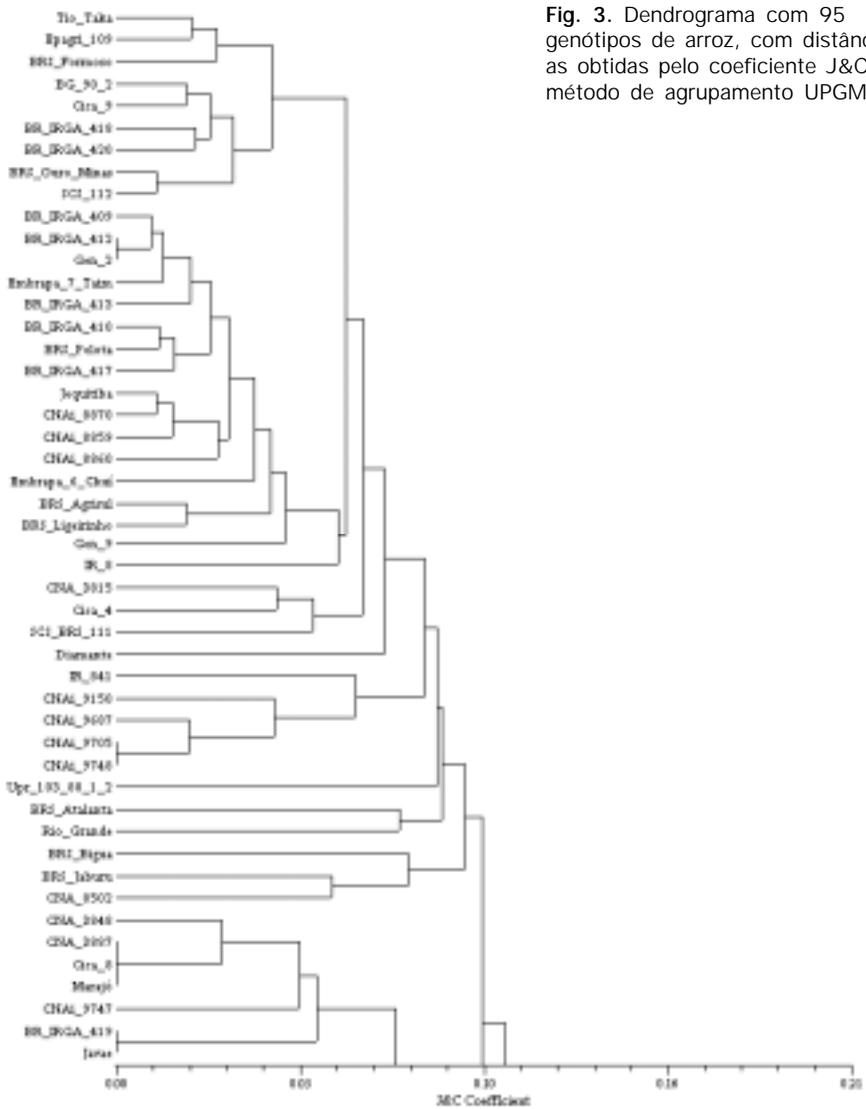
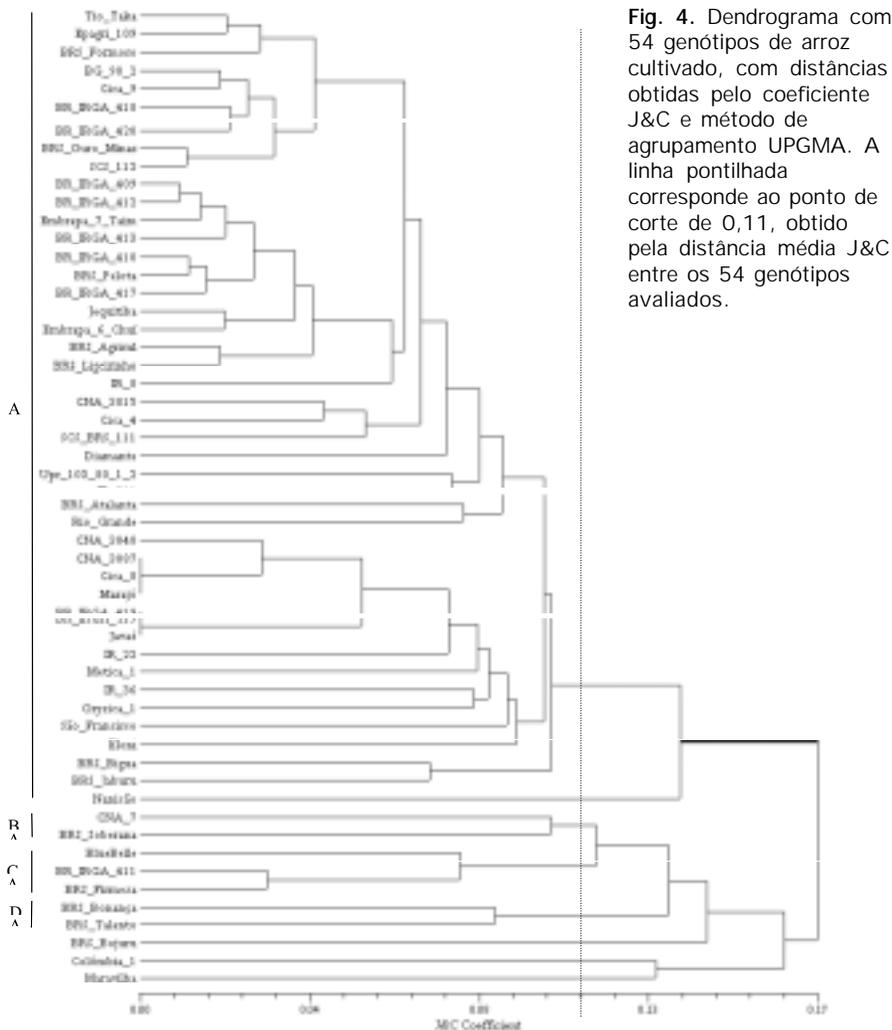


Fig. 3. Dendrograma com 95 genótipos de arroz, com distâncias obtidas pelo coeficiente J&C e método de agrupamento UPGMA.



Para determinar o grau de variabilidade genética de cada genótipo, foi obtido o coeficiente de distância J&C médio. A cultivar Maravilha foi a mais distante geneticamente em relação aos outros genótipos de arroz (0,19), e a cultivar SCS 112 foi a menos distante (0,08). A distância J&C média geral foi de 0,11 (Tabela 7). Entre os genitores da CNA-IRAT 4, o mais divergente foi a CNA 7 (0,15), e o menos divergente foi o BG 90-2 (0,09). Tio Taka mostrou a

distância J&C média de 0,1, inferior a todos os genitores, excetuando BG 90-2. Estes valores indicam uma baixa variabilidade genética nos genótipos de arroz estudados, mesmo considerando a inclusão na análise de 13 variedades tradicionais de arroz, que normalmente possuem maior variabilidade.

Tabela 7. Coeficiente de distância J&C médio de cada cultivar, linhagem e variedade tradicional de arroz, com os restantes 94 genótipos de arroz.

| <i>Genótipo</i> | <i>Coefficiente J&C</i> | <i>Genótipo</i> | <i>Coefficiente J&C</i> |
|-----------------|-----------------------------|-----------------|-----------------------------|
| Maravilha | 0,1884 | IR 22 | 0,1055 |
| BRS Bojuru | 0,1776 | Diamante | 0,1051 |
| BRS Bonança | 0,1729 | CNAi 9150 | 0,1049 |
| BlueBelle | 0,1721 | BRS Formoso | 0,1033 |
| AS 3510 | 0,1677 | CNAi 9687 | 0,1029 |
| BR IRGA 411 | 0,1618 | CICA 4 | 0,1023 |
| BRS Talento | 0,1591 | CNA 3848 | 0,0985 |
| BRS Soberana | 0,1539 | BRS Agrisul | 0,0983 |
| BRS Firmeza | 0,1490 | CNA 3887 | 0,0983 |
| CNA 7 | 0,1490 | CICA 8 | 0,0983 |
| CNAi 9051 | 0,1476 | Marajo | 0,0983 |
| Colômbia 1 | 0,1438 | CNAi 9747 | 0,0980 |
| Nanicão | 0,1405 | CNAi 9606 | 0,0976 |
| BRS Biguá | 0,1215 | CICA 9 | 0,0961 |
| São Francisco | 0,1192 | Tio Taka | 0,0953 |
| CNAi 9025 | 0,1192 | BR IRGA 413 | 0,0950 |
| Eloni | 0,1186 | SCS BRS 111 | 0,0946 |
| CNAi 9834 | 0,1180 | CNAi 8859 | 0,0942 |
| CNAi 9838 | 0,1180 | BR IRGA 417 | 0,0934 |
| BR IRGA 419 | 0,1169 | CNAi 8860 | 0,0920 |
| Rio grande | 0,1164 | BRS Ligeirinho | 0,0920 |
| Metica 1 | 0,1161 | BRS Pelota | 0,0915 |
| BRS Atalanta | 0,1127 | Jequitiba | 0,0902 |
| IR 36 | 0,1115 | CNAi 8870 | 0,0899 |
| Upr 103 80 1 2 | 0,1106 | Embrapa 6 Chui | 0,0887 |
| Epagri 109 | 0,1098 | BG 90-2 | 0,0882 |
| Javae | 0,1093 | BR IRGA 412 | 0,0882 |
| CNAi 9748 | 0,1092 | BRS Ouro minas | 0,0875 |
| CNAi 9705 | 0,1084 | Embrapa 7 Taim | 0,0871 |
| CNA 8502 | 0,1083 | BR IRGA 410 | 0,0860 |
| CNA 3815 | 0,1070 | BR IRGA 409 | 0,0860 |
| IR 8 | 0,1068 | BR IRGA 420 | 0,0844 |
| BRS Jaburu | 0,1068 | BR IRGA 418 | 0,0842 |
| IR 841 | 0,1067 | SCS 112 | 0,0839 |
| Oryzica 1 | 0,1057 | Média | 0,1124 |

O método de melhoramento por seleção recorrente tem o potencial de promover novas e úteis combinações alélicas. A adição de nova variabilidade genética nestas populações propiciam a quebra de blocos de ligação existentes nos genitores que deram origem à população, gerando as novas combinações alélicas, que quando produzem resultados favoráveis, podem ser selecionadas por melhoristas. Uma evidência de que a quebra de blocos gênicos conservados no germoplasma elite de arroz é responsável pelo comportamento transgressivo de importantes características agrônômicas, foi observada em linhagens derivadas de cruzamentos amplos envolvendo genótipos elite de arroz e espécies silvestres de arroz *Oryza rufipogon* (Xiao et al., 1998) e *O. glumaepatula* (Brondani et al., 2002). A importância da utilização de cruzamentos divergentes envolvendo genótipos melhorados de arroz e variedades tradicionais, está sendo avaliada no momento pela Embrapa Arroz e Feijão através da utilização de cruzamentos dialélicos. O motivo da utilização de variedades tradicionais é que este germoplasma tem o potencial de possuir genes que conferem tolerância a estresses bióticos e abióticos, pois são oriundas de pequenas propriedades rurais, normalmente cultivadas com baixo uso de insumos, o que induz a um processo de seleção e adaptação local, que ocorre após anos sucessivos de cultivo.

Entre os genótipos melhorados avaliados neste estudo, observou-se a ocorrência de no mínimo um loco em heterozigose: Blue Belle, BR IRGA 419, BRS Atalanta, BRS Biguá, BRS Bonança, BRS Formoso, BRS Pelota, BRS Talento, CICA 4, CICA 9, IR 22, IR 8, Javaé, Maravilha, Metica 1 e Rio Grande (Tabela 8). Os genótipos que apresentaram o maior número de locos em heterozigose (cinco locos) foram a cultivar Maravilha (terras altas), EEA 406 (variedade tradicional) e Gen 11 (arroz vermelho) (Tabela 8).

Espera-se um certo grau de heterozigose, ao final do processo de obtenção de uma linhagem, mesmo em espécies preferencialmente autógamas como o arroz. Contudo, após as sucessivas gerações de auto-fecundação, obtém-se um germoplasma constituído por mistura de linhas puras, as quais diferenciam-se por um ou poucos locos com alelos diferentes, em homozigose. Se muitos locos estiverem em heterozigose quando do lançamento de uma cultivar comercial de arroz, provavelmente haverá a perda da identidade genética desta cultivar, podendo inviabilizar a sua comercialização. Para resolver esta questão, bastaria utilizar um conjunto de, no mínimo, 24 marcadores microssatélites (dois por grupo de ligação, ou cromossomo), ainda na fase de plantio de semente genética, para identificar as plantas homozigotas para estes locos, e descartar aquelas que apresentassem algum destes locos em heterozigose.

Tabela 8. Heterozigosidade observada no germoplasma de arroz baseada na análise com 16 marcadores SSR.

| <i>Genótipo</i> | <i>Heterozigosidade observada</i> | <i>Número de heterozigotos</i> |
|--------------------|-----------------------------------|--------------------------------|
| CNA 3815 | 0,063 | 1 |
| UPR 103 80 1 2 | 0,063 | 1 |
| Blue Belle | 0,063 | 1 |
| BRS Biguá | 0,063 | 1 |
| BRS Formoso | 0,125 | 2 |
| BRS Pelota | 0,063 | 1 |
| BRS Atalanta | 0,188 | 3 |
| CICA 9 | 0,063 | 1 |
| EEA 406 | 0,313 | 5 |
| BR Irga 419 | 0,125 | 2 |
| Javae | 0,063 | 1 |
| Metica 1 | 0,25 | 4 |
| Rio Grande | 0,188 | 3 |
| IR 8 | 0,188 | 3 |
| CICA 4 | 0,063 | 1 |
| IR 22 | 0,188 | 3 |
| CNAi 9025 | 0,188 | 3 |
| Maravilha | 0,313 | 5 |
| BRS Bonança | 0,063 | 1 |
| BRS Talento | 0,063 | 1 |
| Gen 9 | 0,125 | 2 |
| Gen 11 | 0,313 | 5 |
| Gen 13 | 0,125 | 2 |
| Gen 145 | 0,188 | 3 |
| CNAi 9051 | 0,125 | 2 |
| Skrivimangoti | 0,125 | 2 |
| O, glumaepatula RN | 0,125 | 2 |
| O, glumaepatula RS | 0,063 | 1 |
| O, glumaepatula VG | 0,188 | 3 |
| CA 940002 | 0,063 | 1 |
| CA 840018 | 0,25 | 4 |
| CA 840075 | 0,063 | 1 |
| CA 840165 | 0,063 | 1 |
| CA 780320 | 0,063 | 1 |

Escolha de Genitores para a Composição de Novas Populações de Seleção Recorrente

A utilização de marcadores moleculares tem sido extremamente importante para a determinação da variabilidade genética do germoplasma de arroz. Deste modo, marcadores moleculares podem selecionar os genótipos mais divergentes como

potenciais genitores de novas populações de seleção recorrente. Contudo, é desejável que a caracterização molecular seja utilizada em conjunto com informações adicionais, como o desempenho *per se* e a capacidade geral de combinação de cada genitor potencial.

Após o estabelecimento da população de seleção recorrente, marcadores moleculares podem ser utilizados para monitorar o número e frequência de alelos em amostras de indivíduos que compõem cada ciclo de recombinação de uma população de seleção recorrente, tendo como ponto de partida o perfil molecular dos genitores. Com isto, pode-se averiguar o comportamento de cada alelo entre os diferentes ciclos, ou seja, se determinado alelo aumentou ou diminuiu sua frequência, ou até mesmo se este desapareceu na população. De posse desses dados, o melhorista pode decidir em que momento, nova variabilidade genética pode ser adicionada à população, por meio da introdução de novos genitores em ciclos avançados de recombinação.

Considerações Finais

A ampliação da base genética das cultivares de arroz pode ser obtida pelo programa de seleção recorrente. A escolha dos genitores no desenvolvimento de populações de seleção recorrente é decisiva para gerar populações variáveis que produzirão linhagens com combinações únicas favoráveis. Marcadores SSR são úteis para auxiliar a etapa de seleção de genitores, e monitorar a variação alélica durante os sucessivos ciclos de recombinação de uma população de seleção recorrente.

Como existe pouca variabilidade genética nos genótipos utilizados como genitores do programa de melhoramento arroz irrigado, podem ser utilizadas duas estratégias para a ampliação da base genética. A primeira é a inserção de germoplasma geneticamente divergente, tais como os provenientes de introduções de programas de melhoramento de outros países, cultivares de arroz de terras altas, variedades tradicionais e linhagens derivadas de cruzamentos interespecíficos, em cruzamentos com genótipos melhorados de arroz irrigado, através da implementação de um programa de pré-melhoramento baseado em retrocruzamentos, o qual gerará linhagens com base genética mais ampla, para serem utilizadas como genitores do programa de melhoramento de arroz. A segunda estratégia é a utilização do método de seleção recorrente, para maximizar a oportunidade de recombinação dos genótipos com base genética ampla. O lançamento comercial da Tio Taka, uma cultivar altamente produtiva, desenvolvida a partir de uma população com oito dos dez genitores pouco divergentes geneticamente, é um indicativo de que o aumento da variabilidade genética dos genitores de novas populações de seleção recorrente, resultará em cultivares de arroz irrigado ainda mais produtivas.

Referências Bibliográfica

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

BRONDANI, C.; RANGEL, P. H. N.; BRONDANI, R. P. V.; FERREIRA, M. E. QTL mapping and introgression of yield-related traits from *Oryza glumaepatula* to cultivated rice (*Oryza sativa*) using microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 104, n. 6/7, p. 1192-1203, May 2002.

CHEN, X.; TEMNYKH, S.; XU, Y.; CHO, Y. G.; MCCOUCH, S. R. Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 95, n. 4, p. 553-567, Sept. 1997.

FEHR, W. R. **Principles of cultivar development: theory and technique**. New York: McMillan, 1987. 525 p.

HULL, F. H. Recurrent selection for specific combining ability in corn. **Journal of the American Society of Agronomy**, Washington, v. 37, n. 2, p. 134-145, 1945.

ISHII, T.; XU, Y.; MCCOUCH, S. R. Nuclear- and chloroplast-microsatellite variation in A-genome species of rice. **Genome**, Ottawa, v. 44, n. 4, p. 658-666, Aug. 2001.

JUKES, T. H.; CANTOR, C. R. Evolution in protein molecules. In: MUNRO, H. N. (Ed.). **Mammalian protein metabolism**. New York: Academic Press, 1969. p. 21-123.

KHUSH, G. S. Origin, dispersal, cultivation and variation of rice. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 35, n. 1/2, p. 25-34, Sept. 1997.

MESSEGUER, J.; FOGHER, C.; GUIDERDONI, E.; MARFÀ, V.; CATALÀ, M. M.; BALDI, G.; MELÈ, E. Field assessments of gene flow from transgenic to cultivated rice (*Oryza sativa* L.) using a herbicide resistance gene as tracer marker. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 103, n. 8, p. 1151-1159, Dec. 2001.

NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION. **GenBank overview**. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Genbank/index.html> > . Acesso em 10 dez. 2004.

PANAUD, O.; CHEN, X.; MCCOUCH, S. R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*Oryza sativa* L.). **Molecular and General Genetics**, New York, v. 252, n. 5, p. 597-607, Oct. 1996.

PRASAD, M.; VARSHNEY, R. K.; ROY, J. K.; BALYAN, H. S.; GUPTA, P. K. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 3/4, p. 584-592, Feb. 2000.

PRESCIUTTINI, S.; TONI, C.; TEMPESTINI, E.; VERDIANI, S.; CASARINO, L.; SPINETTI, I.; DE STEFANO, F.; DOMENICI, R.; BAILEY-WILSON, J. E. Inferring relationships between pairs of individuals from locus heterozygosities. **BMC Genetics**, v. 3, n. 23, Dec. 2002.

RAFALSKI, J. A.; VOGEL, J. M.; MORGANTE, M.; POWELL, W.; ANDRE, C.; TINGEY, S. V. Generating and using DNA markers in plants. In: BIRREN, B.; LAI, E. (Ed.). **Analysis of non-mammalian genomes: a practical guide**. New York: Academic Press, 1996. p. 75-134.

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

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

ROBINSON, J. P.; HARRIS, S. A. Amplified fragment length polymorphisms and microsatellites: a phylogenetic perspective. In: WHICH DNA marker for which purpose? : final compendia of the research project. Grosshansdorf: Institut für Forstgenetik und Forstpflanzenzüchtung, Universität Göttingen, 1999. Chapter 12. Disponível em: < <http://webdoc.sub.gwdg.de/ebook/y/1999/whichmarker/m12/Chap12.htm> > .

SINGH, R. J.; IKEHASHI, H. Monogenic male-sterility in rice: induction, identification and inheritance. **Crop Science**, Madison, v. 21, n. 2, p. 286-289, Mar/Apr. 1981.

STRUSS, D.; PLIESKE, J. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 97, n. 132, p. 308-315, Jul. 1998.

TANKSLEY, S. D.; MCCOUCH, S. R. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. **Science**, Washington, v. 277, n. 5329, p. 1063-1066, Aug. 1997.

TEMNYKH, S.; PARK, W. D.; AYRES, N.; CARTINHO, S.; HAUCK, N.; LIPOVICH, L.; CHO, Y. G.; ISHII, T.; MCCOUCH, S. R. Mapping and genome organization of microsatellite sequences in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 100, n. 5, p. 697-712, Mar. 2000.

XIAO, J.; LI, J.; GRANDILLO, S.; AHN, S. N.; YUAN, L.; TANKSLEY, S. D. MCCOUCH, S. R. Identification of trait-improving quantitative trait loci alleles from a wild rice relative, *Oryza rufipogon*. **Genetics**, Maryland, v. 150, n. 2, p. 899-909, Oct. 1998.

