

Caracterização morfológica e molecular dos acessos do banco de germoplasma de arroz da Epagri

Juliana Vieira Raimondi¹, Rubens Marschalek² e Rubens Onofre Nodari³

Resumo – O objetivo deste trabalho foi caracterizar morfológica e molecularmente os acessos de arroz do banco de germoplasma da Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (Epagri) por meio de 30 descritores morfológicos e 111 marcadores AFLP. A caracterização morfológica indicou que há ampla diversidade genética entre os acessos, e muitas características agronomicamente interessantes foram identificadas para utilização no melhoramento genético desse cereal. A análise de agrupamento da caracterização morfológica revelou maior divergência entre os grandes grupos, enquanto a caracterização molecular foi muito eficiente na detecção da variabilidade entre os acessos. A análise com marcadores moleculares mostrou 40% de variabilidade genética entre os acessos. Também foi evidenciado o estreitamento da base genética dos cultivares recomendados para o sul do Brasil. No entanto, algumas linhagens e o cultivar SCS114 Andosan têm ampla divergência genética na comparação com os demais cultivares. A organização do banco de germoplasma e a riqueza de informações a respeito da diversidade nele contida serão importantes para facilitar e aumentar o uso dos acessos do banco de germoplasma no melhoramento genético de arroz e no seu intercâmbio.

Termos para indexação: Descritores morfológicos, AFLP, variabilidade genética.

Morphological and molecular characterization of Epagri's rice germoplasm bank in Santa Catarina State, Brazil

ABSTRACT – The objective of this work was to characterize by molecular and morphological procedures the rice entries of the germplasm bank put out by Santa Catarina State Agricultural Research and Rural Extension Agency-Epagri, with 30 morphological descriptors and 111 AFLP markers. The morphological characterization showed that the entries have wide genetic divergence, and many interesting features have been identified for use in the genetic improvement of the cereal. The grouping analysis of the morphological characterization showed more divergence in the separation of the big groups than AFLP, but, the AFLP was very efficient in detecting variability between the entries. The molecular analysis showed 40% of variability among entries. Also evident was the narrowing of the genetics of rice cultivars put out for the Southern Region of Brazil. However, the analysis pointed out that Santa Catarina's lines and the cultivar SCS 114 Andosan have wide genetic divergence to the other cultivars. The organization of the germplasm bank and the wealth of information about the diversity contained in it will be important to facilitate and increase the use of the entries in the rice breeding and germplasm exchange.

Index terms: morphological descriptors, AFLP, genetic variability.

Introdução

O arroz ocupa posição de destaque mundial, tanto do ponto de vista econômico como do social, entre as culturas anuais. No Brasil, o estado do Rio Grande do Sul possui a maior produção nacional e é destaque em produtividade juntamente com o estado de Santa Catarina. Este último tem produtividade média de 7t.ha⁻¹, podendo chegar a 14t.ha⁻¹ nos municípios de Agrônoma e Pouso Redondo (Anuário..., 2013;

Marschalek et al., 2008). Esse resultado é, em parte, consequência do trabalho de pesquisa, principalmente na área de melhoramento genético, que inclui o desenvolvimento de cultivares de arroz do tipo moderno de alta produtividade. Cultivares modernos foram cultivados a partir da década de 1960, e são aqueles mais adaptados ao sistema irrigado, de porte baixo, alto potencial em perfilhamento, folhas largas e eretas, raízes em maior número e mais finas, ciclo longo, panículas longas e grãos

longos e finos. Já os tradicionais são mais adaptados ao sistema de sequeiro e caracterizam-se por apresentar ciclo vegetativo menor, pouca capacidade de perfilhamento, raízes longas e espessas, panículas longas, resistentes ao *degrane*, grãos longos e espessos, folhas e glumas glabras, as quais foram cultivadas até a década de 1960.

Em Santa Catarina esse trabalho é prioritariamente desenvolvido pela Epagri na Estação Experimental de Itajaí (EEI), a qual já lançou 20 cultivares de

Recebido em 2/10/2013. Aceito para publicação em 12/12/2013.

¹ Bióloga, Dra., Universidade Federal de Santa Catarina, Rod. Admar Gonzaga, 1346, 88034-001 Florianópolis, SC, e-mail: jojuvieira@terra.com.br.

² Engenheiro-agrônomo, Dr., Epagri/Estação Experimental de Itajaí, C.P. 277, 88301-970 Itajaí, SC, e-mail: rubensm@epagri.sc.gov.br.

³ Engenheiro-agrônomo, Dr., Universidade Federal de Santa Catarina, e-mail: nodari@cca.ufsc.br.

arroz irrigado, todos pertencentes à subespécie *indica*.

Atualmente o estreitamento da base genética dos cultivares de arroz tem sido fator de preocupação entre os melhoristas, tendo em vista o aumento da vulnerabilidade e a redução de possibilidades de ganhos adicionais em trabalhos de seleção. No caso do Brasil, apenas dez ancestrais contribuíram com 68% do conjunto gênico das variedades cultivadas (Rangel et al., 1996). Isso poderia ser atenuado mediante a ampliação do uso da variabilidade genética disponível nos bancos de germoplasma, que, no entanto, é pouco utilizada devido à falta de caracterização, organização e informatização das informações sobre os acessos.

O objetivo do presente trabalho foi de caracterizar morfológica e molecularmente os acessos de arroz irrigado da Epagri/EEI visando promover a utilização mais eficiente desses acessos no melhoramento genético.

Material e métodos

O trabalho foi realizado na Epagri/Estação Experimental de Itajaí (EEI), Santa Catarina. O total de 130 acessos do banco de germoplasma de arroz da Epagri/EEI (Tabela 1) foi caracterizado morfológica e molecularmente. A caracterização morfológica foi realizada em dois anos agrícolas, 2004/05 e 2005/06, a fim de melhor aferir e validar os caracteres quantitativos. Foram utilizados 43 descritores da Bioversity International (2005).

Os acessos foram caracterizados desde o início do perfilhamento até a pós-colheita. Para os caracteres quantitativos adotou-se a média de dez plantas (Bioversity International, 2005). A análise estatística para caracterização morfológica incluiu a distância euclidiana, interpretada como a distância entre dois indivíduos cujas posições são determinadas em relação a suas coordenadas, definidas com referência a um grupo de eixos cartesianos com ângulos retos entre si (Meyer et al., 2004).

A caracterização molecular foi ▶

Tabela 1. Acessos de arroz do banco de germoplasma da Epagri/EEI

Cód.	Acesso	Subespécie	Cód.	Acesso	Subespécie
1	Empasc 100	<i>Indica</i>	66	IAC 4440	<i>Indica</i>
2	Empasc 101	<i>Indica</i>	67	Akitakomachi	<i>Japonica</i>
3	Empasc 102	<i>Indica</i>	68	Wells	<i>Indica</i>
4	Empasc 104	<i>Indica</i>	69	CR 4102	<i>Indica</i>
5	Empasc 105	<i>Indica</i>	70	Metica 1	<i>Indica</i>
6	Epagri 106	<i>Indica</i>	71	Mochigome	<i>Japonica</i>
7	Epagri 107	<i>Indica</i>	72	Bluebelle	<i>Indica</i>
8	Epagri 108	<i>Indica</i>	73	Brazos	<i>Indica</i>
9	Epagri 109	<i>Indica</i>	74	BR Irga 409	<i>Indica</i>
10	SCSBRS 111	<i>Indica</i>	75	BR Irga 414	<i>Indica</i>
11	SCS 112	<i>Indica</i>	76	BR Irga 415	<i>Indica</i>
12	SCSBRS TioTaka	<i>Indica</i>	77	EEA 406	<i>Japonica</i>
13	Labelle	<i>Indica</i>	78	Batatais	<i>Indica</i>
14	Koshihikari	<i>Japonica</i>	79	Batatais longo	<i>Indica</i>
15	Dawn	<i>Indica</i>	80	Pratão precoce	<i>Indica</i>
16	Fanny	<i>Japonica</i>	81	XP 2101	<i>Indica</i>
17	Cica 8	<i>Indica</i>	82	WC 277	<i>Indica</i>
18	Cica 9	<i>Indica</i>	83	WC 299	<i>Indica</i>
19	Multiespigueta	<i>Indica</i>	84	WC 168	<i>Indica</i>
20	Passarinho	<i>Japonica</i>	85	WC 54	<i>Indica</i>
21	Fedearroz 50	<i>Indica</i>	86	WC 47	<i>Indica</i>
22	NP 125	<i>Indica</i>	87	EEI 2	<i>Indica</i>
23	Raminad	<i>Indica</i>	88	EEI 9	<i>Indica</i>
24	Orizica Llianos 5	<i>Indica</i>	89	EEI 10	<i>Indica</i>
25	RCN-B-93-176	<i>Indica</i>	90	EEI 20	<i>Indica</i>
26	RCN-B-93-193	<i>Indica</i>	91	EEI 23	<i>Indica</i>
27	L 230	<i>Indica</i>	92	EEI 27	<i>Indica</i>
28	Fortuna 1	<i>Japonica</i>	93	EEI 29	<i>Indica</i>
29	Yerua PA	<i>Indica</i>	94	Bico torto	<i>Japonica</i>
30	Yerua 11	<i>Indica</i>	95	Qualitá	<i>Indica</i>
31	Sheathblight	<i>Indica</i>	96	Piracema	<i>Indica</i>
32	Línea 2 mejorada	<i>Indica</i>	97	Newrex	<i>Indica</i>
33	Selecta mejorada	<i>Indica</i>	98	BRA 031013	<i>Indica</i>
34	CIAT 134	<i>Indica</i>	99	BRA 031007	<i>Indica</i>
35	CIAT 43	<i>Indica</i>	100	BRA 031112	<i>Indica</i>
36	Kaybonett	<i>Indica</i>	101	BRA 031024	<i>Indica</i>
37	P899	<i>Indica</i>	102	BRA 031117	<i>Indica</i>
38	PR 134	<i>Indica</i>	103	BRA 031151	<i>Indica</i>
39	PR 142	<i>Indica</i>	104	CNA 7559	<i>Indica</i>
40	PR 122	<i>Indica</i>	105	CNA 8513	<i>Indica</i>
41	PR 315	<i>Indica</i>	106	P75-1	<i>Indica</i>
42	PR 206	<i>Indica</i>	107	EEI 3406	<i>Indica</i>
43	PR 320	<i>Indica</i>	108	EEI 3414	<i>Indica</i>
44	Roxo	<i>Japonica</i>	109	EEI 15	<i>Indica</i>
45	AS 3510	<i>Indica</i>	110	EEI 31	<i>Indica</i>
46	PCW 16	<i>Indica</i>	111	EEI 51	<i>Indica</i>
47	Lacassine	<i>Indica</i>	112	EEI 3413	<i>Indica</i>
48	Cypress	<i>Indica</i>	113	IR 665	<i>Indica</i>
49	Sabbore	<i>Indica</i>	114	SCS114 Andosan	<i>Indica</i>
50	CNA 7830	<i>Indica</i>	115	Tebonnet	<i>Indica</i>
51	Taim	<i>Indica</i>	116	Earl	<i>Japonica</i>
52	Arrank	<i>Indica</i>	117	Zenith	<i>Japonica</i>
53	BRS Firmeza	<i>Indica</i>	118	Isolinea 1	<i>Indica</i>
54	Bojuru	<i>Japonica</i>	119	Isolinea 8	<i>Indica</i>
55	BRS Pelota	<i>Indica</i>	120	Isolinea 10	<i>Indica</i>
56	Irga 408	<i>Indica</i>	121	Isolinea 21	<i>Indica</i>
57	Irga 416	<i>Indica</i>	122	EEI 3407	<i>Indica</i>
58	Irga 417	<i>Indica</i>	123	EEI 49	<i>Indica</i>
59	Irga 419	<i>Indica</i>	124	E Chee goo	<i>Indica</i>
60	Irga 422 CL	<i>Indica</i>	125	Chong Kuc	<i>Japonica</i>
61	VF 99134	<i>Indica</i>	126	SC 389	<i>Indica</i>
62	IAC 25	<i>Japonica</i>	127	SC 254	<i>Indica</i>
63	IAC 101	<i>Indica</i>	128	SC 355	<i>Indica</i>
64	IAC 47	<i>Indica</i>	129	SC 385	<i>Indica</i>
65	IAC 435	<i>Indica</i>	130	SC 213	<i>Indica</i>

realizada no laboratório de Biologia Molecular da Epagri/EEI em 2007. A extração de DNA foi realizada conforme protocolo de Doyle & Doyle (1987) com 0,15g de folhas jovens, sendo as amostras de DNA diluídas para concentração padrão de 25ng.µl⁻¹.

O marcador molecular utilizado foi o Amplified Fragment Length Polymorphism. As reações de restrição, ligação, pré-amplificação e amplificação seletiva seguiram o protocolo de Vos et al. (1995) e Marschalek (2003). O DNA foi digerido com as enzimas *EcoRI* e *MseI* (10U.µl⁻¹ cada uma) em solução tampão 10%.

Foram testadas sete combinações de iniciadores AFLP, mas apenas quatro foram consideradas na análise por apresentarem maior polimorfismo (E40 x M62, E13 x M60, E40 x M59 e E40 x M48). A separação dos produtos de PCR foi através de eletroforese vertical (Cuba Sequi-Gen GT System, 38 x 50cm, Bio-Rad) com gel de poliácridamida 6% (38cm x 0,4mm). A eletroforese teve duração de 3 horas sob as seguintes condições eletroforéticas: 400mA, 100W e 2900V. A visualização dos fragmentos foi pelo método de revelação com nitrato de prata.

Os resultados foram organizados na forma de uma matriz binária e submetidos à análise de agrupamento a partir da estimativa de valores do coeficiente de Jaccard, sendo o grau de similaridade genética entre grupos de acessos gerado pelo algoritmo UPGMA (Agrupamento por médias não ponderadas) (Weir, 1990), o que resultou em um dendrograma. O grau de ajuste da matriz de similaridade foi medido pelo coeficiente de correlação cofenética. O programa utilizado para análise foi NTSYS, versão 2.0 (Rohlf, 1992). Foram consideradas na análise molecular apenas bandas fortes e consistentes.

Resultados e discussão

Entre os 43 descritores morfológicos utilizados, 30 foram inseridos nesta análise, sendo 21 de caráter qualitativo e 9 quantitativos. O banco de germoplasma de arroz da Epagri/EEI possui variabilidade genética com muitas características promissoras

a ser exploradas no melhoramento genético. Um exemplo é o comprimento da panícula; quatro acessos foram destaque com panículas longas (Orizyca Llianos 5 [33,4cm], Línea 2 mejorada [34,3cm], SCS BRS 111 [44,3cm] e SCS114 Andosan [45cm]). No tipo de panícula foram destaque aqueles que tiveram panícula tipo compacta e multiespigueta, as quais se caracterizam por apresentar 250 a 380 grãos por panícula, ao passo que uma panícula normal tem em torno de 150 grãos.

Alguns acessos tiveram colmo bastante espesso, com destaque aos acessos EEI 2 (1,3cm), BRS Firmeza (1cm) e Roxo (1cm). Essa característica é importante para a resistência ao acamamento. Perfilamento excelente ou bom foi apresentado por 50% dos acessos, o que é muito interessante por ser uma das características mais desejadas em cultivares modernos.

O comprimento e a largura das folhas são caracteres quantitativos e importantes, pois folhas largas e compridas, desde que eretas, permitem o aumento da taxa fotossintética, e isso pode resultar em maior capacidade produtiva. Os acessos analisados mostraram grande variação, entre 21 e 41cm de comprimento da folha, com poucos acessos de folha muito longa (5%). Na largura das folhas, a grande maioria apresentou entre 1,1 e 2cm. Os acessos PR 122 (2,1cm), XP 2101 (2cm), BRS Firmeza (2cm) e Roxo (2cm) tiveram as folhas de maior largura, e EEI 49 teve folhas muito estreitas (0,5cm). O comprimento da lígula foi expressivo entre 0,5 e 1cm, sendo os acessos PR 320 e EEI 23 facilmente identificados pelo comprimento exagerado da lígula, 2 e 1,8cm respectivamente.

Descritores do grão e outros, como vigor, ciclo, arquitetura e altura, foram os que mais indicaram a existência de divergência. Houve um número considerável de acessos com ausência de gesso, o que é uma característica muito importante para o melhoramento genético no que se refere à qualidade industrial dos grãos, o que caracteriza grãos de arroz translúcidos almejados pelo mercado. Na análise de agrupamento, representada na Figura 1, observa-se que os acessos de arroz irrigado formaram dois

grandes grupos (A e B), com 42% de similaridade entre si. O grupo A subdivide-se em dois subgrupos, A₁ e A₂, com 60% de similaridade entre si (= 40% de dissimilaridade). O subgrupo A₁ é formado por 29 acessos; 28 da subespécie *indica* e um da subespécie *japonica*. O subgrupo A₂ é formado por 30 acessos; 23 da subespécie *indica* e 7 da subespécie *japonica*. O subgrupo A₂ é mais divergente do que o subgrupo A₁.

O grupo B também se subdivide em dois grupos menores (B₁ e B₂), com 50% de similaridade entre si. No subgrupo B₁ estão inclusos 50 acessos subespécie *indica*, entre os quais se encontram 12 cultivares e duas linhagens desenvolvidos pela Epagri/EEI. O subgrupo B₂ inclui 14 acessos da subespécie *indica* e 7 da subespécie *japônica*.

Os cultivares recomendados para o Rio Grande do Sul, desenvolvidos pelo Instituto Rio-Grandense do Arroz (Irga) e pela Embrapa, agruparam-se com 7 cultivares no subgrupo B e 4 no grupo A, sendo 1 no subgrupo A₁ e 3 no subgrupo A₂. A extração de DNA foi eficiente tanto na qualidade como na quantidade de DNA para todos os acessos de arroz. A quantidade de DNA variou de 80 a 535ng.µl⁻¹ por amostra.

As quatro combinações de iniciadores utilizadas na presente análise geraram 111 marcadores polimórficos (91%), e o tamanho dos fragmentos variou de 188pb até 2.885pb (Tabela 2). Verifica-se na Figura 2 a formação de dois grandes grupos com 60% de similaridade (= 40% de divergência) entre si (A, B), e o grau de ajuste da similaridade genética, através do coeficiente de correlação cofenética, foi de 70%. O grupo A divide-se em dois subgrupos, com 69% de similaridade entre si (A₁, A₂). O grupo B também se divide em dois grandes subgrupos, com 63% de similaridade entre si (B₁, B₂). O subgrupo B₂ ainda se divide em B_{2,1} e B_{2,2}, com 68% de similaridade. O subgrupo B_{2,2} é formado basicamente por cultivares e linhagens da Epagri. Não se incluem nesse subgrupo as linhagens SC 213, SC 385, SC 389, SC 354, SC 355 e o cultivar SCS114 Andosan, já que as três primeiras linhagens agruparam-se isoladamente no subgrupo A₁, e as demais no subgrupo A₂. Onze acessos

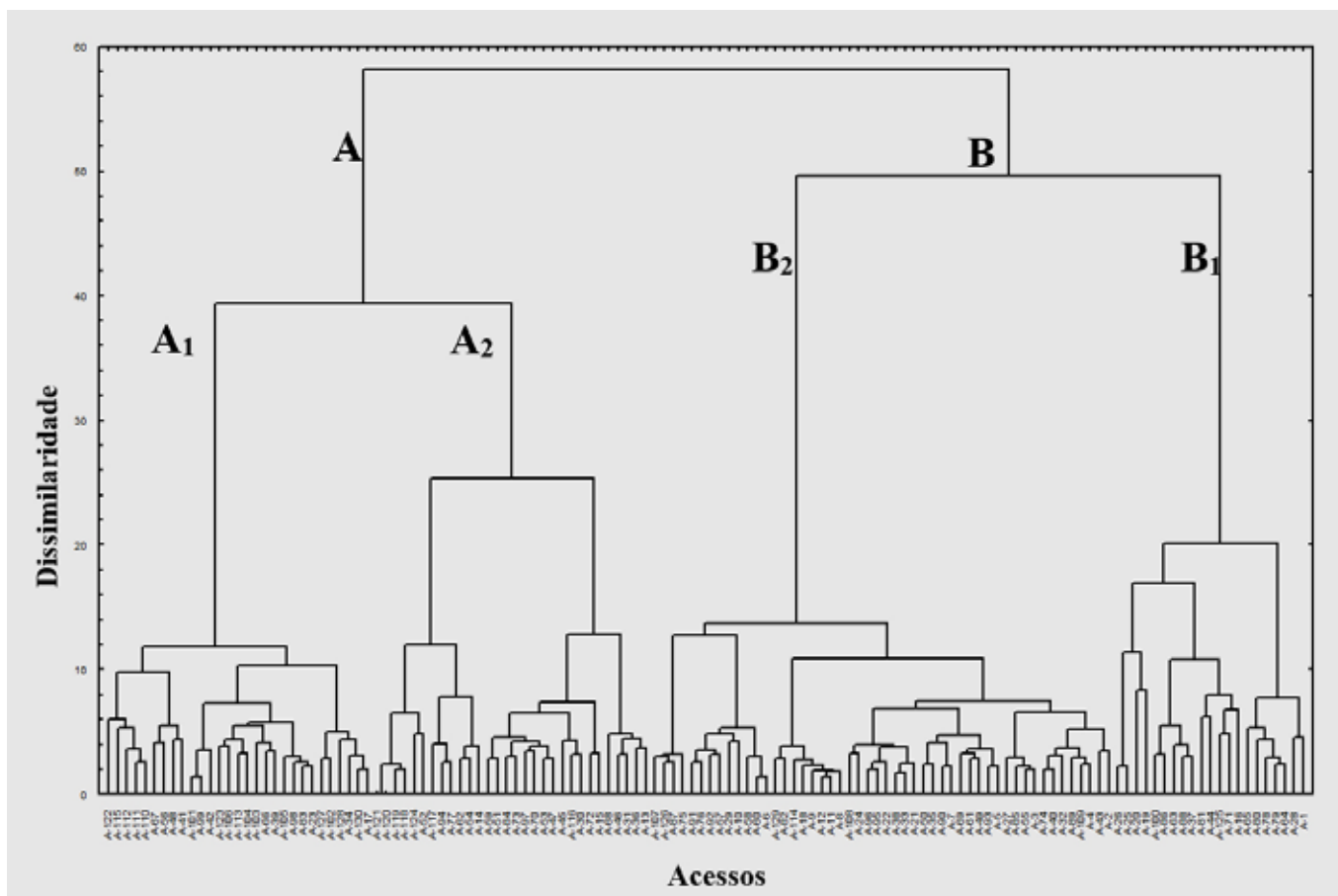


Figura 1. Dendrograma de dissimilaridade genética obtido com uso de 30 descritores morfológicos em 130 acessos do banco de germoplasma de arroz irrigado da Epagri/EEI. Coeficiente de correlação cofenética = 90%

da subespécie *japonica* se inseriram no grupo B, e apenas três acessos no grupo A. Os cultivares Epagri 108 e Epagri 109 foram muito semelhantes na análise morfológica e idênticos na análise com AFLP. Isso já era esperado, visto que os dois cultivares são irmãos provenientes do Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) e oriundas do cruzamento CT 7347//IR21015-72-3-3-3-1. Também foram idênticos molecularmente os acessos 25 e 26 (RCN-B-93-176 e RCN-B-93-193 respectivamente) e, morfológicamente, mostraram-se com 98% de similaridade.

Morfológicamente, os acessos Isolinea 10 e Isolinea 21 mostraram ser idênticos, mas a análise com AFLP revelou que eles possuem aproximadamente 15% de divergência entre si, comprovando não serem duplicatas. O cultivar Empasc 100, da Epagri, é do tipo tradicional, enquanto os demais cultivares dessa instituição são do tipo moderno. Isso explica a

Tabela 2. Número de fragmentos amplificados e polimórficos e a porcentagem de polimorfismo para quatro combinações de iniciadores AFLP em acessos de arroz da Epagri/EEI

Combinação de iniciador	Número de fragmentos		Polimorfismo (%)
	Amplificados	Polimórficos	
E40 x M62	27	22	81
E13 x M60	47	44	93
E40 x M59	23	22	96
E40 x M48	25	23	92
Total	122	111	-
Média	30,5	27,75	91

divergência genética encontrada nesse cultivar por descritores morfológicos e por AFLP.

Não houve separação dos acessos *indica* e *japonica* por nenhuma das técnicas utilizadas. No entanto, pelos marcadores AFLP é possível observar que 79% dos *japonica* agruparam-se no grupo B, sendo dez acessos no subgrupo B₂ e um acesso no subgrupo B₁. No trabalho de Zhu et al. (1998) também não foi possível separar os

acessos *indica* dos *japonica* por AFLP; eles apenas conseguiram isso com o uso de isoenzimas.

Nas análises de agrupamento, com dados morfológicos e de AFLP, foi evidenciado o estreitamento da base genética dos cultivares desenvolvidos para o sul do Brasil. Tcacenco et al. (2005) estudaram os cultivares da Epagri através de AFLP e também indicaram tal estreitamento. A base genética estreita dos cultivares observada neste trabalho ▶

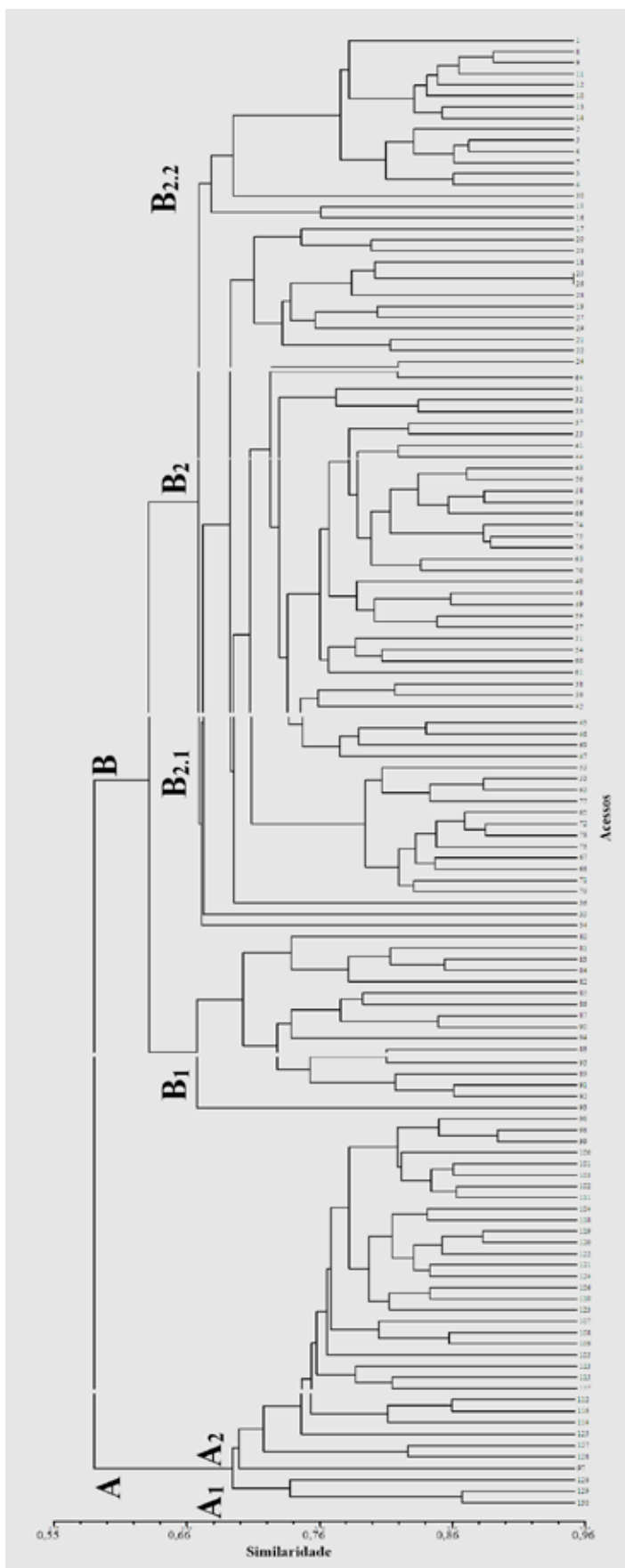


Figura 2. Dendrograma de similaridade genética obtido a partir dos produtos de amplificação de 111 marcadores moleculares AFLP de 130 acessos de arroz irrigado da Epagri-EEI.

possivelmente se deve ao fato de que tiveram origem de genótipos introduzidos de poucos locais. O agravante nesse caso é que parte significativa do germoplasma do CIAT, do Irga, da Epagri, da Embrapa e do IAC é proveniente do IRRI. Malone et al. (2006), estudando a variabilidade genética de cultivares de arroz de diferentes origens com AFLP, também concluíram que os cultivares do Brasil têm estreita base genética.

Com esses resultados é possível afirmar que os programas de melhoramento genético de arroz do sul do Brasil devem utilizar maior número de cruzamentos divergentes assim como a mutação induzida, visto que as linhagens SC 213, SC 385, SC 389, SC 355, SC 354 e o cultivar SCS114 Andosan, da Epagri/EEI, mostraram ampla variabilidade genética em relação aos demais acessos. Essas duas técnicas têm sido bastante utilizadas na Epagri/EEI desde 1999. Morfologicamente, o cultivar SCS114 Andosan mostrou-se muito similar aos demais cultivares catarinenses, no entanto, molecularmente se mostrou divergente, sendo semelhante às linhagens SC 355, SC 354, SC 213, SC 385 e SC 389. A divergência das linhagens é um resultado importante, pois estão em fase de lançamento com grande potencial de produtividade.

No intuito de ampliar a base genética do arroz cultivado através de hibridação controlada, os resultados deste trabalho apresentam genitores divergentes e agronomicamente interessantes de ser utilizados no melhoramento genético de arroz. Como apoio, a caracterização molecular mostrou ser excelente ferramenta de auxílio ao melhoramento genético de arroz, permitindo a caracterização dos acessos que poderão ser selecionados como genitores. Segundo Solano et al. (2013), os marcadores moleculares permitem avaliar maior número de linhagens, auxiliando na redução do tempo para o desenvolvimento de cultivares.

O presente estudo contribuiu para a conclusão dos objetivos propostos e também serviu como incentivo ao contínuo trabalho de conservação, caracterização e utilização dos acessos de arroz irrigado do banco de germoplasma no melhoramento genético. Além disso, enfatiza a necessidade de ampliar-se a diversidade do banco de germoplasma da Epagri/EEI.

Conclusões

Os cultivares desenvolvidos para o sul do Brasil possuem base genética estreita.

O cultivar SCS114 Andosan e as linhagens SC 213, SC 385, SC 354, SC 355, SC 389, desenvolvidos pela Epagri/EEI, foram bastante divergentes quando comparados aos demais cultivares Epagri, sendo úteis na ampliação da base genética em cultivo.

A organização do banco de germoplasma e a riqueza de informações a respeito da diversidade

nele contida serão importantes para facilitar e aumentar o uso dos acessos no melhoramento genético de arroz e no intercâmbio de germoplasma.

Referências

1. ANUÁRIO BRASILEIRO DO ARROZ 2013. Santa Cruz do Sul: Gazeta Santa Cruz, 2013. 136 p.
2. BIOVERSITY INTERNATIONAL. Disponível em: <http://www.ipgri.cgiar.org/bioversity_redirect.html>. Acesso em: jan. 2005.
3. DOYLE, J.J.; DOYLE, J.L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin**, v.19, p.11-15, 1987.
4. MALONE, G.; ZIMMER, P.D.; KOPP, M.M. et al. Assessment of the genetic variability among rice cultivars revealed by amplified fragment length polymorphism (AFLP). **Revista Brasileira Agrocências**, v.12, p.21-25, 2006.
5. MARSCHALEK, R.; VIEIRA, J.; ISHIY, T. et al. Melhoramento genético de arroz irrigado em Santa Catarina. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.21, n.3, p.54-57, 2008.
6. MARSCHALEK, R. **Marker assisted selection for the development of intervarietal substitution lines in rapeseed (*Brassica napus* L.) and the estimation of QTL effects for glufosinate content**. Gottingen: Cuvillier verlag, Alemanha, 2003. 122p.
7. MEYER, A. da S.; GARCIA, A.A.F.; SOUZA, A.P. de et al. Comparison of similarity coefficients used for cluster analysis with dominant markers in maize (*Zea mays* L.). **Genetics and Molecular Biology**, v.27, p.83-91, 2004.
8. 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, v.31, n.5, p.349-347, 1996.
9. ROHLF, F.J. **Program numerical taxonomy and multivariate analysis system**. Version 1.70. New York, 1992.
10. SOLANO, E.C.; CRUZ, M.; QUINTERO, C. Estrategia de selección asistida por marcadores moleculares para tolerancia al frio en floración del arroz (*Oryza sativa* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 8., 2013, Santa Maria, RS. **Anais...** Santa Maria, RS: UFSM, 2013. p.173-176.
11. TCACENCO, F.A.; FERREIRA, A.; MATTOS, L.A.T de et al. Análise da diversidade genética de genótipos e acessos de arroz irrigado do Banco de Germoplasma da Epagri por AFLP. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.18, n.3, p.81-85, nov. 2005.
12. WEIR, B.S. **Genetic Data Analysis**. Sunderland: Sinauer Associates, 1990. 230p.
13. VIEIRA, J.; MARSCHALEK, R.; ISHIY, T. et al. A hibridação no melhoramento genético do arroz irrigado em Santa Catarina. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.20, n.2, p.43-6, 2007.
14. VOS, P.; HOGERS, R.; BLEEKER, M. et al. AFLP – a new technique for DNA-fingerprinting. **Nucleic Acids Research**, v.23, p.4407-4414, 1995.
15. ZHU, J.; GALE, M.D.; QUARRIE, S. AFLP markers for the study of rice biodiversity. **Theor Appl Genetic**, v.96, p.602-611, 1998. ■

**VOCÊ
SABIA**

que a Epagri/GMC publicou até hoje mais de
6 mil documentos técnico-científicos e
que 89,7% dessa produção permite
acesso digital ao documento na íntegra?

