

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS POLIMÓRFICOS
DE ARROZ VERMELHO DO RIO GRANDE DO SUL
POR DESCRITORES MORFOLÓGICOS E
MICROSSATÉLITES**

TESE DE DOUTORADO

Sylvio Henrique Bidel Dornelles

Santa Maria, RS, Brasil

2009

**CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS POLIMÓRFICOS DE
ARROZ VERMELHO DO RIO GRANDE DO SUL POR
DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MICROSSATÉLITES**

por

Sylvio Henrique Bidel Dornelles

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Área de Concentração em Produção Vegetal, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Doutor em Agronomia.**

Orientador: Prof. Danton Camacho Garcia

Santa Maria, RS, Brasil

2009

D713c Dornelles, Sylvio Henrique Bidel
Caracterização de acessos polimórficos de arroz
vermelho do Rio Grande do sul por descritores
morfológicos e microssatélites / por Sylvio Henrique Bidel
Dornelles. – 2009.
102 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Danton Camacho Garcia
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de
Pós-Graduação em Agronomia, RS, 2009.

1. Agronomia 2. Produção vegetal 3. Arroz vermelho
4. Descritores morfológicos 5. Polimorfismo 6. Rio
Grande do Sul I. Garcia, Danton Camacho II. Título.

CDU 633.18

Ficha catalográfica elaborada por
Maristela Eckhardt - CRB-10/737

© 2009

Todos os direitos autorais reservados a Sylvio Henrique Bidel Dornelles. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita com autorização por escrito do autor.

Endereço: Sala 3260, prédio 16, Bairro Camobi, Campus/UFSM – CCNE – Dep. Biologia - Santa Maria, RS, 97105-900

Fone (0xx)55 32208339; Fax (0xx) 32208628; End. Eletr: sylvio@smail.ufsm.br

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências Rurais
Programa de Pós-Graduação Agronomia**

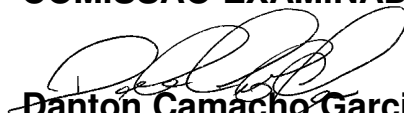
A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Tese de Doutorado

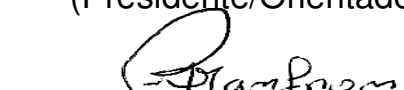
**CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS POLIMÓRFICOS DE ARROZ
VERMELHO DO RIO GRANDE DO SUL POR DESCRITORES
MORFOLÓGICOS E MICROSSATÉLITES**

elaborada por
Sylvio Henrique Bidel Dornelles


como requisito parcial para obtenção do grau de
Doutor em Agronomia

COMISSÃO EXAMINADORA:


Danton Camacho Garcia, Dr.
(Presidente/Orientador-UFSM)


Paulo Augusto Manfron, Dr. (UFSM)


Elgion Lucio Loreto, Dr. (UFSM)


Donizetti Aparecido Fornarolli, Dr. (Fac. Integ. Campo Mourão)


Adilson Jauer, Dr. (Syngenta)

Santa Maria, 27 de fevereiro de 2009.

DEDICATÓRIA

A meus pais Sylvio (in memorian) e Therezinha. À minha esposa Valéria e minha filha Clarissa. Pilares fundamentais da minha caminhada até aqui, por todo apoio que sempre deram para a concretização de meus sonhos, dedico este trabalho.

Ao colega Eng. Agr. MSc. Danie Martini Sanchotene pela amizade, exemplo de dedicação e pelo apoio fundamental nos momentos difíceis, dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

À UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA QUE ME POSSIBILITOU A EXECUÇÃO DESTES TRABALHOS.

AO PROFESSOR DANTON CAMACHO GARCIA PELA CONFIANÇA E APOIO, PELAS PALAVRAS SEMPRE POSITIVAS E INCENTIVADORAS, O MEU PROFUNDO RESPEITO E ADMIRAÇÃO COMO PROFISSIONAL E COMO AMIGO.

AO PROFESSOR PAULO AUGUSTO MANFRON, A QUEM DEVO MINHA CARREIRA DOCENTE NA UFSM, PELA CONFIANÇA E AMIZADE E POR TODOS OS MOMENTOS EM QUE ACREDITOU EM MIM, ESTENDENDO A MÃO SEM INTERESSES, POR ACREDITAR NO SER HUMANO. MINHA GRATIDÃO.

AOS PROFESSORES ELGION LUCIO LORETO E LENIRA SEPEL, PELA ORIENTAÇÃO VALIOSA E APOIO LOGÍSTICO PARA A REALIZAÇÃO DOS TRABALHOS LABORATORIAIS DE EXTRAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA. MEU RESPEITO E ADMIRAÇÃO PELA DEDICAÇÃO À CIÊNCIA E AO ENSINO DA BIOLOGIA MOLECULAR.

AO TÉCNICO AGRÍCOLA E BIÓLOGO LUIS FELIPE VALTER DE OLIVEIRA, PELA EXECUÇÃO DO ENSAIO DE EXTRAÇÃO DE DNA E ESTUDO DAS POPULAÇÕES ATRAVÉS DOS MICROSSATÉLITES E PELO APOIO NA REDAÇÃO DO TEXTO DO CAPÍTULO 2 O MEU MAIS PROFUNDO AGRADECIMENTO E A CERTEZA DE QUE SE TORNARÁ UM GRANDE CIENTISTA E PENSADOR NO CAMPO DA BIOLOGIA MOLECULAR VEGETAL. VOCÊ FOI FUNDAMENTAL NESTE TRABALHO. AGRADEÇO TAMBÉM A TODA EQUIPE DO LABDROS PELO APOIO.

À PROFESSORA THAÍS SCOTTI DO CANTO-DOROW, UMA INCENTIVADORA, BRILHANTE PROFISSIONAL NO CAMPO DA BOTÂNICA, QUE ME ORIENTOU EMPRESTANDO SEUS CONHECIMENTOS PARA A REALIZAÇÃO DOS ESTUDOS MORFOLÓGICOS.

AOS PROFESSORES SIDNEI LOPES E LIA REJANE REINIGER CO-ORIENTADORES, PELO APOIO EM PARTE DESTES TRABALHOS E NAS ANÁLISES DOS RESULTADOS. À JANETE PELO APOIO NA ANÁLISE ESTATÍSTICA.

AOS MEUS COLEGAS DO SETOR DE BOTÂNICA, JUMAIDA ROSITO, FERNANDO NICOLOSO, JUÇARA PARANHOS E JOÃO MARCELO UM ESPECIAL AGRADECIMENTO POR ASSUMIREM MEUS ENCARGOS DIDÁTICOS PARA QUE PUDESSE ME DEDICAR INTEGRALMENTE À REALIZAÇÃO DESTES CURSOS.

AO PROFESSOR LUIS ANTONIO ÁVILA PELOS CONSELHOS E PELAS VALIOSAS INFORMAÇÕES QUE ME DEU, BASEADO EM SUA EXPERIÊNCIA COM A CULTURA DO ARROZ E COM O SISTEMA CLEARFIELD, AGRADEÇO MUITO.

AOS FUNCIONÁRIOS E COLEGAS DO DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA QUE SEMPRE ME APOIARAM E AJUDARAM DE ALGUMA FORMA NA REALIZAÇÃO DESTES TRABALHOS.

AOS FUNCIONÁRIOS DO LABORATÓRIO DE SEMENTES DO DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA E AO PROFESSOR NILSON LEMOS DE MENEZES QUE CONCEDERAM ESPAÇOS NO LABORATÓRIO PARA O DESENVOLVIMENTO DESTES TRABALHOS.

AOS MEUS ALUNOS RODRIGO GONÇALVES, OLAVO GABRIEL E ESTEVÃO MILANEZE PELAS AVALIAÇÕES MORFOLÓGICAS EM CAMPO E CONTROLE DA CASA-DE-VEGETAÇÃO UM AGRADECIMENTO ESPECIAL.,

AO RAFAEL MEZZOMO E AO ANDRÉ CERVI, APOIADORES NA COLETA DOS BIÓTIPOS EM CAMPO.

AO EDILON SOARES, ANTONIO MARCOS E ANDRÉIA SANTOS, QUE APOIARAM NOS BASTIDORES, CONTROLANDO A CASA-DE-VEGETAÇÃO. FORAM FUNDAMENTAIS PARA A CONSECUÇÃO DOS OBJETIVOS DESTA TRABALHO.

À DIREÇÃO DA FEPAGRO – ESTAÇÃO EXPERIMENTAL DE SANTA MARIA, NAS PESSOAS DE ROBERTO TREVISAN E NELSON ABIATTI, PELA CEDÊNCIA DO ESPAÇO DA CASA DE VEGETAÇÃO CLIMATIZADA, SEM A QUAL NÃO CONSEGUIRIA REALIZAR ESTE TRABALHO.

AO SR. ARNALDO ANTONIO MICHELLE (IN MEMORIAN) FUNCIONÁRIO DA FEPAGRO, QUE MESMO CONVALESCENDO, AJUDOU NA MONTAGEM DA CASA-DE-VEGETAÇÃO DANDO UM EXEMPLO DE FORÇA E CORAGEM AOS MAIS JOVENS. ONDE ESTIVER, OFEREÇO ESTE TRABALHO QUE SEM O SEU SACRIFICIO JAMAIS TERIA SIDO REALIZADO.

À ENGENHEIRA AGRÔNOMA ANA PAULA ESTEVO E ÀS ACADÊMICAS DE AGRONOMIA NADIESCA BRUM, STEFANIE MACIEL E KARINE BARKERT E AO TÉCNICO DE CAMPO DIEGO FERREIRA PELO APOIO NA EXECUÇÃO DO ENSAIO QUE RESULTOU NO CAPITULO 3 DESTA TESE. AO FABIANO CASSOL E AO DOUGLAS WEBER PELO APOIO EM CAMPO, AGRADEÇO.

AO ENG. AGRÔNOMO RAFAEL PIVOTTO BORTOLOTTO, PELO APOIO NAS COLETAS DOS ACESSOS.

À EQUIPE COMERCIAL E DE PESQUISA DA IHARABRAS, ENGENHEIROS AGRÔNOMOS FERNANDO LUIS PERINI, DARCI AZAMBUJA, ALESSANDRO GAZZINELLI, GUSTAVO SANTOS, JOSÉ MARIO BARBOSA , ANTONIO MARTINS, RODRIGO CASTANHO E AO PAULO SCHNEIDER, CONHECEDORES DA CULTURA DO ARROZ, POR TEREM SIDO FUNDAMENTAIS PARA A COLETA DOS BIÓTIPOS POLIMÓRFICOS EM TODA A ÁREA ARROZEIRA DO RIO GRANDE DO SUL. À DIRETORIA COMERCIAL E GERÊNCIA DE PESQUISA DA IHARABRAS PELO APOIO, OFEREÇO ESTA TESE.

AOS COLEGAS DR. DONIZETTI APARECIDO FORNAROLLI E DR. ADILSON JAUER, PELA DISPONIBILIDADE EM CONTRIBUIR PARA A MINHA FORMAÇÃO, SOU GRATO.

AOS MEUS FAMILIARES QUE SEMPRE ESTIVERAM DO MEU LADO. OBRIGADO.

RESUMO

Tese de Doutorado
Programa de Pós-Graduação Agronomia
Universidade Federal de Santa Maria

CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS POLIMÓRFICOS DE ARROZ VERMELHO DO RIO GRANDE DO SUL POR DESCRITORES MORFOLÓGICOS E MICROSSATÉLITES

AUTOR: SYLVIO HENRIQUE BIDEL DORNELLES

ORIENTADOR: DANTON CAMACHO GARCIA

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 27 de fevereiro de 2009.

Este trabalho tem por objetivo avaliar as características genóticas e fenotípicas de diferentes tipos morfológicos de arroz vermelho que ocorrem em áreas de produção de arroz irrigado do Estado do Rio Grande do Sul, por descritores morfológicos e marcadores moleculares, e sua resposta à utilização de tecnologia química. Neste sentido, foram realizados dois experimentos em casa de vegetação e um estudo em laboratório com seqüenciamento de DNA dos biótipos. Os resultados permitiram concluir que os biótipos de arroz vermelho encontram-se hibridados com cultivares modernas como IRGA 417, inclusive com ocorrência de introgressão de genes de resistência de cultivares Clearfield, por fluxo gênico, para biótipos de arroz vermelho como o acesso Catuçaba 1 que apresentou características fenotípicas dos cultivares IRGA 422 CL e Puitá CL INTA e presença do gene acetolactato sintase (ALS) mutado para a resistência ao herbicida. Observou-se também a ocorrência de biótipos tolerantes (Rio Pardo 1) ou resistentes (Catuçaba 1) ao herbicida imazetapir, o que torna urgente a utilização de diferentes estratégias de controle do arroz vermelho no Estado do Rio Grande do Sul.

Palavras-chave: arroz vermelho; fluxo gênico; polimorfismo; Clearfield

ABSTRACT

Ph.D Thesis
Agronomy Post-Graduation Program
Federal University of Santa Maria

CHARACTERIZATION OF RED RICE POLYMORPHIC ACCESSES IN THE STATE OF RIO GRANDE DO SUL – BRAZIL BY MORPHOLOGIC DESCRIPTORS AND MICROSATELITTE MARKER

AUTHOR: SYLVIO HENRIQUE BIDEL DORNELLES

ADVISER: DANTON CAMACHO GARCIA

Santa Maria, february 27th, 2009.

This work has for objective to evaluate the phenotypic and genotypic characteristics of different morphologic types of red rice that happen in areas of production of irrigated rice of the State of Rio Grande do Sul - Brazil, for morphologic descriptors and molecular markers, and his response to the use of chemical technology. For this reason, it were conducted two greenhouse experiments and one laboratory study with DNA sequencing of the biotypes. The results allowed to conclude that the biotypes of red rice is hybridized with IRGA 417 cultivar, besides with occurrence of introgression of resistance genes of cultivated Clearfield rice, by gene flow, for biotypes of red rice as the access Catuçaba 1 that presented phenotypic or genotypic characteristics of the cultivated rice IRGA 422 CL and Puitá CL INTA and presence of the mutated acetolactate synthase (ALS) gene for the resistance to the herbicide. It was also observed the occurrence of tolerant biotypes (Rio Pardo 1) or resistant (Catuçaba 1) to the herbicide imazetapir, what turns urgent the use of different strategies of control of the red rice in the State of Rio Grande do Sul - Brazil.

Key words: red rice; gene flow; polymorphism; Clearfield

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Lista de 51 descritores morfológicos utilizados na avaliação dos acessos de arroz vermelho e respectivas escalas (estados). UFSM, 2008.....	25
Tabela 2 – Comprimento do colmo (CC), número de perfilhos por planta (NPE), número de panículas por planta (NPA), número de sementes por panícula (NS), massa de mil sementes (MMS), produção de sementes por planta (PROD), relação comprimento/largura da espiguetta (C/L) e índice de degrane (DEG). UFSM, 2008.....	26
Tabela 3 – Cor das glumas (CG), ausência/presença de arista, cor do primeiro nó (CNO), cor do primeiro entre-nó (CPE), cor da folha bandeira (CFB), pilosidade da folha bandeira (PFB), arquitetura de planta (APL) e duração, em dias, do período vegetativo (PV), reprodutivo (PR), maturação (MAT) e ciclo completo de biótipos de arroz vermelho e cultivares comerciais. UFSM, 2008	28
Tabela 4 – Valores de Fst entre os grupos analisados do gênero <i>Oryza</i> – UFSM, 2008.....	54
Tabela 5 – Porcentagem de alelos de diferentes grupos de arroz cultivar e arroz vermelho, presentes nas populações de arroz vermelho estudadas. Santa Maria, UFSM, 2008.....	56
Tabela 6 – Listagem de biótipos utilizados na construção do gráfico de inferência filogenética e respectivos números. USFM, 2008.....	58
Tabela 7 – Dose de Imazetapir em L. ha ⁻¹ que causa 50% de fitotoxicidade (FITO ₅₀), 50% de redução de massa verde da planta (MV ₅₀) e 50% de redução de massa seca da planta (MS ₅₀) em função dos biótipos e cultivares comerciais avaliados. Santa Maria, RS, 2008.....	70
Tabela 8. Análise estatística – ANOVA - para as interações entre biótipos e cultivares (fator A X fator A = 8 níveis X 8 níveis). Santa Maria, 2008.....	70
Tabela 9. Valores de fator de resistência (FR) para FITO ₅₀ e MS ₅₀ entre os biótipos Catuçaba 1 e Rio Pardo 1 em relação aos biótipos suscetíveis e cultivares suscetíveis e resistentes. UFSM, Santa Maria, 2008.....	71

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Fenograma de similaridade morfológica entre biótipos de arroz vermelho e cultivares comerciais, baseado em descritores morfológicos (qualitativos e quantitativos), utilizando-se o método de agrupamento UPGMA e o coeficiente de Manhattan – UFSM, 2008..... 31
- Figura 2. Inferência filogenética dos acessos de arroz vermelho cultivares *índica* e *japônica* e da espécie selvagem *Oryza glumaepatula* utilizando o método Neighbor Joining – UFSM, 2008.....57
- Figura 3. Estrutura populacional dos cultivares de arroz irrigado, dos biótipos de arroz vermelho do grupo *índica* e *japonica* e da espécie selvagem *Oryza glumaepatula* UFSM, 2008.....59
- Figura 4. Alinhamento do gene ALS das cultivares IRGA 422 CL, IRGA 417, os acessos de arroz vermelho CTÇB1 (Catuçaba 1), GUA2 (Guaíba 2) e SAP1 (Santo Antônio da Patrulha 1). Também foi utilizado o acesso AY885673, representando o genoma de *Oryza sativa* do grupo *índica* – UFSM 2008.....60
- Figura 5. Proteína predita a partir da sequência do gene ALS, onde o aminoácido Glutamina é trocado por Glicina, sendo este o responsável pela resistência ao herbicida do grupo químico das imidazolinonas.....61
- Figura 6. Percentual de redução de massa verde dos biótipos Rio Pardo 1 (RP1), Pelotas 3 (PE3) e Santa Maria 5 (SM5) em relação aos cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e IRGA 417, em função de doses crescentes do herbicida imazetapir – UFSM, 2008.....76
- Figura 7. Percentual de redução de massa verde dos biótipos Manoel Viana 2 (MV2) e Catuçaba 1 (CAT1) em relação aos cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA, e IRGA 417, em função de doses crescentes do herbicida imazetapir – UFSM, 2008..... 77
- Figura 8. Percentual de redução de massa seca dos biótipos Rio Pardo 1 (RP1), Pelotas 3 (PE3) e Santa Maria 5 (SM5) em relação aos cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e IRGA 417, em função de doses crescentes do herbicida imazetapir – UFSM, 2008.....78
- Figura 9. Percentual de redução de massa seca dos biótipos Manoel Viana 2 (MV2) e Catuçaba 1 (CAT1) em relação aos cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e IRGA 417 em função de doses crescentes do herbicida imazetapir – UFSM, 2008.....79

Figura 10. Detalhe dos sintomas visuais de fitointoxicação e redução da altura de plantas em resposta a doses crescentes do herbicida imazetapir (0; 312; 625; 1250; 2500 e 5000 mL.ha⁻¹) para os cultivares IRGA 422 CL e Puitá CL INTA e para os biótipos de arroz vermelho Catuçaba 1 e Rio Pardo 1 – UFSM, 2008.....80

Figura 11. Detalhe dos sintomas visuais de fitointoxicação e redução da altura de plantas em resposta a doses crescentes do herbicida imazetapir (0; 312; 625; 1250; 2500 e 5000 mL.ha⁻¹) para o cultivar IRGA 417 e para os biótipos de arroz vermelho Manoel Viana 2, Santa Maria 5 e Pelotas 3 – UFSM, 2008.....81

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	12
CAPÍTULO I	14
Resumo.....	14
Abstract.....	15
Introdução.....	16
Material e Métodos.....	20
Resultados e Discussão.....	26
Conclusão.....	43
CAPÍTULO II	44
Resumo.....	44
Abstract.....	44
Introdução.....	45
Material e Métodos.....	48
Resultados e Discussão.....	50
Conclusão.....	56
CAPÍTULO III	62
Resumo.....	62
Abstract.....	63
Introdução.....	64
Material e Métodos.....	66
Resultados e Discussão.....	70
Conclusões.....	75
CONCLUSÃO GERAL	82
REFERÊNCIAS	83

INTRODUÇÃO

O arroz é o principal alimento para parcela significativa da população brasileira. Seu consumo representa 18% das calorias e 12% das proteínas da dieta básica (PEREIRA et al., 1990). O Rio Grande do Sul é o principal produtor de arroz irrigado. Cerca de 60% do total de arroz produzido no Brasil é colhido de lavouras do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina (CONAB, 2005). Nos últimos anos, a produtividade da cultura tem evoluído, em função de novas tecnologias que vem sendo empregadas pelos rizicultores, como a tecnologia denominada comercialmente de Clearfield® que utiliza cultivar resistente ou tolerante a determinadas doses de um herbicida imidazolinona, que são letais para o arroz vermelho e seletivas para o arroz comercial (CROUGHAN, 1996). Porém, ainda não foi atingido o patamar de produtividade superior a dez toneladas por hectare, considerado ideal para a cultura, em função de diversos fatores a serem melhorados como manejo de água, manejo da fertilidade, qualidade de sementes, sistematização das várzeas e manejo fitossanitário (HATSCHBACH et al., 2004).

Um dos fatores que tem interferência no processo de produção de arroz é a presença de plantas daninhas nas várzeas arrozeiras, principalmente as gramíneas, que tem um impacto negativo na produtividade em função da competição destas com a cultura por luz e nutrientes. Entre as gramíneas que causam danos à cultura do arroz, destaca-se o arroz vermelho, citado como o principal entrave à elevação do rendimento de arroz em 80% dos municípios produtores do Rio Grande do Sul (MARCHEZAN, 1994).

As plantas de arroz vermelho apresentam demanda semelhante, em momentos próximos ou iguais, pelos mesmos recursos disponibilizados para o arroz cultivado (DELATORRE, 1999). Há similaridade entre as espécies cultivadas e daninhas em relação a características fisiológicas e bioquímicas, o que impossibilita o controle (KWON *et al.*, 1991), quando são cultivadas variedades convencionais, não tolerantes a herbicidas fitotóxicos para o arroz vermelho. Esta similaridade torna a competição exercida pela espécie daninha mais severa (FLECK, 1980), em função da maior adaptação e rusticidade da planta daninha no ambiente quando comparada à espécie cultivada.

O arroz vermelho é um dos problemas a ser considerado em áreas de produção de arroz, em função da capacidade de cruzamento com o arroz cultivado, a taxas variáveis e dependentes de fatores relacionados ao ambiente onde estão convivendo as plantas de interesse comercial e as daninhas. Deve-se também às características dos diferentes tipos morfológicos de arroz vermelho encontrados nestes ambientes (KUK et al., 2008). Estes cruzamentos são observados em função da alta taxa de polimorfismo que tem sido verificada nos biótipos de arroz vermelho que são encontrados nas diferentes regiões rizícolas do Estado do Rio Grande do Sul (AVOZANI et al., 1998; MENEZES et al., 2002; SCHWANKE et al., 2008).

Atualmente, os diferentes sistemas de manejo, utilizados na cultura do arroz, tem como objetivo principal o controle do arroz vermelho (ÁVILA et al. 2005). Em função disso, nos próximos anos, toda a cadeia produtiva de arroz sofrerá alterações significativas, em função de novos paradigmas (novas tecnologias) que envolvem cultivares de arroz com tolerância a herbicidas, como no sistema Clearfield que utiliza cultivares mutadas para a enzima Aceto Lactato Sintase (ALS-tolerante/resistente) (ÁVILA et al., 2005) ou no uso de arroz transgênico como no sistema Liberty Link (NOLDIN et al., 2004).

Neste contexto, é necessário conhecer as características morfológicas, e moleculares dos biótipos de arroz vermelho ocorrentes nos diferentes ambientes de produção de arroz, bem como a sua estruturação populacional e sua resposta à ação antrópica, especialmente pela utilização de tecnologias de controle químico, para que de posse deste conhecimento, estratégias de manejo mais eficientes e seguras possam ser desenvolvidas pelos órgãos de pesquisa e de extensão rural com vistas à sustentabilidade do sistema de produção do arroz.

CAPITULO I
CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS POLIMÓRFICOS DE ARROZ
VERMELHO DO RIO GRANDE DO SUL POR DESCRITORES
MORFOLÓGICOS

CHARACTERIZATION OF RED RICE POLYMORPHIC ACCESSES IN
THE STATE OF RIO GRANDE DO SUL – BRAZIL BY
MORPHOLOGICAL DESCRIPTORS

Resumo

O arroz vermelho (*Oryza sativa* L.) é a planta daninha mais importante nos cultivos de arroz do Estado do Rio Grande do Sul. O elevado polimorfismo verificado entre os biótipos de arroz vermelho deve-se ao tempo de utilização das áreas com a cultura comercial e aos cruzamentos naturais que ocorrem dentro da população infestante, principalmente entre o arroz vermelho e os cultivares modernos de porte mais baixo, gerando tipos morfológicos com variabilidade em relação às principais características fenotípicas e difíceis de serem identificados visualmente durante o período de cultivo do arroz comercial. Neste contexto, o estudo das características morfológicas, que possam auxiliar na identificação dos diferentes biótipos de arroz vermelho e a análise dos agrupamentos segundo descritores morfológicos qualitativos e quantitativos, constituem-se em ferramenta importante para a formulação de estratégias de manejo desta planta daninha visando a sustentabilidade do sistema de produção de arroz. Para a consecução deste objetivo, foram avaliados 84 acessos de arroz vermelho oriundos de diferentes regiões do Estado do Rio Grande do Sul, cultivados em casa de vegetação, utilizando-se o método de agrupamento dos pares não ponderados usando médias aritméticas UPGMA (Unweighted Pair-Group Method of Arithmetic Average) e o coeficiente de Manhattan. Procedeu-se a uma análise multivariada a partir de uma matriz básica de dados estandarizada (MBDS) através do software NTSYS-PC (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) versão 2.02 segundo metodologia de ROHLF (1997). A análise do fenograma permitiu observar onze grupos distintos formados segundo características de similaridade morfológica. Verificou-se maior percentual de biótipos do tipo índica em comparação a biótipos do tipo japônica. Porém, ocorrem biótipos com características intermediárias entre os

dois tipos predominantes. Foi possível observar a ocorrência de biótipos com fenótipo similar a cultivares modernos como IRGA 417, IRGA 422 CL e Puitá CL INTA.

Palavras-chave: acessos polimórficos; arroz vermelho; índica; japônica.

Abstract

Red rice (*Oryza sativa* L.) is the more important weed in the cultivated rice of the State of Rio Grande do Sul - Brazil. The high polynorphism verified among the biotypes of red rice is due at the time of use of the areas with the commercial culture and to the natural crossings they happen inside of the infestant population mainly among the red rice and modern cultivars of lower load, generating morphologic types with variability in relation to the phenotypic characteristics and difficult of be identified visually during the period of cultivation of the commercial rice. In this context, the study of the morphologic characteristics, that they can aid in the identification of the different biotypes of red rice and the analysis of the groupings according to qualitative and quantitative morphologic descriptors, they are constituted in important tool for the formulation of strategies of handling of this weed seeking the sustainability of the system of production of rice. For the objective, they were used 84 accessions of red rice originating from of different areas of the State of Rio Grande do Sul, cultivated in greenhouse, being used the method of UPGMA (Unweighted Pair-Group Method of Arithmetic Average) and the coefficient of Manhattan. she proceeded to the multivariate analysis starting from a data basic standartized main (MBDS) through the software NTSYS-PC (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) version 2.02 second methodology of ROHLF (1997). the analysis of the phenogram allowed to observe eleven different groups formed according to characteristics of morphologic similarity. It was verified larger percentile of biotypes of the *Índica* type in comparison with biotypes of the type japonica. However, they happen biotypes with intermediate characteristics among the two predominant types. It was possible to observe the occurrence of the biotypes with similar phenotype at modern cultivars IRGA 417, IRGA 422 CL and Puitá CL INTA.

Key words: polymorphic accessions; red Rice; japonica; *índica*.

Introdução

O arroz vermelho (*Oryza sativa* L.) é a principal planta daninha ocorrente em áreas de produção comercial de arroz irrigado no Rio Grande do Sul, por ser da mesma espécie do arroz cultivado. Em função de características como rusticidade e adaptabilidade ao meio ambiente (PESKE et. al., 1997), exercer forte competição pelos mesmos recursos disponibilizados para o arroz (DELATORRE, 1999), possuir elevado índice de degrane e dormência das sementes (SCHWANKE et al., 2008) e pela freqüente ocorrência de cruzamento natural com o arroz cultivado, gerando um tipo morfológico mais baixo e mais precoce de arroz vermelho (NOLDIN et. al., 1999), torna-se difícil a identificação e eliminação desta planta daninha das áreas de cultivo.

O arroz vermelho se diferencia do cultivado por apresentar no pericarpo (parede da cariopse) um maior teor de tanino (OGAWA, 1992) e antocianina (PANTONE & BAKER, 1991) que lhe conferem a cor avermelhada, característica dominante controlada pelo gene Rd no cromossoma 1 (GRIST, 1978)

Segundo ARAGÓN (1969) existem vários tipos de arroz vermelho, que são diferenciados apenas pela cor das glumelas e do pericarpo das cariopses, podendo ou não apresentar aristas. Para HUEY & FORD (1978) o arroz vermelho é classificado em dois tipos: o de casca clara (palhete) e o de casca escura (preta).

Para NOLDIN et. al., (1999) e VAUGHAN et. al., (2001) as populações de arroz vermelho são bastante variáveis com relação às características das plantas, bem como às dos grãos e são agrupadas de acordo com as características das sementes: os biótipos que apresentam sementes com glumas de cor palhete, marrom ou amarelada são chamados de arroz vermelho, enquanto biótipos cujas sementes apresentam glumas de cor escura ou preta são conhecidos como arroz preto. Já MARCHEZAN (1994) considera arroz vermelho aquele que apresenta cariopse com pericarpo de coloração vermelha, tenha ele glumelas de coloração palhete ou pretas.

A população de arroz vermelho ocorrente nas lavouras de arroz cultivado, normalmente é constituída de biótipos que apresentam variabilidade em características morfológicas (MENEZES et. al., 2002). As principais características do arroz vermelho tradicional (típico) são: ciclo mais longo e plantas de porte mais alto do que os cultivares modernos, colmos finos, folhas de coloração verde-claro e

nutantes, alto vigor e alta capacidade de perfilhamento. As cariopses apresentam pericarpo de cor avermelhada, glumelas com coloração variada, pilosidade e aderência de páleas e lemas ao pericarpo, presença ou não de aristas, degrane precoce das sementes e dormência variável (DIARRA et al., 1985; NOLDIN et al., 1999; DELATORRE, 1999).

Algumas características presentes no arroz vermelho são geneticamente dominantes sobre seus alelos no arroz de pericarpo branco, com isso, podem ser transferidas por cruzamentos, propiciando assim o surgimento de novos tipos de arroz vermelho com porte médio-baixo, o que o torna um tipo mais daninho ainda CRAIGMILES (1978), pela dificuldade de controle pelos métodos de rouging (decepa e arranquio manual das plantas de arroz vermelho) e da barra química (barra conduzida por dois agricultores molhando as folhas superiores das plantas mais altas com herbicida total como o glifosato, sem atingir a cultura).

Esta dificuldade, atualmente verificada, decorre da inexistência de diferença de estatura entre plantas do arroz cultivado e do arroz vermelho oriundo desses cruzamentos com cultivares de porte mais baixo (MARCHEZAN, 1994).

A frequência de cruzamentos naturais entre o arroz vermelho e o arroz cultivado é variável e depende da coincidência de florescimento entre os mesmos, da distância entre as plantas e das condições climatológicas no momento da polinização como temperatura do ar, velocidade e posição dos ventos e umidade relativa do ar (YOSHIDA, 1981).

Estudos desenvolvidos por LANGEVIN et al., (1990), permitiram verificar que a frequência de cruzamentos variou de 1% a 52% entre arroz vermelho e os cultivares comerciais, sendo que ela foi tanto maior quanto maior era a semelhança entre o ciclo do arroz vermelho e a cultivar que foi utilizada.

A polinização cruzada (taxa de alogamia) em arroz é inferior a 1% (YOSHIDA, 1981). Neste sentido, MAGALHÃES & ANDRES (2001) trabalhando com arroz geneticamente modificado como doador, e com arroz vermelho e arroz convencional como receptores, encontraram taxa de cruzamento de 0,04% a 0,1% entre os genótipos de arroz testados.

Na Colômbia GONZALEZ et al., (2001) utilizando marcadores moleculares microssatélites, encontraram uma taxa de 2% de fecundação cruzada entre arroz comercial convencional e arroz transgênico. Na mesma pesquisa, verificaram que 25% dos indivíduos analisados segundo seu DNA, encontram-se no mesmo grupo

de cultivares modernas de arroz comercial, indicando que o intensivo cultivo das áreas onde os diferentes biótipos de arroz vermelho desenvolveram-se junto com a cultivar, propiciou a transferência de características do arroz vermelho para a cultivar e vice-versa.

No mesmo sentido, pesquisas realizadas no Uruguai por FEDERICI et al., (2001) utilizando marcadores moleculares AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms) demonstraram que pelo menos 6 cultivares comerciais utilizadas pelos rizicultores daquele país encontram-se hibridadas com o arroz vermelho, manifestando características genóticas deste, quando analisado o seu DNA.

Na Argentina, MARIN (1998) verificou a ocorrência de arroz vermelho varietal oriundo de cruzamento do arroz vermelho típico (porte alto, folhas verde-claras e nutantes e espiguetas aristadas) com o arroz cultivar Fortuna, que é uma cultivar tradicional com altura de planta semelhante ao arroz vermelho típico.

No Brasil, AVOZANI et al., (1998) estudando 36 biótipos de arroz vermelho através de marcadores moleculares RAPD (Random amplified polymorphic DNA), encontraram, através do cálculo de distâncias genéticas e construção de um dendograma de similaridade genética, seis grupos distintos com relação aos descritores morfológicos e moleculares, quando comparados a cultivares comerciais. A análise dos clusters permitiu observar que o grupo 1 foi formado apenas por biótipos de arroz vermelho com predominância de cariopse aristada (arroz vermelho tradicional). O grupo 3 foi formado pelas cultivares comerciais BR-IRGA 409, BR-IRGA 410, BR-IRGA 412 e BR-IRGA 416 e pelo biótipo número 3 que apresenta cariopses semelhantes aos cultivares modernos comparativos. O grupo 5 foi formado apenas por cultivares tradicionais EEA 404, EEA 406, Bico Torto e Formosa não ocorrendo similaridade destes com os biótipos de arroz vermelho avaliadas.

Caracterizando biótipos de arroz vermelho de lavouras de arroz irrigado do Estado do Rio Grande do Sul, (MENEZES et al., 2002) verificaram diferenças significativas em características quantitativas como número de espiguetas por panícula, altura de planta, esterilidade de espiguetas, relação comprimento/largura da cariopse, comprimento de aristas, massa de 1000 grãos, posição e comprimento da panícula entre arroz vermelho e arroz cultivado e entre os diferentes biótipos de arroz vermelho analisados. Isto demonstra que há polimorfismo entre os diferentes biótipos de arroz vermelho ocorrentes nas áreas de arroz do Rio Grande do Sul.

Estudando biótipos de arroz vermelho coletados no Estado, SCHWANKE et al., (2008) verificaram que alguns biótipos apresentaram porte mais alto que os cultivares comerciais avaliados. Também verificaram que apesar do porte mais alto, alguns biótipos como os acessos catalogados como RG1 (oriundo do município de Rio Grande – RS) e SAP1 (oriundo do município de Santo Antônio da Patrulha – RS) apresentaram características de porte de planta e cariopses de arroz cultivado, como a cultivar IRGA 417, utilizado como cultivar padrão no ensaio.

Diversos trabalhos caracterizando morfológicamente o arroz vermelho foram publicados na literatura nacional e internacional. Entretanto, grande parte utiliza poucos descritores morfológicos nas avaliações, especialmente descritores quantitativos como altura da planta, percentual de degrane, largura e comprimento da cariopse, número de afilhos, número de espiguetas e de grãos por panícula, esterilidade das espiguetas e comprimento da panícula, e poucos descritores morfológicos qualitativos como coloração da folha, cor das glumelas, presença ou ausência de arista, ou fenológicos como intervalo de tempo para o florescimento, ciclo biológico do biótipo, entre outros (DIARRA et. al., 1985; MENEZES et. al., 2002; SCHWANKE et. al., 2008).

Apesar de utilizados isoladamente como critério de classificação, o uso de caracteres morfológicos é limitado, pois não reflete totalmente a relação genética entre os materiais em razão da interação com o meio, da epistasia e da falta de conhecimento sobre o controle genético que atua nestes caracteres (SMITH & SMITH, 1989).

Caracteres como altura de plantas, cor das folhas, presença de arista, comprimento e espessura do colmo, comprimento da panícula, peso de mil grãos são caracteres muito influenciados pelo ambiente, pela fertilidade do solo, densidade de plantas competindo entre si e uso de nitrogênio (FONSECA et. al., 2001). podendo prejudicar as avaliações morfológicas. Já pilosidade de folhas, colorações da aurícula e da lígula, coloração dos entre-nós, antocianina nos nós dos colmos, das glumelas e glumas estéreis, bem como a pilosidade das glumelas, cor e forma da cariopse são pouco influenciadas pelo ambiente. Também tem influência pelo ambiente o tipo e exercício da panícula (emissão da panícula pela bainha com ponta acima do colar), principalmente por ocorrência de estiagens que interferem em características fenológicas, em função de atraso no ciclo biológico da planta.

Neste sentido, MALONE et. al., (2007) indicam a utilização conjunta de descritores morfológicos associados a marcadores moleculares microssatélites, para ampliar estas avaliações, uma vez que ao contrário de descritores morfológicos, os marcadores moleculares de DNA podem revelar diferenças entre os genótipos mais eficientemente, por caracterizarem diretamente o genoma do organismo, não sendo influenciados pelo ambiente.

O catálogo de descritores para arroz do IRRI (1980), a metodologia de caracterização de cultivares utilizada por FONSECA et. al., (2001), os estudos botânicos com arroz vermelho da Itália executados por BOCCHI et al., (2002) e estudos botânicos com arroz vermelho da Costa Rica executados por ZAMORA et. al., (2003) indicam para estudos com arroz vermelho, além de descritores morfológicos quantitativos, a utilização de descritores qualitativos baseados em propriedades como a cor, entre eles: coloração dos nós, presença de pigmento antocianino na bainha, coloração do primeiro entre-nó do colmo, coloração do ápulo na floração e na maturação, coloração da lígula e da aurícula, coloração da pálea e da lema e coloração da ráquis, ampliando o número de descritores morfológicos para buscar melhor avaliação dos biótipos, agrupando-os mais adequadamente segundo características de similaridade morfológica (fenotípicos)

A importância da realização de estudos que permitam avaliar os tipos morfológicos de arroz vermelho ocorrentes no Brasil deve-se à necessidade de conhecer as características genotípicas (MENEZES et. al., 2002) e fenotípicas dos diferentes biótipos para traçar estratégias mais eficientes de convivência com esta planta daninha, em programas de manejo na cultura do arroz irrigado.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi caracterizar acessos polimórficos de arroz vermelho do Rio Grande do Sul, através de descritores morfológicos qualitativos e quantitativos, agrupando-os por similaridade fenotípica.

Material e métodos

Definição dos pontos de amostragem

As coletas dos acessos de arroz vermelho foram realizadas em áreas de produção de arroz irrigado na safra de verão 2004/2005 (a partir de novembro de 2004), respeitando-se as diferentes condições de solo (arenoso, textura média e

argiloso) e relevo (terras baixas e área de coxilhas), abrangendo os diferentes sistemas de cultivo praticados na rizicultura gaúcha (pré-germinado, convencional, cultivo mínimo e plantio direto). As coletas foram realizadas em cinco regiões fisiográficas: Zona sul, Depressão Central, Fronteira Oeste, Campanha e Litoral.,

Um acesso corresponde a uma coleta representativa de uma população de uma espécie, identificada pelo respectivo número do coletor (CANTO-DOROW, 1993), depositado e conservado em herbário (exsicatas) e em câmara seca (sementes), abrangendo um indivíduo com características genotípicas e fenotípicas da população que representa.

Para estudo por Taxonomia Numérica, considerou-se cada acesso como uma unidade taxonômica operacional (OTU), num total de 82 acessos catalogados e utilizados nas avaliações morfológicas, de uma amostragem inicialmente coletada de 152 acessos. Os acessos coletados tiveram origem nos seguintes locais: Arroio Grande (AG1; AG2; AG3), Alegrete (ALE1; ALE2; ALE3; ALE4 e ALE5), Camaquã (CAM1; CAM2; CAM3;CAM4;CAM5 e CAM6), Candelária (CAND2), Cerro Branco (CB1), Capão da Porteira (CP2 e CP4), Capané (CPNE1 e CPNE2), Capivari do Sul (CPV1; CPV2 e CPV3), Cristal (CRI2), Catuçaba (CTÇB1), Dona Francisca (DF1; DF2 e DF4), Eldorado do Sul (ELD1; ELD3; ELD4 e ELD5), Faxinal do Soturno (FAX1; FAX2; FAX3;FAX4 e FAX5), Guaíba (GUA1; GUA2 e GUA3), Itaqui (ITA1; ITA2 e ITA4), Jaguarí (JGri1), Mostardas (MOST1 e MOST3), Mata (MT1 e MT2), Manoel Viana (MV1 e MV2), Osório (OSO1), Palmares do Sul (PALS1) Pelotas (PEL3), Pantão Grande (PNTG1), Paraíso do Sul (PS1 e PS5), Restinga Seca (REST2; REST3 e REST4), Rio Pardo (RP1), Rosário do Sul (RS2), Santo Antonio da Patrulha (SAP1 e SAP2), São Borja (SB2; SB5 e SB6), São Francisco de Assis (SF2 e SF4), São Gabriel (SG1 e SG2), Santa Maria (SM1; SM2; SM4 e SM5), São Pedro do Sul (SP2), São Vicente do Sul (SV2), Terra de Areia (TA1), Torres (TOR2), Uruguaiana (URU2 e URU3), Viamão (VIA1; VIA2 e VIA3).

Utilizou-se também os seguintes acessos: a) de uma cultivar moderna convencional IRGA 417 (oriunda de sementes reproduzidas pelo produtor a mais de 5 anos); b) de uma cultivar moderna convencional IRGA 417 F1 (semente básica oriunda do banco de germoplasma do Instituto Riograndense do Arroz); c) sementes de cultivares ALS-tolerante/resistente (IRGA 422 CL; Puitá CL INTA e SCS Epagri 115 CL); d) sementes de cultivares tradicionais do tipo patna Bluebelle (BBELLE) e

Lebonet (LBNET); e) sementes de cultivares tradicionais do tipo japônica como IAS 12-9 FORMOSA (FORM1); f) cultivar de origem colombiana CICA 9.

Para utilização como grupo externo (out group), representando os parentais selvagens, coletou-se em novembro de 2007, na Lagoa dos Índios da Reserva Raposa Serra do Sol em Roraima o acesso de arroz selvagem da espécie *Oryza glumaepatula* (OGLUM). Optou-se por utilizar esta espécie silvestre brasileira por ser a mais utilizada em programas de melhoramento de arroz da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, em função de ser autógama, diplóide, e possuir genoma semelhante ao da espécie cultivada *Oryza sativa* (MORAIS et al., 2006).

Os locais de coleta foram mapeados através do uso de GPS modelo Etrex, fixando-se no local um marco, para permitir localizá-los sempre que necessário para novas coletas e avaliações.

As amostras foram aleatoriamente coletadas em campo, em função dos seguintes descritores básicos: a) glumelas de coloração palhete, douradas, palhete com listas marrons ou pretas; b) presença ou ausência de aristas nas espiguetas; c) porte mais alto, mesmo porte ou mais baixo que os cultivares modernos ou tradicionais; d) cariopses do tipo *índica*, japônicas ou intermediárias; e) panículas eretas, intermediárias ou nutantes; f) biótipos especiais baseados em histórico das áreas relatados pelos rizicultores.

Coleta de material para análise morfológica

Em cada local também foram coletadas exsicatas dos acessos encontrados nas áreas, procedendo-se à sua identificação com etiqueta fixada no colmo através de amarração com barbante. Nas etiquetas foram anotados o local de coleta (município, propriedade, nome do produtor) a posição geográfica obtida com equipamento GPS e o número da amostra que é precedido do nome do município onde a coleta foi realizada (ex. Pelotas 1, Pelotas 2, Pelotas 3....).

O material coletado foi acondicionado em jornal, prensado por alumínio corrugado, para secagem adequada e posterior herborização. Estas exsicatas compõe o acervo do Laboratório de Morfologia Vegetal, localizado na sala 3121 no prédio 16 da Universidade Federal de Santa Maria – Campus – Camobi.

Dos acessos coletados e identificados foi retirada uma panícula por planta, que foi acondicionada em saco de papel pardo poroso. As sementes oriundas das panículas coletadas foram beneficiadas, separadas das impurezas, sofreram pré-

secagem até umidade constante de 13% e foram armazenadas em câmara seca na Universidade Federal de Santa Maria no Departamento de Fitotecnia.

Em outubro de 2005, em casa de vegetação climatizada da Estação Experimental da FEPAGRO (Fundação Estadual de Pesquisa Agropecuária) localizada no distrito de Boca-do-Monte em Santa Maria/RS foram semeadas 10 sementes de arroz vermelho em potes para 10 quilos de solo, contendo substrato Plantmax, de forma que para cada acesso foram semeadas 4 repetições.

O arranjo experimental dentro da casa-de-vegetação foi em blocos ao acaso. Procedeu-se uma adubação de base de 200 kg/ha da fórmula 5-20-20, conforme análise realizada no substrato pelo Laboratório de Análise de Solos da Universidade Federal de Santa Maria.

Durante todo o período experimental manteve-se a climatização da casa-de-vegetação com temperatura entre 25 e 30 °C, adequada para o desenvolvimento e crescimento do arroz. O controle das condições ambientais foi feito automaticamente através de painel de controle eletrônico, de tal forma que todos os acessos fossem mantidos nas mesmas condições ambientais, para que pudessem expressar em igualdade de condições suas características fenotípicas sem interferência diferenciada do ambiente.

Para a consecução deste objetivo, os vasos foram trocados de lugar dentro do bloco a cada três dias, fazendo a rotação necessária, uma vez que dentro da casa-de-vegetação condições ambientais diferenciadas podem ser verificadas em alguns pontos mais externos.

O controle da irrigação foi realizado manualmente duas vezes ao dia durante todo período experimental (8 horas e 17 horas) mantendo-se lâmina de água constante de cinco centímetros.

Foram realizadas duas adubações de cobertura com uréia na dose de 60 kg de nitrogênio/ha, sendo a primeira imediatamente antes do início da irrigação e a segunda na DPF (diferenciação do primórdio floral) conforme preconizado pela pesquisa para arroz cultivado (SOSBAI, 2005).

Após a emergência das plântulas de arroz vermelho, foi realizada a retirada de algumas plantas dos potes (raleio) de forma que em cada pote permaneceram apenas cinco plantas de arroz vermelho. Antes da exerceção da panícula do biótipo ou cultivar mais precoce, procedeu-se a aplicação de fungicida Opera (epoxiconazole+pyraclostrobin) na dose de 0,75 L/ha, para controle de doenças foliares e dos grãos.

A exerceção da panícula corresponde à emissão da panícula na bainha com a ponta acima do colar (estádio reprodutivo 3).

Análise dos parâmetros morfológicos

Para análise dos parâmetros morfológicos das plantas e biométricos das sementes, utilizou-se estereomicroscópio (lupa) de fase clara marca Meije, acoplada com câmara fotográfica digital Olympus de 6 megapixels de resolução. O material analisado foi fotografado e catalogado. As medições foram realizadas com base nos descritores morfológicos constantes do quadro 1 e constituíram a MBD (matriz básica de dados) que por conter dados mistos (dados qualitativos codificados por estados, sendo usado um só algarismo para cada código, enquanto os caracteres quantitativos foram incluídos na matriz por seus valores reais) teve que ser estandarizada (MBDS) para fins de análise estatística multivariada.

Para as características morfológicas quantitativas, realizou-se uma análise da variância e um teste de médias de Scott-Knott a 5% de probabilidade de erro.

Análise estatística multivariada

Os dados, obtidos através de descritores morfológicos, constantes da MBDS, foram submetidos à análise multivariada, utilizando-se o software NTSYS-PC (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) versão 2.02 segundo metodologia de ROHLF (1997), para elaboração do dendrograma de análise de agrupamentos. Utilizou-se como medida de similaridade e distanciamento genético entre os agrupamentos o coeficiente de Manhattan que mostrou-se mais discriminatório e apropriado para as análises baseadas em descritores qualitativos e quantitativos em matriz mista de dados.

O dendrograma dos agrupamentos de similaridade genética foi construído através do método dos pares não ponderados usando médias aritméticas UPGMA (Unweighted Pair-Group Method of Arithmetic Average) utilizando o software NTSYS-PC (Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System) versão 2.02 segundo metodologia de ROHLF (1997). A versão gráfica do dendrograma foi obtida utilizando-se o mesmo programa.

Tabela 1 - Lista de 51 descritores morfológicos utilizados na avaliação dos acessos de arroz vermelho e respectivas escalas (estados). UFSM, 2008.

Descritores morfológicos e respectivas escalas

1. Comprimento do colmo (cm do solo até a base da panícula)
2. Espessura do colmo (mm) medido na posição mediana deste com paquímetro
3. Distância dos entre-nós (cm) medida no segundo entre-nó do colmo
4. Cor dos entre-nós : 0 = Verde-claro 1 = Dourado 2 = Estrias violáceas 3 = violácea
5. Indumento nos nós: 0 = Ausente 1 = presente-
6. Cor dos nós: (primeiro nó) 0 = Verde-claro 1 = Verde escuro 2 = Fina faixa marrom 3 = totalmente marrom 4 = violáceo
7. Antocianina no colmo: 0 = Ausente 1 = presente
8. Comprimento da bainha da folha bandeira (cm) medido com régua decimilimetrada em campo
9. Indumento na bainha folha bandeira: 0 = Ausente 1 = presente
10. Antocianina na bainha da folha bandeira: 0 = Ausente 1 = presente
11. Comprimento da lâmina da folha Bandeira (cm) medido com régua decimilimetrada em campo
12. Cor da Lâmina da folha bandeira: 1 = Verde-claro 2 = Verde-escuro
13. Antocianina na lâmina da folha bandeira 0 = Ausente 1 = presente
14. Comprimento da lígula (cm): 0 = curto (0,1 – 1,0 cm) 1 = média (1,1 a 3,0 cm) 2 = longa (> 3,0 cm)
15. Pilosidade da folha bandeira: 1 = Glabra 2 = pilosa
16. Ângulo folha bandeira (graus): 0= Ereto (< 30°) 1= Intermediário (31-60°) 2= Horizontal (61-90°) 3= Descendente (> 90°).
17. Largura da folha bandeira (cm) obtida por medição com régua decimilimetrada no terço médio da folha bandeira
18. Comprimento da panícula (cm) medido da base da panícula à ponta da última espiguetas em campo
19. Número de ramos da panícula medido em campo
20. Comprimento do ramo inferior da panícula (cm) medido em campo com régua decimilimetrada
21. Comprimento do ramo mediano da panícula (cm) medido em campo com régua decimilimetrada
22. Comprimento do ramo superior da panícula (cm) medido em campo com régua decimilimetrada
23. Posição da panícula: 0 = Ereto 1 = Semi-ereto 2 = Semi-inclinada 3 = Semi-pendular 4 = pendular
24. Forma da panícula: 0 = Compacta (fechada) 1 = Intermediária 2 = aberta (laxa)
25. Exerção da panícula: 0 = Completa (> 5cm) 1 = Média (1-5 cm) 2 = Justa (nó ciliar no mesmo nível da folha bandeira)
26. Presença/ausência de arista: 0 = Mutica 1 = Semi-aristada 2 = aristada
27. Degrane: 0 = Fácil (> 50%) 1 = Intermediário (25-50%) 2 = Difícil (< 25%) medido em panícula sacudida vigorosamente em saco plástico por dez vezes.
28. Número de panículas por planta
29. Número de perfilhos
30. Número de espiguetas por panícula
31. Comprimento do pedicelo (mm) medido com paquímetro digital de precisão
32. Comprimento da espiguetas (mm) medido com paquímetro digital de precisão
33. Tricomas na ráquis: 0 = Ausente 1 = presente
34. Tricomas na ráquis: 0 = Persistente 1 = caduco
35. Gluma inferior (cm) medido com régua decimilimetrada em estereomicroscópio Meije
36. Gluma superior (cm) medido com régua decimilimetrada em estereomicroscópio Meije
37. Ápice da gluma: 0 = agudo 1 = Caudado 3 = Aristado 4 = eroso
38. Indumento da gluma: 0 = Ausente 1 = presente
39. Número de nervuras
40. Cor das glumas 1 = Palhete 2 = Palhete com estrias marrons 3 = Preta 4 = Dourada 5 = violácea
41. Pilosidade das glumas: 0 = Ausente 1 = presente
42. Comprimento da lema superior (mm)
43. Ápice da lema superior: 0 = Agudo 1 = Caudado 2 = Aristado 3 = obtuso 4 = eroso
44. Superfície da lema superior: 0 = Brilhante 1 = fosca
45. Indumento na lema superior: 0 = Ausente 1 = Presente
46. Coloração do apículo na maturação: 0 = Branca 1 = Verde 2 = Amarela 3 = Marrom 4 = Vermelha 5 = preta
47. Coloração do grão sem casca: 0 = Branco 1 = Pardo-claro 2 = Pardo-escuro 3 = Vermelho 4 = violácea
48. Tipo de cariopse: 0 = Japônica 1 = Índica 2 = Japônica Tropical (intermediária)
49. Forma da cariopse (média de 30 espiguetas descascadas): 0 = Arredondada (C/L < 1,5); 1 = Semi-arredondada (C/L 1,5-2,0); 2 = Meio alongada (C/L 2,01 a 2,75); 3 = alongada (C/L 2,76 a 3,5); 4 = Muito Alongada (C/L >3,5);
C/L = comprimento da cariopse/largura da cariopse medido com paquímetro digital de precisão
50. Ciclo da planta (dias) da emergência à maturação fisiológica.
51. Arquitetura de plantas: 1= ereta 2= semi ereta 3=aberta 4= semi-prostrada 5=prostrada

Resultados e discussão

Tabela 2 - Comprimento do colmo (CC), número de perfilhos por planta (NPE), número de panículas por planta (NPA), número de sementes por panícula (NS), massa de mil sementes (MMS), produção de sementes por planta (PROD), relação comprimento/largura da espiguetta (C/L) e índice de degrane (DEG). UFSM, 2008.

Biótipo ou cultivar	CC (cm) ¹	NPE ¹	NPA/pl ¹	NS/pa ¹	MMS ¹	PRO (g/pl) ¹	C/L ²	DEG ³
AG1	72 g ¹	10 d ¹	9 d ¹	76 k ¹	31 d ¹	21,2	SARR	fácil
AG2	69 h	6 f	5 g	61 m	25 f	7,6	MEAL	fácil
AG3	45 k	7 e	7 f	89 j	33 d	20,5	ALON	difícil
ALE1	80 g	9 d	9 d	79 k	30 d	21,3	MEAL	fácil
ALE2	73 g	7 e	7 f	131 e	24 f	22	ALON	difícil
ALE3	67 h	8 e	7 f	89 j	30 d	18,6	ALON	fácil
ALE4	75 g	8 e	8 e	99 i	26 f	20,6	MEAL	fácil
ALE5	83 f	11 c	11 b	180 a	25 f	29,5	MUAL	fácil
CAM1	60 i	10 d	9 d	118 g	25 f	26,5	MEAL	interm.
CAM2	85 f	7 e	8 e	95 i	32 d	24,3	MEAL	fácil
CAM3	87 f	9 d	10 c	97 i	30 d	19,1	MEAL	fácil
CAM4	92 e	8 e	7 f	86 j	29 e	17,4	MEAL	fácil
CAM5	65 h	8 e	8 e	92 i	21 g	15,5	ALON	difícil
CAM6	70 h	7 e	7 f	121 f	30 d	25,4	ALON	difícil
CAND2	104 d	7 e	7 f	90 j	21 g	13,2	MEAL	fácil
CB1	40 k	15 a	11 b	135 e	25 f	27,1	ALON	difícil
CP2	60 i	10 d	10 c	125 f	28 e	25	SARR	fácil
CP4	50 j	10 d	10 c	128 f	21 g	26,8	SARR	fácil
CPNE1	85 f	8 e	8 e	90 j	21 g	15,1	ALON	fácil
CPNE2	110 c	8 e	7 f	89 j	22 g	13,7	ALON	difícil
CPV1	115 c	9 d	9 d	84 j	31 d	23,4	MEAL	fácil
CPV2	90 f	9d	8 e	101 h	28 e	22,6	MEAL	fácil
CPV3	98 d	5 f	5 g	78 k	22 g	8,6	MEAL	fácil
CRI2	68 h	12 c	12 a	83 j	30 d	29,8	ALON	fácil
CTÇB1	54 i	12 c	13 a	104 h	27 e	26,5	MEAL	difícil
DF1	55 i	10 d	10 c	126 f	21 g	26,4	MEAL	fácil
DF2	71 h	10 d	10 c	123 f	22 g	27,1	MEAL	fácil
DF4	70 h	12 c	12 a	124 f	21 g	29,2	MEAL	interm.
ELD1	74 g	10 d	10 c	84 j	24 f	20,1	ALON	fácil
ELD3	111 c	11 c	11 b	185 a	30 d	30,1	ALON	difícil
ELD4	72 g	10 d	10 c	118 g	27 e	30,2	MEAL	interm.
ELD5	94 e	8 e	8 e	94 i	35 c	26,3	MEAL	fácil
FAX1	88 f	5 f	6 g	85 j	29 e	14,0	MEAL	fácil
FAX2	91 f	5 f	6 g	90 j	27 e	14,6	ALON	difícil
FAX3	92 e	11 c	10 c	136 e	28 e	28,1	ALON	difícil
FAX4	57 i	10 d	11 b	144 d	26 f	30,1	ALON	fácil
FAX5	60 i	8 e	9 d	100 i	25 f	22,5	MEAL	fácil
GUA1	110 c	5 f	5 g	84 j	26 f	10,9	ALON	fácil
GUA2	64 i	12 c	12 a	101 h	29 e	30,0	ALON	difícil
GUA3	63 i	9 d	9 d	100 i	22 g	19,8	ALON	fácil
ITA1	74 g	5 f	6 g	87 j	20 g	10,4	MEAL	fácil
ITA2	78 g	7 e	7 f	89 j	25 f	15,5	MEAL	fácil
ITA4	58 i	12 c	7 f	158 c	31 d	29,2	MEAL	fácil
Jgri1	58 i	12 c	12 a	150 d	30 d	30,0	ALON	difícil

Biótipo ou cultivar	CC (cm) ¹	NPE ¹	NPA/pl ¹	NS/pa ¹	MMS ¹	PROD (g/pl) ¹	C/L ²	DEG ³
MOST1	73 g	12 c	11 b	104 h	27 e	30,4	MEAL	fácil
MOST3	62 i	8 e	8 e	98 i	26 f	20,3	ALON	difícil
MT1	95 e	7 e	6 g	138 e	24 f	19,8	MEAL	fácil
MT2	80 g	8 e	8 e	90 j	24 f	17,2	ALON	fácil
MV1	65 h	12 c	11 b	97 i	25 f	26,6	ALON	difícil
MV2	120 b	6 f	5 g	70 l	30 d	10,5	ALON	fácil
OSO1	57 i	11 c	11 b	150 d	27 e	30,1	MEAL	fácil
PALS1	87 f	8 e	8 e	97 i	25 f	19,4	ALON	fácil
PEL3	99 d	12 c	12 a	98 i	23 f	27,1	ALON	fácil
PNTG1	75 g	8 e	8 e	99 i	27 e	21,3	MEAL	fácil
OS2	55 i	10 d	10 c	106 h	25 f	26,5	ALON	fácil
OS5	65 h	13 b	12 a	110 g	29 e	28,3	MEAL	fácil
REST2	50 j	10 d	9 d	132 e	27 e	32,0	ALON	fácil
REST3	77g	7 e	7 f	99 i	25 f	17,0	MEAL	fácil
REST4	87 f	6 f	6 g	156 c	28 e	23,8	ALON	interm.
RP1	123 b	5 f	6 g	61 m	24 f	8,8	MEAL	fácil
RS2	68 h	10 d	11 b	85 j	22 g	20,5	MEAL	fácil
SAP1	92 e	9 d	8 e	102 h	28 e	22,8	ALON	fácil
SAP2	95 e	7 e	7 f	130 e	25 f	22,9	SARR	fácil
SB2	70 h	8 e	7 f	146 d	31 d	31,0	ALON	difícil
SB5	75 g	11 c	9 d	115 g	25 f	25,4	ALON	fácil
SB6	67 h	8 e	7 f	157 c	24 f	26,3	ALON	fácil
SF2	58 i	13 b	12 a	122 f	27 e	29,2	MEAL	fácil
SF4	60 i	6 f	7 f	170 b	27 e	32,0	MEAL	fácil
SG1	78 g	8 e	7 f	99 i	28 e	19,4	MEAL	fácil
SG2	75 g	8 e	8 e	97 i	28 e	21,7	MEAL	fácil
SM1	86 f	10 d	10 c	75 k	27 e	20,2	MEAL	fácil
SM2	56 i	9 d	10 c	142 d	26 f	29,6	SARR	fácil
SM4	50 j	12 c	12 a	150 d	25 f	29,0	ALON	difícil
SM5	80 g	11 c	11 b	93 i	25 f	25,5	MEAL	fácil
SP2	50 j	10 d	10 c	130 e	25 f	32,1	ALON	fácil
SV2	75 g	8 e	6 g	99 i	22 g	13,0	MEAL	fácil
TA1	90 f	6 f	6 g	106 h	28 e	17,8	SARR	fácil
TOR2	93 e	8 e	8 e	90 j	24 f	17,2	MEAL	fácil
URU2	100 d	7 e	6 g	105 h	24 f	17,2	SARR	fácil
URU3	85 f	11 c	11 b	145 d	29 e	32,1	ALON	fácil
VIA2	67 h	10 d	10 c	135 e	27 e	29,4	MEAL	fácil
VIA3	121 b	9 d	8 e	150 d	30 d	29,0	MUAL	fácil
417	75 g	12 c	12 a	160 c	32 d	32,1	ALON	difícil
417F1	75 g	10 d	10 c	157 c	30 d	31,8	ALON	difícil
422CL	60 i	10 d	10 c	149 d	30 d	30,2	ALON	difícil
BBELLE	98 d	11 c	10 c	158 c	27 e	29,7	ALON	interm.
CICA9	55 i	7 e	8 e	98 i	31 d	24,3	ALON	difícil
EP115 CL	60 i	10 d	10 c	160 c	31 d	29,5	ALON	difícil
FORM1	84 f	8 e	8 e	157 c	38 b	31,4	SARR	interm.
JAPG	94 e	12 c	11 b	156 c	39 a	32,2	MUAL	interm.
LBNET	57 i	7 e	8 e	148 d	28 e	28,3	MUAL	interm.

Biótipo ou cultivar	CC (cm) ¹	NPE ¹	NPA/pl ¹	NS/pa ¹	MMS ¹	PROD (g/pl) ¹	C/L ²	DEG ³
OGLUM	150 a	3 g	3 h	55 m	25 f	7,5	MEAL	fácil
ORZC	60 i	10 d	11 b	150 d	32 d	29,7	ALON	difícil
PUITA CL	62 i	11 c	11 b	149 d	30 d	29,5	ALON	difícil
CV (%)	6,65	11,45	10,71	12,24	7,13	14,3	-	-

¹ Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

² C/L: 1 = ARR arredondada (< 1,5); 2 = SARR semi-arredondada (1,6-2,0); 3 = MEAL meio alongada (2,01-2,75); 4 = ALON alongada (2,76-3,5); 5 = MUAL muito alongada (> 3,5) de acordo com FONSECA et. al. (2001)

³ Índice de degrane: 1 = difícil (até 25%); 2 = intermediário (25-50%); 3 = fácil (> 50%)

Tabela 3 - Cor das glumas (CG), ausência/presença de arista, cor do primeiro nó (CNO), cor do primeiro entre-nó (CPE), cor da folha bandeira (CFB), pilosidade da folha bandeira (PFB), arquitetura de planta (APL) e duração, em dias, do período vegetativo (PV), reprodutivo (PR), maturação (MAT) e ciclo completo de biótipos de arroz vermelho e cultivares comerciais. UFSM, 2008.

Biótipo ou cultivar	CG ¹	Arista ⁵	CNO ⁶	CPE ⁷	CFB ²	PFB ³	APL ⁴	Período de desenvolvimento (dias)			
								PV	PR	MAT	Ciclo
AG1	Palhete ¹	MUT	VC	VC	VE ²	P ³	SER ⁴	63 m	29 a	28 a	120 h
AG2	Marrom	SARIS	VC	VC	VC	G	SPR	50 r	28 a	27 a	105 k
AG3	Palhete	MUT	VC	VC	VE	P	ER	75 h	27 a	28 a	130 f
ALE1	Palhete	MUT	VC	VC	VE	P	SER	67 k	26 a	28 a	121 h
ALE2	Palhete	MUT	FFM	DOU	VC	P	ER	65 l	31 a	29 a	125 g
ALE3	Palhete	ARIS	LFM	VC	VE	P	ER	56 p	27 a	26 a	109 j
ALE4	Palhete	MUT	FFM	VC	VE	P	SER	60 n	30 a	28 a	118 i
ALE5	Palhete	ARIS	FFM	VC	VC	P	ER	52 q	28 a	29 a	109 j
CAM1	Dourada	MUT	FFM	VC	VE	P	SER	83 c	30 a	32 a	145 b
CAM2	Palhete	MUT	VC	VC	VE	P	SER	59 o	30 a	29 a	118 i
CAM3	Palhete	MUT	LFM	DOU	VE	P	SER	62 m	30 a	28 a	120 h
CAM4	Preta	ARIS	VIOL	VC	VC	P	SER	51 r	28 a	26 a	105 k
CAM5	Marrom	MUT	LFM	VC	VE	P	ER	80 e	31 a	32 a	143 c
CAM6	Palhete	MUT	FFM	DOU	VC	P	ER	71 i	30 a	29 a	130 f
CAND2	Palhete	SARIS	LFM	DOU	VC	P	SER	65 l	28 a	26 a	119 h
CB1	Marrom	MUT	FFM	VC	VE	P	SER	83 c	29 a	31 a	143 c
CP2	Marrom	MUT	LFM	VC	VC	P	ER	62 m	29 a	27 a	118 i
CP4	Palhete	MUT	VC	VC	VE	P	SER	62 m	28 a	29 a	119 h
CPNE1	Preta	ARIS	VIOL	VC	VE	P	SER	51 r	28 a	26 a	105 k
CPNE2	Palhete	MUT	LFM	EST	VC	P	ER	79 e	30 a	29 a	138 d
CPV1	Palhete	MUT	LFM	DOU	VC	P	SER	62 m	30 a	28 a	120 h
CPV2	Palhete	MUT	LFM	VC	VE	P	SER	64 l	27 a	27 a	118 i
CPV3	Palhete	MUT	LFM	DOU	VC	P	SER	62 m	28 a	27 a	117 i
CRI2	Palhete	ARIS	LFM	VC	VE	P	SER	56 p	27 a	26 a	109 j
CTÇB1	Palhete	MUT	VC	VC	VE	P	ER	62 m	28 a	27 a	117 i
DF1	Palhete	MUT	LFM	VC	VE	P	SER	60 n	29 a	28 a	117 i
DF2	Palhete	MUT	LFM	DOU	VC	P	SER	62 m	27 a	28 a	117 i
DF4	Marrom	MUT	VC	DOU	VE	G	AB	86 b	30 a	32 a	148 b
ELD1	Palhete	ARIS	VC	VC	VC	P	SER	52 q	27 a	29 a	109 j
ELD3	Palhete	MUT	VC	DOU	VC	G	AB	82 d	28 a	30 a	140 d
ELD4	Preta	MUT	VIOL	VC	VE	P	SER	88 a	29 a	31 a	148 b

Biótipo ou cultivar	CG ¹	Arista ⁵	CNO ⁶	CPE ⁷	CFB ²	PFB ³	APL ⁴	Período de desenvolvimento (dias)			
								PV	PR	MAT	Ciclo
ELD5	Palhete	MUT	VC	DOU	VC	P	SER	61 n	29 a	27 a	117 i
FAX1	Palhete	MUT	FFM	VC	VC	P	SER	62 m	27 a	28 a	117 i
FAX2	Palhete	MUT	LFM	VC	VC	P	ER	81 d	29 a	30 a	140 d
FAX3	Palhete	MUT	FFM	VC	VC	P	ER	79 e	32 a	30 a	141 d
FAX4	Preta	ARIS	LFM	VC	VE	P	SPR	52 q	26 a	27 a	105 k
FAX5	Palhete	ARIS	FFM	VC	VE	P	SER	53 q	29 a	26 a	109 j
GUA1	Palhete	ARIS	FFM	VC	VC	P	ER	55 p	28 a	26 a	109 j
GUA2	Preta	MUT	FFM	DOU	VC	P	SER	81 d	32 a	30 a	143 c
GUA3	Preta	ARIS	FFM	VC	VE	P	SER	52 q	26 a	27 a	105 k
ITA1	palhete	ARIS	VC	VC	VE	P	SER	51 r	30 a	28 a	109 j
ITA2	preta	ARIS	FFM	VC	VE	P	SER	52 q	27 a	26 a	105 k
ITA4	palhete	MUT	FFM	DOU	VE	G	AB	61 n	28 a	27 a	116 i
Jgri1	palhete	MUT	VC	VC	VE	G	ER	76 g	30 a	29 a	135e
MOST1	palhete	ARIS	FFM	VC	VC	P	SER	55 p	28 a	26 a	109 j
ITA1	palhete	ARIS	VC	VC	VE	P	SER	51 r	30 a	28 a	109 j
ITA2	preta	ARIS	FFM	VC	VE	P	SER	52 q	27 a	26 a	105 k
ITA4	palhete	MUT	FFM	DOU	VE	G	AB	61 n	28 a	27 a	116 i
Jgri1	palhete	MUT	VC	VC	VE	G	ER	76 g	30 a	29 a	135e
MOST1	palhete	ARIS	FFM	VC	VC	P	SER	55 p	28 a	26 a	109 j
MOST3	marrom	MUT	FFM	VC	VC	P	ER	84 c	29 a	30 a	143 b
MT1	palhete	MUT	FFM	DOU	VE	P	SER	61 n	29 a	28 a	118 i
MT2	preta	ARIS	LFM	DOU	VC	P	SER	51 r	28 a	26 a	105 k
MV1	palhete	MUT	FFM	VC	VE	P	ER	75 h	31 a	29 a	135 e
MV2	preta	ARIS	LFM	VC	VC	P	SER	75 h	31a	29 a	135 e
OSO1	palhete	MUT	LFM	VC	VC	P	ER	61 n	29 a	27 a	117 i
PALS1	palhete	ARIS	LFM	VC	VC	P	ER	56 p	27 a	26 a	109 j
PEL3	palhete	ARIS	LFM	VC	VE	P	ER	55 p	28 a	26 a	109 j
PNTG1	preta	ARIS	FFM	VC	VE	P	SER	51 r	28 a	26 a	105 k
PS2	marrom	ARIS	VC	VC	VE	P	SER	51 r	27 a	27 a	105 k
PS5	palhete	MUT	VC	VC	VC	P	SER	60 n	30 a	29 a	119 h
REST2	palhete	ARIS	VC	VC	VE	P	ER	51 r	29 a	27 a	109 j
REST3	palhete	MUT	LFM	VC	VC	P	SER	60 n	29 a	28 a	117 i
REST4	dourada	MUT	LFM	DOU	VE	P	AB	84 c	32 a	32 a	148 b
RP1	preta	ARIS	VIOL	VC	VC	P	SER	52 q	27 a	26 a	105
RS2	preta	ARIS	FFM	VC	VE	P	SER	52 q	27 a	26 a	105 k
SAP1	palhete	ARIS	LFM	VC	VE	P	ER	55 p	28 a	26 a	109 j
SAP2	palhete	MUT	FFM	VC	VC	P	SER	58 o	31 a	29 a	118 i
SB2	palhete	MUT	FFM	VC	VC	P	ER	72 i	30 a	29 a	131 f
SB5	palhete	SARIS	VC	VC	VE	P	ER	55 p	27 a	27 a	109 j
SB6	palhete	ARIS	VC	VC	VE	P	SER	53 q	29 a	27 a	109 j
SF2	preta	ARIS	VC	VC	VE	P	SER	52 q	27 a	26 a	105 k
SF4	palhete	MUT	FFM	DOU	VE	G	AB	58 o	31 a	29 a	118 i
SG1	preta	ARIS	LFM	VC	VE	P	SER	52 q	26 a	27 a	105 k
SG2	palhete	MUT	VC	VC	VE	P	SER	57 p	30 a	29 a	116 i
SM1	palhete	SARIS	FFM	VC	VE	P	SER	59 o	31 a	29 a	119 h
SM2	palhete	ARIS	FFM	VC	VE	P	SPR	51 r	30 a	28 a	109 j
SM4	palhete	MUT	LFM	VC	VE	P	ER	74 h	30 a	31 a	135 e
SM5	preta	ARIS	VIOL	VC	VC	P	SER	52 q	27 a	26 a	105 k
SP2	palhete	MUT	VC	VC	VC	P	SER	62 m	28 a	29 a	119 h
SV2	preta	ARIS	LFM	VC	VC	P	SER	52 q	27 a	26 a	105 k
TA1	palhete	MUT	VC	VC	VC	P	SER	63 m	28 a	29 a	120 h

Biótipo ou cultivar	CG ¹	Arista ⁵	CNO ⁶	CPE ⁷	CFB ²	PFB ³	APL ⁴	Período de desenvolvimento (dias) ⁸			
								PV	PR	MAT	Ciclo
TOR2	marrom	ARIS	LFM	DOU	VE ²	P ³	SER ⁴	51 r	27 a	27 a	105 k
URU2	preta	ARIS	VC	VC	VE	P	SPR	52 q	27 a	26 a	105 k
URU3	palhete	MUT	FFM	DOU	VE	P	ER	80 e	29 a	31 a	140 d
VIA2	preta	ARIS	FFM	VC	VE	P	SER	56 p	30 a	29 a	115 i
VIA3	palhete	ARIS	FFM	VC	VC	P	AB	62 m	29 a	28 a	119 h
417	palhete	MUT	VC	VC	VE	P	ER	74 h	31 a	30 a	135 e
417F1	palhete	MUT	VC	VC	VE	P	ER	74 h	31 a	30 a	135 e
422CL	palhete	MUT	VC	VC	VE	P	ER	76 g	29 a	30 a	135 e
BBELLE	palhete	MUT	FFM	DOU	VE	G	AB	76 g	30 a	29 a	135 e
CICA9	palhete	MUT	VC	VC	VE	P	SER	84 c	29 a	31 a	144 b
EP115	palhete	MUT	VC	VC	VE	P	ER	86 b	30 a	32 a	148 b
FORM1	dourada	MUT	VC	DOU	VE	P	AB	86 b	28 a	30 a	144 b
JAPG	dourada	MUT	VC	DOU	VE	P	AB	82 d	29 a	32a	143 b
LBNET	palhete	MUT	FFM	DOU	VE	G	AB	74 h	31 a	30 a	135 e
OGLUM	palhete	ARIS	VC	EST	VC	P	PRO	84 c	38 a	37 a	159 a
ORZC	palhete	MUT	VC	VC	VE	P	AB	75 h	31 a	29 a	135 e
PUITA CL	palhete	MUT	VC	VC	VE	P	ER	78 g	28 a	29 a	135 e
CV (%)	-							4,42	8,32	10,52	1,62

¹CG =: cor das glumas 1 = Palhete 2 = Palhete com estrias marrons 3 = Preta 4 = Dourada 5 = violácea

²CFB = cor da folha bandeira: 1 = verde-claro (VC) 2 = verde escuro (VE)

³PFB = pilosidade da folha bandeira: 1 = Glabra (G) 2 = pilosa (P)

⁴APL = arquitetura de planta: 1= ereta (ER); 2= semi ereta (SER); 3= aberta (AB); 4= semi-prostrada (SPR) 5=prostrada (PRO)

⁵Arista: 1= espiguetas mútica (MUT); 2= espiguetas semi-aristadas (SARIS); 3= espiguetas aristadas (ARIS)

⁶CNO = cor do nó do primeiro entre-nó: 1 = verde-claro (VC); 2 = verde-escuro (VE); 3 = fina faixa marrom no 1/3 inferior do nó (FFM) 4 = larga faixa marrom em toda extensão do nó (LFM); 5 = nó violáceo (VIOL).

⁷CPE = cor do primeiro entre-nó: 1 = verde-claro (VC); 2 = dourado (DOU); 3 = estrias violáceas (EST); 4 = violácea (VIOL)

⁸Médias seguidas da mesma letra, na mesma coluna, não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de probabilidade

Diferentes autores (NOLDIN, et al., 2004; ÁVILA et al., 2005; SCHWANKE et al., 2008) tratam diferentes tipos morfológicos de arroz vermelho (*Oryza sativa*) como ecótipos. Entretanto, Grant (1971) e Stace (1980) citados por CANTO-DOROW (1993) definiram ecótipo como membros de uma espécie, que são adaptados para sobreviver em um tipo de ambiente particular, dentro da área total da espécie.

De acordo com CANTO-DOROW (1993) ecótipo é um tipo morfológico relacionado a um habitat particular, enquanto biótipo é um grupo de indivíduos geneticamente iguais, que mantém as suas características em ambientes diferentes. Neste sentido, considerou-se os diferentes tipos morfológicos de arroz vermelho (*Oryza sativa*) analisados neste trabalho, como biótipos, pois não foi constatada a relação existente entre a sua variação morfológica com os diferentes ambientes e regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul.

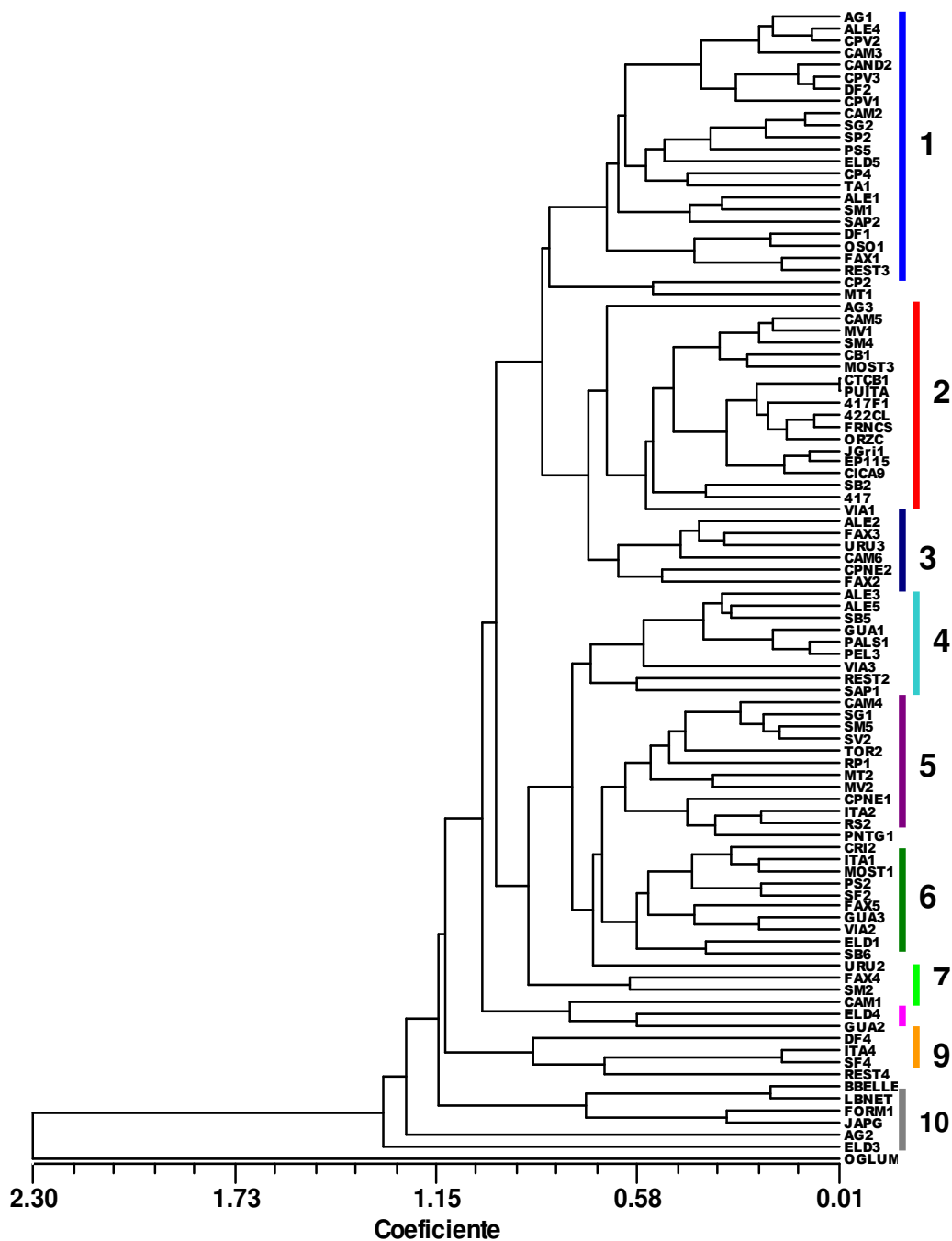


Figura 1 - Fenograma de similaridade morfológica entre biótipos de arroz vermelho e cultivares comerciais, baseado em descritores morfológicos (qualitativos e quantitativos), utilizando-se o método de agrupamento UPGMA e o coeficiente de Manhattan. UFSM, 2008.

Os dados relativos a comprimento do colmo, apresentados na tabela 2, permitem verificar que há grande variabilidade entre os biótipos de arroz vermelho em relação a esta característica que tem importância na determinação da altura das plantas. Os valores variaram de 40 a 123 centímetros. Os biótipos com menor comprimento do colmo foram Cerro Branco 1 com 40 cm e Arroio Grande 3 com 45 cm, cerca de 20 cm menor que as cultivares Clearfield IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e SCS Epagri 115 e cerca de 35 cm menor que a cultivar IRGA 417.

Este resultado diverge do obtido por SCHWANKE et al. (2008), que encontraram para o Rio Grande do Sul apenas biótipos com estatura superior em torno de 15 a 25 cm às verificadas nos cultivares comerciais.

Analisando-se os acessos coletados no Estado (tabela 2), encontramos 85,36 % das amostras com comprimento do colmo semelhantes a cultivares modernos, sendo 41,46% semelhantes aos cultivares Clearfield e 43,90% semelhantes ao cultivar convencional IRGA 417. Apenas 14,64% dos biótipos avaliados apresentaram comprimento do colmo superior ao obtido em cultivares modernos e semelhantes a cultivares tradicionais de porte médio-alto como Bluebelle, Lebonet e Japonês Grande.

A altura de planta continua sendo a principal característica utilizada pelos produtores de arroz para combater manualmente o arroz vermelho por “rouging” (arranquio manual) ou através da barra química. Neste sentido, estas práticas aliadas à hibridização natural entre o arroz vermelho e o arroz cultivado (VAUGHAN et al., 2001) tem sido fundamentais na seleção de biótipos com altura similar ou mais baixos que o arroz cultivado (MARCHEZAN, 2004), especialmente biótipos com características fenotípicas próximas às das cultivares modernas como: média a baixa estatura, folhas eretas, verdes-escuras, espiguetas místicas longo-finas, glumas de coloração palhete, entre outras (BOCCHI et al., 2002).

Com relação à cor e pilosidade da folha bandeira (tabela 3), observa-se que 96,8% dos biótipos avaliados apresentaram pilosidade na folha e apenas 3,2% eram glabros. 47% apresentaram folhas de coloração verde-escuro e 33% verde-clara.

Estes resultados demonstram que o arroz vermelho está perdendo suas principais características, tradicionalmente observadas, que são: coloração da folha verde-clara, porte mais alto que cultivares modernos, colmo fino e folhas nutantes (DIARRA, et al., 1985; NOLDIN et al., 1999; DELATORRE, 1999).

Isto explica a dificuldade encontrada por produtores do Rio Grande do Sul, que praticam o rouging, em catar as plantas de arroz vermelho entre as cultivares modernas, utilizando, para identificá-las visualmente, critérios como porte das plantas, pilosidade da folha e coloração mais clara como encontrado em arroz vermelho típico (LISBOA, 2008 – informação pessoal). Marques et al. (1983) citado por SCHWANKE et al. (2008) também encontraram esta dificuldade em campos de produção de sementes.

A arquitetura de plantas é uma característica que tem importância agrônômica, uma vez que plantas mais eretas e com folhas eretas, são mais eficientes na captação de luz, o que reflete em maior taxa líquida de fotossíntese e melhor partição de fotoassimilados (AGOSTINETTO et al., 2001). Em condições de alta luminosidade e elevado índice de área foliar, a luz é mais eficientemente usada em dosséis com folhas eretas (YOSHIDA, 1972).

Neste estudo (tabela 3), verificou-se que 57,32% dos biótipos de arroz vermelho avaliados apresentaram arquitetura de planta semi-ereta; 29,27% plantas eretas; 7,32% abertas; 4,88% semi-prostradas e 1% prostradas (biótipo selvagem *Oryza glumaepatula*). Estes resultados indicam que o arroz vermelho está adquirindo as características de arquitetura de planta mais ereta, com folhas eretas, como estratégia de sobrevivência na competição por luz com o arroz cultivado, uma vez que, pela pressão de seleção antrópica (mecânica ou química), vêm reduzindo sua estatura para porte de planta semelhante ou inferior aos cultivares modernos, perdendo a habilidade competitiva que era verificada no arroz vermelho tradicional de porte alto e folhas nutantes. Para AGOSTINETTO et al. (2001), a maior altura de planta aumenta a habilidade competitiva, pois incrementa a massa seca total e torna a planta mais eficiente na competição por luz. No entanto, a menor estatura melhora características agrônômicas como resistência ao acamamento (VERGARA, 1988), problema verificado em plantas com porte mais alto, como alguns biótipos de arroz vermelho (BOCCHI et al, 2002).

Com relação ao tipo de espiguetas, verificou-se que 70,22% dos biótipos avaliados apresentaram espiguetas de coloração palhete (amarelo palha) sendo que, destes, 51,07% apresentaram espiguetas múticas, 17,02% espiguetas aristadas e 2,13% espiguetas semi-aristadas. Encontrou-se ainda 19,15% de biótipos com glumas de cor preta (17,02% aristadas e 2,13% múticas); 6,26% de biótipos com

glumas de cor palhete com listas marrons (5,32% místicas e 1,06% semi-aristados) e 4,25% de biótipos com glumas douradas místicas.

Os cultivares modernos do grupo Filipino como IRGA 417, IRGA 422 CL e Puitá CL INTA, apresentam espiguetas de coloração palhete, normalmente místicas a semi-místicas, podendo em alguns ambientes apresentar curta arista amarela como pode ser verificado nas cultivares Clearfield IRGA 422 CL (MARCHEZAN, 2006) e Puitá CL INTA, ou curta arista amarela com a ponta violácea como pode ser verificado na cultivar Tuno CL. Neste contexto, podemos inferir que grande parte das amostras avaliadas, apresentaram espiguetas com características similares às observadas com os cultivares modernos. É mais uma evidência de que a hibridação entre cultivares e arroz vermelho está modificando uma das características mais visualizáveis da planta daninha que é a presença de espiguetas com curtas ou longas aristas. Características essas que sempre facilitaram o trabalho de rouging, bem como a separação das sementes da invasora para avaliação de lotes de sementes de cultivares pelos laboratórios de análise de sementes (PESKE et al. 1997).

Em condições edafoclimáticas da região arrozeira da Itália, BOCCHI et al. (2002) e da Costa Rica (ZAMORA et al., 2003) verificaram que características como coloração do entre-nó e do primeiro nó visível, apesar de muito variáveis e difusas dentro do complexo arroz vermelho, devem ser consideradas nas análises como indicadores de cruzamentos entre arroz vermelho e cultivares. Isto, porque os biótipos de arroz vermelho mais tradicionais apresentam coloração dos nós (violácea e vermelho-amarronzada) e entre-nós (cor dourada, violácea, estrias violáceas) possivelmente adquiridas dos ancestrais selvagens.

Os cultivares modernos como IRGA 422 CL, IRGA 417 e Puitá CL INTA, apresentam, normalmente, nó verde-claro ou verde-escuro e entre-nó verde-claro.

Neste estudo, verificamos que 76,83% dos biótipos de arroz vermelho apresentaram entre-nó verde-claro como os cultivares modernos, 21,95% entre-nó dourado como encontrado em cultivares tradicionais como Bluebelle e Japonês Grande. Também observou-se 1,23% de biótipos com entre-nó com estrias violáceas, característica encontrada em alguns biótipos de arroz vermelho tradicional.

Considerando a característica cor do nó, avaliada no primeiro nó visível, podemos verificar que 28,05% dos biótipos de arroz vermelho apresentaram nó

verde-claro; 6,09% nó violáceo e 65,86% nó marrom, padrão relatado por BOCCHI et al. (2002) como o mais difuso entre biótipos de arroz vermelho da Itália. Porém, diferentemente do que observaram BOCCHI et al. (2002) e ZAMORA et al. (2003) encontramos nos biótipos do Rio Grande do Sul dois padrões de coloração marrom do primeiro nó: 34,14% apresentaram fina faixa marrom na base do nó ocupando cerca de 1/3 do nó e o restante é preenchido por coloração verde clara e 31,72% apresentaram uma larga faixa marrom que ocupa todo o nó. Esta fina faixa marrom também observou-se nas cultivares tradicionais Bluebelle e Lebonett. As demais cultivares avaliadas apresentaram coloração do nó verde clara.

Os resultados permitem inferir que, apesar de mais de 20% dos biótipos apresentarem coloração do nó verde-claro, ainda encontramos maior percentual destes com nó marrom como verificado nos biótipos mais tradicionais. Estes biótipos que apresentam fina faixa marrom no 1/3 inferior do nó e 2/3 com cor verde-claro parecem ser intermediários entre aqueles tradicionalmente de nó totalmente marrom ou violáceo (larga faixa marrom ou violácea) e aqueles que já apresentam nó totalmente verde-claro, características verificadas nos cultivares modernos. Parece que no processo de seleção, estes biótipos encontram-se em posição intermediária entre aqueles que já adquiriram as características fenotípicas dos cultivares modernos (FEDERICI et al., 2001) e aqueles que mantêm-se ainda com as características dos ancestrais.

Pela tabela 2, observa-se que apenas 17% do total de biótipos de arroz vermelho avaliados apresentam número de sementes por panícula e produção de sementes (g/pl) iguais ou superiores aos cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e IRGA 417.

De acordo com SCHWANKE et al. (2008) este comportamento é compreensível uma vez que os cultivares comerciais foram selecionados e melhorados para o fator produtividade, enquanto o arroz vermelho passa por seleção natural voltada ao aspecto de competição e sobrevivência.

Entre as características que tem importância para a sobrevivência do arroz vermelho e a perpetuação de sua espécie, destacam-se a dormência das sementes (DELATORRE, 1999) e o elevado índice de degrane precoce ocorrentes (MARCHEZAN & CIROLINI, 1996).

Conforme ÁVILA et al. (2000) o alto percentual de degrane precoce das sementes de arroz vermelho, associados à longevidade e dormência destas (LAGO,

1982), prolongam a viabilidade das sementes, incrementando o banco de sementes do solo.

Os resultados para índice de degrane (tabela 2) mostram que 74,39% dos biótipos degranam facilmente (acima de 50%); 3,65% apresentam degrane intermediário (entre 25-50%) e 21,96% degrane difícil (menor que 25%) compatível com o observado em cultivares comerciais.

Estes resultados permitem afirmar, o que ANGLADETTE et al. (1969) e PULVER (1986) já haviam observado, ou seja, o arroz vermelho utiliza o degrane precoce como forma de dispersão das sementes com vistas à perpetuação da espécie, o que explica este elevado percentual de biótipos de arroz vermelho com índice igual ou superior a 50% encontrado neste estudo.

Porém, 25% dos biótipos apresentam índice de degrane próximo ao obtido com os cultivares modernos. Este comportamento é reflexo dos cruzamentos com os cultivares comerciais observados com relativa frequência nas áreas de produção de arroz irrigado conforme NOLDIN et al. (1999).

Do ponto de vista da sobrevivência do biótipo, esta dificuldade de degrane acaba permitindo a retirada, durante as operações de colheita, de boa parte das sementes do biótipo, da área onde foi produzida, sendo separadas posteriormente, fora da lavoura (SCHWANKE et al., 2008) pelas operações de beneficiamento (PESKE et al., 1997). Também pode ocorrer a distribuição destas sementes para outras regiões se o produto da colheita for utilizado como semente própria ou por terceiros, sem beneficiamento adequado antes da nova semeadura, o que é indesejável agronomicamente.

Este problema pode ser mais agravado, quanto mais próximo for o ciclo biológico do arroz vermelho em relação ao ciclo da cultivar de interesse. Biótipos de arroz vermelho com ciclo mais precoce, podem dispersar suas sementes no ambiente antes da colheita, mantendo no banco de sementes do solo uma considerável parcela de sementes que podem germinar na safra seguinte.

Com relação ao ciclo fenológico do arroz vermelho, observou-se que 20,73% dos biótipos de arroz vermelho apresentaram ciclo semelhante ao observado em cultivares como IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e IRGA 417 (entre 130 e 145 dias). Do total avaliado, 40,24% apresentaram ciclo intermediário (110 a 130 dias) e 39,03% ciclo mais precoce que os cultivares (inferior a 110 dias).

A frequência com que ocorrem cruzamentos naturais entre o arroz vermelho e o arroz cultivado é variável e depende da coincidência de florescimento entre os mesmos e da distância entre as plantas (YOSHIDA, 1981). Neste sentido, esta mudança de característica de alguns biótipos de arroz vermelho, que cada vez mais se aproximam, em termos de ciclo biológico, dos cultivares modernos, refletem, em parte, o atual quadro verificado na rizicultura do Rio Grande do Sul, onde são encontradas populações de arroz vermelho com características similares aos cultivares, incluindo o ciclo biológico total, o porte da planta e espiguetas com coloração palhete, douradas ou pretas, sem arista e longo-finas, típicas de cultivares modernos do grupo *índica* (AVOZANI et al., 1998; MENEZES et al., 2002; SCHWANKE et al., 2008).

A relação comprimento/largura das cariopses (medidas com paquímetro de precisão) nos permitem calcular um índice que nos mostra a forma da cariopse. WATANABE (1997) estima que a relação C/L menor que 2,5 é típica do grupo *japonica* com cariopses curtas e largas, espiguetas sem aristas ou com longas aristas, enquanto que a relação C/L maior que 2,5 pode ser verificada em cariopses longas e finas, espiguetas normalmente sem aristas, típicas do grupo *índica*. Também é característica do grupo *índica* folhas largas de coloração verde-clara com colmo longo e alto degrane de sementes, enquanto o grupo *japonica* apresenta folhas estreitas, verdes-escuras e colmo curto com sementes de difícil degrane e estatura baixa. CHANG & BARDENAS (1965) ainda consideram a existência de um tipo intermediário varietal classificado como grupo *javanica* ou *japonica* tropical com folhas largas, cor verde clara, alta estatura, cariopses semi-arredondadas (curtas e largas) e baixo degrane de sementes.

A tabela 2 permite observar os dados relativos à relação C/L obtida no presente estudo. Verifica-se que sete biótipos apresentam relação C/L inferior a 2,0 e a cariopse é classificada como semi-arredondada e típica de grupo *japonica* como observado na cultivar IAS 12-9 Formosa. Trinta e quatro biótipos apresentam cariopse alongada típica do grupo *índica* com relação C/L entre 2,76 e 3,75, padrão também verificado nas cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA, SCS Epagri 115 CL, IRGA 417, Cica 9, Oryzica, Bluebelle e Lebonet. Dois biótipos possuem cariopses muito alongadas com relação C/L entre 2,76 e 3,50 típicas de grupo *índica*.

Entre os biótipos avaliados em relação ao comprimento e largura da cariopse, trinta e nove biótipos apresentam um tipo intermediário de cariopse classificada

como meio-alongada (C/L de 2,01-2,75), segunda a escala proposta por FONSECA et al.(2001). Este grupo, segundo a escala de WATANABE (1997) deveria ser enquadrado dentro do grupo *japonica* (C/L inferior a 2,5), ou ainda poderia ser enquadrado como *índica* (C/L superior a 2,5). Entretanto, avaliações realizadas com auxílio do estereomicroscópio Meije, permitem inferir que as cariopses não apresentam padrão arredondado típico de cariopses *japonicas*, nem mesmo do padrão *japonica* tropical (curtas e largas). Todas são cariopses com características intermediárias entre o grupo *índica* e o grupo *japonica*. Além disso, as análises morfológicas realizadas em exsicatas coletadas em campo e nas plantas cultivadas em casa-de-vegetação, para biótipos deste grupo, não demonstram um padrão definido de plantas típicas *japonicas* ou *javanicas* conforme descrito por PINHEIRO (2006) porque as plantas apresentam grande polimorfismo, com algumas características tipicamente de biótipos do grupo *índica*. Neste sentido, percebe-se a ocorrência de um grupo mais difuso em relação às principais características de um grupo ou de outro.

Para o Rio Grande do Sul, pelas análises realizadas, a escala a ser utilizada deve considerar que para grupo *japonica* típico, a relação C/L deve ser inferior a 2,0 e não a 2,5 como proposta inicialmente por WATANABE (1997), seguindo-se então a escala proposta por FONSECA et al. (2001) que apresenta-se mais adequada para estudos em populações de arroz vermelho.

Segundo RODRIGUES & ANDO (2003), a maioria dos caracteres morfológicos apresenta uma amplitude de variação comum entre grupos *índica* e *japonica*, dentro da espécie *Oryza sativa*, ou seja, uma variação sobreposta que dificulta a classificação mais precisa das variedades destes grupos. De acordo com MORISHIMA & OKA (1981) a probabilidade de classificação errada entre grupos *índica* e *japonica* é de 39% quando se utiliza apenas descritores quantitativos relacionados com comprimento/largura da espiguetta. Já para comprimento do ápulo tem 13,5% de probabilidade de classificação errada.

Para GLASZMANN (1988) o grupo *índica* é altamente polimórfico, o que pode ser resultado de uma origem difusa de uma população selvagem, e de significativa introgressão de arroz simpátricos e daninhos. Em contraste, o grupo *japonica* é menos polimórfico e sua diversidade parece ser maior apenas em áreas elevadas do sudeste da Ásia, apesar de sua ampla distribuição por todo o mundo. Porém, a introgressão de genes entre um grupo e outro está criando tipos derivativos, em

termos morfológicos e enzimáticos, e levando a uma gradativa perda da identidade dos mesmos como ocorre em arroz cultivado conforme relato de PINHEIRO (2006).

Para as populações de arroz vermelho do Rio Grande do Sul, é notória a predominância de biótipos com elevado polimorfismo e com características do grupo *índica*, como pode ser observado na figura 1, onde os tipos morfológicamente similares, aparecem agrupados em 11 “clusters” (grupos similares) obtidos segundo o método de agrupamento UPGMA e pelo cálculo de distância genética baseado no coeficiente de Manhattan.

Verifica-se que no grupo 1, estão agrupados biótipos com características de plantas do tipo *japonica* ou intermediárias (cariopses semi-arredondadas a meio-alongadas); Nos grupos 2, 3 e 4 encontram-se agrupados biótipos com características de plantas do grupo *Índica*, e nos grupos 5, 6, 7, 8 e 9, verifica-se um agrupamento misto com biótipos do grupo *índica* ou grupo *japonica* e biótipos classificados como padrão intermediário.

Analisando-se o fenograma obtido na análise multivariada (figura 1), verifica-se que foi possível agrupar os biótipos estudados em 11 grupos segundo suas características fenotípicas.

Descrição dos grupos e dos biótipos

Grupo 1 – formado por plantas de ciclo médio, porte médio-baixo, semi-eretas, espiguetas múticas, meio-alongadas (intermediárias) a semi-arredondadas (padrão *japonica*), glumelas de coloração palhete, folhas verdes-claras a verdes-escuras, pilosas, eretas a semi-eretas, panículas semi-pendulares.

Variações dentro do grupo:

Biótipo A - primeiro entre-nó verde-claro e primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Biótipo B – primeiro entre-nó dourado e primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Biótipo C - primeiro entre-nó verde-claro e primeiro nó com fina faixa marrom no terço inferior;

Biótipo D – primeiro entre-nó verde-claro e primeiro nó verde-claro.

Grupo 2 – formado por plantas de ciclo médio a tardio, porte baixo, eretas, espiguetas múticas, alongadas, glumelas de coloração palhete, folhas verdes-claras a verdes-escuras, pilosas, eretas, panículas semi-inclinadas, entre-nós verdes-claros.

Neste grupo estão incluídas as cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA, IRGA 417, SCS Epagri 115, IRGA 417 F1, Cica 9 e Oryzica.

Observa-se que morfologicamente o biótipo Catuçaba 1 é semelhante à cultivar Puitá CL INTA em mais de 90% dos descritores fenotípicos qualitativos e quantitativos avaliados, agrupando-se junto com esta variedade no “cluster” 2 onde mantém estreita distância genética.

Variações dentro do grupo:

Biótipo E - primeiro entre-nó verde-claro e primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Biótipo F – primeiro entre-nó dourado e primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Biótipo G - primeiro entre-nó verde-claro e primeiro nó com fina faixa marrom no terço inferior;

Biótipo H – primeiro entre-nó verde-claro e primeiro nó verde-claro.

Grupo 3 – formado por plantas de ciclo tardio, porte médio, eretas, espiguetas múticas, alongadas (padrão *índica*), glumelas de coloração palhete, folhas verdes-claras, pilosas, eretas, panículas semi-pendulares.

Variações dentro do grupo:

Biótipo I - primeiro entre-nó dourado e primeiro nó com fina faixa marrom no terço inferior;

Biótipo J – primeiro entre-nó verde-claro e primeiro nó com fina faixa marrom no terço inferior;

Biótipo K - primeiro entre-nó verde-claro e primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Biótipo L – primeiro entre-nó com estrias violáceas e primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão.

Grupo 4 – formado por plantas de ciclo precoce, porte médio-alto, eretas, colmos finos, espiguetas aristadas, alongadas a muito-longadas (padrão *índica*),

glumelas de coloração palhete, folhas verdes-claras a verdes-escuras, pilosas, eretas, panículas semi-pendulares a eretas, entre-nó verde-claro.

Variações dentro do grupo:

Biótipo M - primeiro nó com fina faixa marrom no terço inferior;

Biótipo N - primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Biótipo O - primeiro nó verde-claro;

Grupo 5 – plantas de ciclo precoce, porte médio, semi-eretas, espiguetas aristadas, meio-alongadas (padrão intermediário) a alongadas (padrão *índica*), glumelas de coloração preta, folhas verdes-claras a verdes-escuras, pilosas, semi-eretas a nutantes, bainhas violáceas, panículas semi-pendulares, entre-nó verde-claro.

Variações dentro do grupo:

Biótipo P - primeiro nó com fina faixa marrom no terço inferior;

Biótipo Q - primeiro nó violáceo

Biótipo R - primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Grupo 6 – plantas de ciclo precoce, porte baixo, semi-eretas, espiguetas aristadas, meio-alongadas (padrão intermediário) a alongadas (padrão *índica*), glumelas de coloração palhete a palhete com listas marrons, folhas verdes-escuras, pilosas, semi-eretas, panículas semi-pendulares, entre-nó verde-claro.

Variações dentro do grupo:

Biótipo S - primeiro nó verde-claro;

Biótipo T - primeiro nó com fina faixa marrom no terço inferior;

Biótipo U - primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Grupo 7 – plantas de ciclo precoce, porte baixo, semi-prostradas, espiguetas aristadas, Semi-arredondadas (padrão *japonica* – Biótipo V) a alongadas (padrão *índica* – Biótipo X), glumelas de coloração preta, folhas verdes-escuras, pilosas, nutantes, panículas semi-pendulares, entre-nó verde-claro.

Variações dentro do grupo:

Biótipo V - primeiro nó com fina faixa marrom no terço inferior;

Biótipo X - primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Grupo 8 – plantas de ciclo tardio, porte baixo, colmos grossos, semi-eretas, espiguetas múticas, meio-alongadas (padrão intermediário), glumelas de coloração preta, folhas verdes-escuras, pilosas, semi-eretas, panículas semi-pendulares, entre-nó verde-claro.

Variações dentro do grupo:

Biótipo Y - primeiro nó violáceo;

Biótipo Z - primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão;

Grupo 9 – plantas de ciclo médio a tardio, porte médio, colmos grossos, arquitetura de planta aberta, espiguetas múticas, meio-alongadas (padrão intermediário), folhas verdes-escuras, glabras, nutantes, panículas semi-pendulares ou pendulares, entre-nó dourado.

Variações dentro do grupo:

Biótipo W - primeiro nó verde-claro e espiguetas com glumas de coloração palhete com listas marrons;

Biótipo W1 - primeiro nó com larga faixa marrom em toda sua extensão e espiguetas com glumas de coloração dourado-ouro;

Biótipo W2 - primeiro nó com fina faixa marrom no terço inferior e espiguetas com glumas de coloração palhete.

Grupo 10 – Grupo das cultivares intermediárias tradicionais do tipo patna com grão longo-fino (Bluebelle e Lebonet) e das cultivares tradicionais de grão curto linhagem japônica (IAS 12-9 Formosa e Japonês Grande). Plantas de ciclo médio-tardio, folhas verdes-escuras, glabras nas variedades e biótipos com tipo de espiguetas longo-fina lisas a pouco pilosas (patna) e curtas e arredondadas pilosas nas Japônicas, largas e compridas, eretas a semi-eretas (patnas) e nutantes (japônica), caule com entre-nó violáceo a dourado, espiguetas muticas palhete a dourado-ouro, panículas longas, apertadas, pendulares (japônicas) a semi pendulares (patna).

Grupo 11 – constituído pelo biótipo selvagem *Oryza glumaepatula* utilizado como grupo externo (out group) nas avaliações realizadas.

Conclusão

Observou-se grande variabilidade entre os tipos morfológicos de arroz vermelho do Rio Grande do Sul. Este polimorfismo é evidenciado pela possibilidade de agrupar os biótipos de arroz vermelho em pelo menos 10 grupos distintos quanto às características fenotípicas quantitativas e qualitativas;

Entretanto, verificou-se que os grupos não são bem estruturados em relação às características morfológicas, ocorrendo sempre biótipos intermediários entre aqueles que detêm as características principais de similaridade para o agrupamento;

Verificou-se grande similaridade de parcela significativa dos biótipos avaliados com as cultivares comerciais, principalmente com as cultivares IRGA 417 e IRGA 422 CL, de porte médio-baixo e folhas verdes e eretas, panículas semi-pendulares a semi-inclinadas e espiguetas muticas, de coloração palhete, alongadas e finas de padrão *indica*. Estes biótipos demonstram elevada hibridização com os cultivares modernos, apresentando características inerentes a cultivares, como difícil degrane das panículas, arquitetura ereta, folhas eretas e curtas e ciclo fenológico médio-precoce. Características obtidas pelos cultivares via melhoramento vegetal visando altas produtividades.

Encontrou-se um biótipo (Catuçaba 1) com elevada similaridade com a cultivar Puitá CL INTA em mais de 90% dos descritores morfológicos avaliados.

O padrão de planta do grupo *indica* predomina entre a população avaliada.

CAPÍTULO II

CARACTERIZAÇÃO DE ACESSOS POLIMÓRFICOS DE ARROZ VERMELHO (*Oryza sativa* L.) ATRAVÉS DE MARCADORES MOLECULARES

CHARACTERIZATION OF POLYMORPHIC ACCESSES OF RED RICE BY MOLECULAR MARKERS

Resumo

O arroz vermelho (*Oryza sativa* L.) co-existe com o arroz cultivado em lavouras comerciais, sendo este um dos principais entraves para o aumento da produtividade desta cultura, já que esta invasora compete pelos mesmos recursos que as cultivares necessitam. A cultura do arroz é uma das mais importantes no mundo, sendo a principal fonte nutritiva para mais da metade da população mundial., Genes para resistência a herbicidas têm se tornado uma das opções mais utilizadas em nível mundial para o controle de invasoras, sendo que os herbicidas inibidores da enzima ALS, tais como o grupo químico das imidazolinonas, são amplamente utilizadas para o controle de plantas invasoras em diversas culturas. Estes inibidores de ALS estão sendo atualmente utilizados para o controle do arroz vermelho, sendo esta tecnologia denominada Clearfield. Neste trabalho foram realizados estudos populacionais dos acessos de arroz vermelho coletados no Rio Grande do Sul. Encontrou-se uma alta contribuição genética através da hibridização e introgressão das cultivares atualmente utilizadas no Estado para as populações de arroz vermelho, sendo que alguns destes acessos apresentaram hibridização com a cultivar que apresenta o gene de resistência para os inibidores de ALS.

Palavras-chave: arroz vermelho; Clearfield; escape gênico; introgressão

Abstract

The red rice (*Oryza sativa* L.) co-exists with the rice cultivated in commercial farmings, being this one of the main impediments for the increase of the productivity of this culture, since this weed competes for the same resources that you cultivate need them. The culture of the rice is one of the most important in the world, being the

main nutritious source for more of the half of the world population. Genes for resistance to herbicides have if constituted one of the options more used in world level for the weed control, and the inhibiting herbicides of the enzyme ALS (acetolactate synthase), such as the chemical group of the imidazolinona, they are used thoroughly for the control of weeds in several cultures. These inhibitors of ALS are being used now for the control of the red rice, being this denominated Clearfield technology. In this work population studies of the accessions of red rice collected in the state of Rio Grande do Sul – Brazil were accomplished. He was a high genetic contribution through the hybridization and introgression of the modern cultivars used in the state for the red rice biotypes, and some of these accessions presented hybridization with to cultivars that it presents the resistance gene for the inhibitors of ALS.

Key words: red rice; Clearfield;

Introdução

O arroz vermelho (*Oryza sativa* L.) co-existe com o arroz cultivado em lavouras comerciais, sendo este um dos principais entraves para o aumento da produtividade desta cultura, já que esta invasora compete pelos mesmos recursos que os cultivares necessitam (luz e nutrientes). Embora o arroz vermelho apresente características fenotípicas altamente variáveis, possui traços de espécies não domesticadas do gênero *Oryza*, incluindo os mecanismos de dispersão de sementes (degrane das sementes e a presença de aristas), dormência das sementes e pigmentação escura no pericarpo, que neste caso, é avermelhado. No entanto, ao contrário das espécies verdadeiramente selvagens, o arroz vermelho está melhor adaptado para se desenvolver em áreas agrícolas, onde mimetizam e/ou melhor competem com cultivares (OLSEN et al., 2007).

A cultura do arroz (*Oryza sativa* L.) é uma das bases mais importantes para a agricultura no mundo, sendo a principal fonte nutritiva para mais da metade da população mundial (LU, 1998). O gênero *Oryza* possui aproximadamente 22 espécies, sendo que 20 são selvagens, e duas cultivadas (*Oryza sativa* e *Oryza glaberrima*). Atualmente, este gênero está dividido em quatro complexos de acordo

com o número e estrutura cromossômico: complexo *Oryza sativa* (AA), complexo *Oryza officinalis* (BB, BBCC, CC, CCDD, EE, FF), complexo *Oryza granulata* (GG) e complexo *Oryza ridleyi* (HHJJ) (VAUGHAN,1994). O complexo *O. sativa* e o complexo *O. officinalis* são os mais estudados. Os indivíduos que possuem os mesmos grupos cromossômicos (ex. AA) quando hibridizado, geralmente apresentam descendência fértil.

A hibridização entre diferentes espécies ou populações vegetais é um dos eventos mais importantes na evolução e no processo de especiação dos vegetais (RIESEBERG et al., 1993), uma vez que mais de 70% das espécies podem possuir descendência de híbridos (GRANT, 1981). Um dos principais aspectos da hibridização é a combinação das características de diferentes taxas. Essas combinações podem variar muito em termos de fertilidade e vigor, porém, a regra geral é que a primeira geração de híbridos, principalmente no cruzamento de populações geográficas ou espécies muito próximas, tendem a ultrapassar os seus parentais em vigor e robustez (RIESEBERG et al, 2000). Entretanto, o processo de hibridização e introgressão pode causar a extinção genética de uma ou de ambas espécies parentais (ELLSTRAND et al, 1993; RHYMER & SIMBERLOFF, 1996; SMALL, 1984).

A hibridização pode levar à incorporação de um novo gene ou alelo raro ao *pool* gênico de uma população para uma ou mais populações (FUTUYMA, 1998). Este processo é denominado de introgressão. Quando estes genes ou alelos raros permanecem e aumentam suas frequências nas populações receptoras, este fluxo gênico pode levar a uma significativa mudança evolutiva nestas populações beneficiadas (ELLSTRAND et al., 1999). Quando esse fluxo gênico ocorre das plantas domesticadas para as suas respectivas invasoras (ex. arroz cultivar e o arroz vermelho) estas podem passar características que contribuam com o aumento da capacidade de competição, tendo isso, importância prática, econômica e ambiental.

As interações entre cultivares e suas parentes selvagens ou plantas daninhas tornou-se uma área de recente interesse, pois compreender como e a que taxas estes fluxos gênicos ocorrem tornou-se uma questão importante para criar estratégias de controle destas plantas que competem com as culturas. Genes para resistência a herbicidas têm se tornado uma das opções mais utilizadas em nível mundial para o controle de plantas daninhas, sendo que os inibidores da enzima

ALS (Acetolactato Sintase), como as do grupo químico das imidazolinonas, são amplamente utilizadas para o controle de plantas invasoras em diversas culturas.

A enzima Acetolactato Sintase (ALS ou Acetohidroxiácido Sintase – AHAS, ambos sinônimos) é de vital importância para as plantas, pois é necessária sua atividade enzimática nos primeiros passos da biossíntese de aminoácidos de cadeia aberta como a leucina, isoleucina e valina (TAN et al, 2005). A presença de herbicidas inibidores desta enzima acarreta na inatividade desta e conseqüentemente na morte da planta, pois com a falta destes aminoácidos essenciais, o metabolismo celular ficará comprometido. O mecanismo de resistência a estes inibidores da ALS é atribuído principalmente a uma alteração na sequência de DNA do gene que codifica a enzima ALS (HINZ & OWEN 1997; SAARI et al., 1994; TRANEL & WRIGHT, 2002), com um ou vários pontos de mutações (SUBRAMANIAN et al., 1996; WRIGHT et al., 1998). Diversos pontos de mutações que conferem resistência a estes herbicidas foram identificados em muitas espécies de plantas (GRESSEL, 2002; TRANEL & WRIGHT, 2002). Estes inibidores de ALS estão sendo utilizados para o controle do arroz vermelho. Esta tecnologia denominada Clearfield® (CL) patenteada pela Empresa BASF, consiste em uma linhagem de arroz obtida através de mutagênese (CROUGHAN, 1996), que possui um alelo mutado que lhe confere resistência a estes herbicidas. Nos últimos anos tem sido reportados casos de escape gênico de cultivares resistentes para o arroz vermelho (SHIVRAIN et al., 2006; ZHANG et al., 2006; SHIVRAIN et al., 2007; ZHANG et al., 2008).

O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise das populações de arroz vermelho do Estado do Rio Grande do Sul e averiguar suas interações com as Cultivares. Com os resultados foi possível visualizar o processo de introgressão de alelos dos cultivares para as populações de arroz vermelho, sendo a cultivar IRGA 417 o principal doador. Também observamos o escape do gene ALS-tolerante/resistente (AHAS) para acessos de arroz vermelho, sendo que este gene possivelmente é oriundo da cultivar IRGA 422CL, demonstrando assim existir problemas desta tecnologia envolvendo sustentabilidade ambiental e com a biossegurança.

Materiais e métodos

Amostragem

Oitenta e quatro acessos de arroz vermelho foram coletados nas localidades de Arroio Grande (3 acessos), Alegrete (5), Camaquã (6), Candelária (1), Cerro Branco (1), Capão da Porteira (2), Capané (2), Capivarí do Sul (3), Cristal (1), Catuçaba (1), Dona Francisca (3), Eldorado do Sul (4), Faxinal do Soturno (5), Guaíba (3), Itaqui (3), Jaguarí (1), Mostardas (2), Mata (2), Manoel Viana (2), Osório (1), Palmares do Sul (1), Pelotas (1), Pantâneo Grande (1), Paraíso do Sul (2), Restinga Seca (3), Rio Pardo (1), Rosário do Sul (1), Santo Antônio da Patrulha (2), São Borja (3), São Francisco de Assis (2), São Gabriel (2), Santa Maria (4), São Pedro do Sul (1), São Vicente do Sul (2), Terra de Areia (1), Torres (1); Uruguaiana (2) e Viamão (3). Estes locais de coletas representam as principais regiões rizícolas do estado do Rio Grande do Sul. As coletas foram realizadas nas safras de 2005 e 2006. Em adição aos 84 acessos, para as análises dos microssatélites incluímos 3 cultivares de origem índica (CICA 9, IRGA 417, IRGA 422CL), 2 de origem japônica (Formosa e Japonês Grande) e duas tradicionais do tipo patna (Blue Belle e Lebonet). Como grupo externo utilizamos a espécie *Oryza glumaepatula*, nativa da América do Sul coletada em novembro de 2007 na Lagoa dos Índios da Raposa Serra do Sol no norte do estado de Roraima.

Extração de DNA.

O DNA foi extraído de tecido foliar congelado utilizando o protocolo descrito por Oliveira *et al.*, (2009). Para as PCRs (Polymerase Chain Reaction) foi utilizado uma alíquota de DNA de trabalho, no qual o DNA genômico obtido na extração foi diluído em 1:10 de H₂O ultrapura (MILLI-Q).

Amplificação e análise dos Microssatélites

Para esta análise foram utilizados cinco loci de microssatélites: RM154 descrito por AKAGI *et al.*, (1996), RM204 e RM212 descrito por CHEN *et al.*, (1997), RM422 e RM545 descrito por TEMNYKH *et al.*, (2001). Na amplificação dos microssatélites a concentração final da reação de PCR utilizada foi de 10ul com as seguintes concentrações: 1 ul de Buffer 10x (1x final), 0,3 ul de MgCl₂ (1,5mM), 1ul da mistura de dNTP 2 mM (0,2 mM), 0,3 ul de cada primer (Forward e Reverse) a 20

pM (0,6 pM), 0,1 ul de Taq DNA polimerase da Invitrogen a 5U/ul (0,5 U) e 1 ul da alíquota de DNA de trabalho. As condições de PCR foram as seguintes: 94°C por 4 minutos, 34 ciclos de 94°C durante 1 minuto, 55°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos, e no final uma etapa de extensão a 72°C por 5 minutos, para os conjuntos de primers RM204, RM212, RM422 e RM545 foi utilizado este programa. Para o conjunto de primers para o *loco* RM154, foi utilizada a temperatura de anelamento de 61°C no lugar de 55°C. Os amplicons foram submetidos à eletroforese vertical em matriz de poliacrilamida 6% desnaturante 8M de uréia (CRESTE et al., 2001). Os géis foram corados com nitrato de prata segundo SANGUINETTI et al., (1994). Para aumentar a confiabilidade da interpretação dos eletroferogramas, como normalizadores, foi utilizado, além do *Ladder 10bp* (Invitrogen), os amplicons resultantes dos PCRs da cultivar IRGA 417 para os 5 locos de microssatélites analisados. Para a determinação das bandas, foi utilizado o software Gel-Pro Analyzer 3.1 (MEDIA CYBERNETICS).

Para o cálculo do número de heterozigotos (H_o e H_e), frequência dos alelos, cálculo do valor de F_{st} para os diferentes grupos de arroz foi utilizado o programa Arlequin 3.0 (EXCOFFIER et al., 2005). A inferência filogenética foi realizada com o método Neighbor Joining, utilizando o programa PAUP*4 (SWOFFORD, 2001) com os parâmetros *Set Criterion=Distance; BootStrap NReps=5000 Search=NJ*;. Para inferir a estrutura populacional e a origem dos acessos de arroz vermelho foi utilizado o programa STRUCTURE (FALUSH et al., 2007). Os parâmetros de corrida do STRUCTURE incluíram um *burn-in* de 3000, um *run length* de 100 000, e *model allowing admixture e correlated allele frequencies between population* (GARRIS et al., 2005; LONDON et al., 2007). A representação gráfica do resultado do STRUCTURE foi produzida utilizando o software DISTRUCT (ROSENBERG, 2002).

Amplificação e análise do Gene ALS

Foram utilizados representantes dos principais agrupamentos formados nas análises de inferência filogenia e estrutura populacional baseados nos dados de microssatélites. Assim, os acessos nesta análise foram: Catuçaba 1 , Guaíba 2, Santo Antonio da Patrulha1. Também foram utilizados os cultivares IRGA 417 e IRGA 422 CL. Para a amplificação parcial, da porção codificadora terminal (3') do

gene ALS foram utilizados os primers "IV Reverse" e "V Reverse" descritos por RAJGURU et al., (2005). O volume final da reação de PCR utilizado foi de 25ul com as seguintes concentrações: 1 ul de Buffer 10x (1x final), 0,3 ul de MgCl₂ (1,5mM), 1ul da mistura de dNTP 2 mM (0,2 mM), 0,3 ul de cada primer (Forward e Reverse) a 20 pM (0,6 pM), 0,1 ul de Taq DNA polimerase (Invitrogen) a 5U/ul (0,5 U) e 1 ul da alíquota de DNA de trabalho. O programa do termociclador utilizado continha os seguintes ciclos e temperaturas: 94°C por 4 minutos, 34 ciclos de 94°C durante 1 minuto, 55°C por 30 segundos, 72°C por 30 segundos, e no final uma etapa de extensão a 72°C por 5 minutos. Para cada acesso sequenciado, foram realizados 3 sequenciamentos de reações de PCR diferentes. As sequências foram montadas no programa Staden package 1.7 (STADEN et al., 2000), posteriormente alinhadas no programa ClustalW (THOMPSON et al., 1994) e suas proteínas "predicadas" no Genedoc (NICHOLAS et al., 1997). Utilizamos também uma sequência já depositada no Genebank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) do gene ALS para *Oryza sativa*, sendo este o acesso AY885673, depositado por RAJGURU et al., (2005).

Resultados e Discussão

Análise dos Microssatélites

Heterozigose, Riqueza Alélica, Distância Genética

O número de heterozigotos observados para o arroz vermelho foi de $H_o = 0.04909$, enquanto o valor esperado era de $H_e = 0.53939$. Este resultado infere que a via preferencial de reprodução para os acessos de arroz vermelho é a autofecundação. Isso também pode ser interpretado como uma vantagem para a homozigose em relação aos heterozigotos, por isso ocorre esta baixa frequência de heterozigose nestas populações.

O arroz vermelho apresentou uma média de 4.6 alelos por loco, sendo que o loco RM545 apresentou 3 alelos, o loco RM244 8 alelos, e os demais locos (RM154, RM204, RM212) apresentaram 4 alelos cada. A TABELA 5 contém os valores de distância F_{st} entre os diferentes grupos de arroz. O menor valor obtido foi entre os cultivares *índica* e os biótipos de arroz vermelho (0.10956). As distâncias entre os cultivares japônica e os cultivares *índica* foram praticamente às mesmas obtidas

entre os cultivares *japonica* e os biótipos de arroz vermelho (0.43685 e 0.42582 respectivamente). *Oryza glumaepatula* apresentou menores distâncias com os cultivares *índica* e com os acessos de arroz vermelho quando comparado com os cultivares *japonica* (0.45017, 0.49119 e 0.73284 respectivamente). Isto se deve ao fato de que houveram programas de melhoramento de cultivares *índica* realizados pela EMBRAPA (2006) nos quais foram utilizados a espécie selvagem *Oryza glumaepatula* como fonte de recurso genético para este programa. Com os dados de distância F_{st} (TABELA 5) é possível inferir dois possíveis cenários não independentes: O primeiro é que provavelmente, o arroz vermelho existente no estado do Rio Grande do Sul, possui descendência de uma linhagem de origem *índica*, e por isso apresenta uma baixa distância genética com os cultivares *índica* em relação aos cultivares *japonica*. Outra possível explicação está relacionada com os eventuais cruzamentos entre os cultivares *índica* e os biótipos de arroz vermelho. Neste cenário, os híbridos produzidos, por adquirirem características agrônomicas desejáveis somente aos cultivares, tornar-se-ão mais competitivos e deixarão mais descendentes no ambiente onde estão sendo reproduzidos. Como a via de cruzamento preferencial é a autogamia (autofecundação), a F1 destes híbridos já apresenta indivíduos homocigotos.

A TABELA 6 apresenta as porcentagens para provável procedência dos alelos encontrados nas populações de arroz vermelho. Foi estipulado que 50,21% dos alelos presentes nos biótipos de arroz vermelho coletados no Estado do Rio Grande do Sul são compartilhados com a cultivar IRGA 417, 23,35% dos alelos são compartilhados com a cultivar IRGA 422 CL, 2,27% de outros cultivares *índica* e 5,79% de cultivares de origem *japonica*. Somente 18,39% dos alelos encontrados nas amostras de arroz vermelho estão presentes apenas nestas populações, não sendo encontradas nas cultivares analisadas neste trabalho.

O fato de que o maior percentual de alelos encontrados em biótipos de arroz vermelho são compartilhados com a cultivar IRGA 417 deve estar relacionado ao tempo de cultivo deste material no Estado (14 anos desde o lançamento). Certamente, durante este período, a cultivar IRGA 417 teve tempo suficiente para espalhar seus alelos pelas populações de arroz vermelho ocorrentes nos diferentes ambientes de cultivo rizícola do Rio Grande do Sul.

Inferência Filogenética

A análise filogenética (Figura 2) realizada com o método Neighbor Joining apresentou inicialmente dois grandes grupos. O primeiro grupo é formado apenas por cultivares tradicionais de origem japônica (J) e tradicionais do tipo patna. O segundo grupo (I) é formado por cultivares de origem *índica* e os acessos de arroz vermelho. Este grupo está subdividido em 5 subgrupos. O primeiro subgrupo (I1), mais basal, é representado pela cultivar IRGA 422 CL e 12 acessos de arroz vermelho. O Segundo (I2), o terceiro (I3) e o quinto (I5) subgrupos são formados, respectivamente, por 20, 11 e 22 acessos de arroz vermelho. O quarto subgrupo está representado por 19 acessos de Arroz Vermelho e a cultivar IRGA 417.

Inferência da estrutura populacional

O software STRUCTURE utiliza um método de agrupamento Baiano (PRITCHARD et al., 2000) para examinar o agrupamento de indivíduos baseado no desequilíbrio de ligação entre os marcadores e na diferença entre a frequência dos alelos dos diferentes locos testados, atribuindo às amostras um hipotético número de populações (K). Com a utilização desta abordagem obtivemos o valor de K=7 como o que melhor representa a estrutura populacional de todas as amostras. Com exceção da cultivar Formosa, os cultivares tradicionais do tipo *japônica* e os tradicionais do tipo patna, formam uma população bem estruturada. Isto deve-se à menor utilização destes materiais na atualidade, sendo pouco cultivados neste momento no Rio Grande do Sul. Com isso, pouca hibridização entre cultivar e biótipo de arroz vermelho ocorre, permanecendo este grupo mais estruturado nas análises realizadas. A espécie *O. glumaepatula*, utilizado como grupo externo, também formou um grupo à parte e geneticamente distante dos demais grupos observados. Neste trabalho os acessos de arroz vermelho, juntamente com os cultivares de origem *índica*, formaram cinco populações, sendo que ocorrem acessos intermediários entre elas, ou seja, as populações não estão totalmente estruturadas. Neste cenário as populações de arroz vermelho relacionadas com a cultivar IRGA 422 CL e a cultivar IRGA 417 são bem visíveis nesta abordagem.

Sequenciamento parcial do gene ALS

A análise das sequências parciais do gene ALS (Figura 4) mostrou que o acesso CTÇB1 (Catuçaba 1) coletado na depressão central do Rio Grande do Sul em área de dois anos de cultivo com o sistema Clearfield, possui o mesmo alelo de resistência que a cultivar IRGA 422 CL, e a proteína predicada (Figura 5) apresenta a mutação do aminoácido Glutamina para Glicina, na posição importante da enzima que confere a resistência ao imazetapir, segundo OTT et al., (2006). O acesso SAP1 (Santo Antônio da Patrulha 1) possui o mesmo alelo que a cultivar IRGA 417. O acesso GUA2 (Guaíba 2) possui um alelo diferente dos cultivares, e gera uma proteína parcial igual a sequência AY885673 depositada no gene bank.

A análise da heteroziguidade nas populações de arroz vermelho mostram que o número de heterozigotos esperados (H_e) é muito superior aos heterozigotos observados (H_o). Os resultados experimentais demonstraram existir poucos indivíduos heterozigotos nas populações de arroz vermelho avaliadas. Resultados semelhantes foram descritos por LONDO et al., (2007) e CAO et al., (2006). Estes resultados devem estar associados ao fato de que a via preferencial para reprodução no gênero *Oryza* é a autofecundação, (ZHANG et al., 2003; ZHANG et al., 2006). Neste contexto, podemos inferir que o fluxo gênico do arroz cultivar para populações de arroz vermelho ocorre em baixos níveis. Quando analisada a distância F_{st} , uma medida de distância genética observou-se que os acessos de arroz vermelho estão geneticamente muito mais relacionados com as cultivares *índica* do que com os demais grupos de arroz. Os valores encontrados para a distância genética entre as cultivares *índica* e *japonica* foram próximos dos resultados de GARRIS et al., (2005), porém a divergência encontrada entre o arroz vermelho e as cultivares *índica* foi menor do que os resultados de LONDO et al., (2007). Essa diferença nos resultados é um dos motivos pelo qual não podemos apontar a origem do arroz vermelho do estado do Rio Grande do Sul, pois estes já sofreram diversos ciclos de hibridização e seleção, no qual seu conjunto (“pool”) gênico foi modificado, tornando o arroz vermelho do Rio Grande do Sul muito mais próximo das cultivares *índica* do que do seu possível ancestral.

Tabela 4 – Valores de F_{st} entre os grupos analisados do gênero *Oryza* – UFSM, 2008.

	Arroz vermelho	Cultivares <i>índica</i>	Cultivares <i>japonica</i>	<i>Oryza glumaepatula</i>
Arroz vermelho	0			
Cultivares <i>índica</i>	0.10956	0		
Cultivares <i>japonica</i>	0.43685	0.42582	0	
<i>Oryza glumaepatula</i>	0.49119	0.45017	0.73284	0

Com a análise filogenética é possível visualizar que as relações de parentesco entre os acessos de arroz vermelho ocorrem, principalmente, pelo compartilhamento dos alelos das Cultivares IRGA 417 e IRGA 422CL. Não foi observado uma associação entre os acessos de arroz vermelho formando um agrupamento separado, como era esperado. Ao contrário, eles estão geneticamente muito próximos aos cultivares mais plantados no Rio Grande do Sul. A análise da estruturação populacional nos permite visualizar que existem intersecções entre as populações. Estas intersecções ocorrem pelos indivíduos intermediários entre duas ou mais populações. Isto provavelmente se deve ao fato de que um híbrido de arroz vermelho com um cultivar, irá recombinar seus alelos na meiose e formar vários haplótipos diferentes em sua prole. Com o passar das gerações, alguns haplótipos (os mais vantajosos) irão aumentar sua frequência. Estas combinações aleatórias entre alelos de cultivares e os biótipos de arroz vermelho pode ser um dos principais fatores para a variabilidade morfológica que os acessos de arroz vermelho apresentam.

A análise filogenética sugere que cerca de 85,7% da população de arroz vermelho forma um grupo mais relacionado com a cultivar IRGA 417. Confrontando esses dados com a porcentagem de alelos deste cultivar presente nos biótipos de arroz vermelho (~50,21%), é observável que cultivares como o IRGA 417 são, hoje, os maiores contribuidores de alelos para estes acessos de arroz vermelho. Este resultado provavelmente está associado ao tempo de utilização deste cultivar, pois durante os últimos 14 anos ele tem sido um dos mais semeados no estado do Rio Grande do Sul (IRGA, 2008)

A cultivar IRGA 422 CL é, atualmente, o segundo doador de alelos para as populações de arroz vermelho. Este cultivar começou a ser oficialmente semeado no

estado do Rio Grande do Sul a partir da safra 2002/2003. Outro fato a ser destacado está relacionado ao gene AHAS (ALS-tolerante/resistente). Observou-se neste trabalho que alguns acessos de arroz vermelho (por exemplo: Catuçaba 1) e a cultivar IRGA 422CL compartilham o gene de resistência. Os dados apontam que este compartilhamento não se deu por ancestralidade ou ao acaso e sim por hibridização, pois o biótipo Catuçaba 1 compartilha além do alelo de ALS-tolerante/resistente, outros alelos de microssatélites com a cultivar IRGA 422CL. Vários trabalhos já realizaram experimentos relatando a possibilidade de escape gênico de cultivares Clearfield para o arroz vermelho. SHIVRAIN et al., (2007) demonstraram que para cada hectare cultivado ocorria 170 indivíduos híbridos entre a Cultivar CL e os biótipos de arroz vermelho. ZHANG et al., (2006) obtiveram, para as amostras segregantes, uma proporção de 3 indivíduos resistentes para 1 indivíduo suscetível, concluindo que o alelo de resistência é dominante em relação ao alelo suscetível. ZHANG et al., (2008) concluíram que a F1 de indivíduos híbridos de cultivares CL e arroz vermelho apresentavam baixa capacidade reprodutiva da semente, porém sua progênie F2, pode apresentar altos níveis de fecundidade. Os trabalhos acima relatados, não colocam em cheque a tecnologia Clearfield, ao contrário, afirmam que se deve buscar reduzir os níveis de escape gênico (por diferentes métodos de combate à invasora) para que a tecnologia possa ser utilizada com sustentabilidade.

Esses resultados nos mostram que ocorrem baixas taxas de troca gênica entre os cultivares e os biótipos de arroz vermelho. Porém, como o ambiente agrícola é extremamente seletivo, os indivíduos de arroz vermelho que adquirirem características agrônômicas de interesse para os cultivares, através da hibridização, serão mais competitivos, e conseqüentemente, deixarão mais descendentes para as próximas safras, aumentando assim a frequência desses alelos nestas populações. Como a recombinação dos alelos durante a meiose propicia a produção de diversos haplótipos, ocorrerá um aumento da variabilidade morfológica (biótipos polimórficos), dificultando sua estruturação populacional.

Quando foi inserido a cultivar IRGA 422 CL nas lavouras de arroz irrigado do estado do Rio Grande do Sul, deve ter ocorrido o processo acima descrito, mas com uma pressão de seleção bem maior pelo uso intensivo de herbicida imidazolinona, na qual os indivíduos possuidores do alelo de resistência podem ter aumentado rapidamente suas frequências nas populações de arroz vermelho, surgindo

populações de biótipos como o Catuçaba 1 (portadores do gene de resistência ALS-tolerante/resistente) colocando em cheque a utilização desta ferramenta de controle do arroz vermelho via combinação de dose do herbicida imidazolinona e cultivares mutadas tolerantes/resistentes como IRGA 422CL e Puitá CL INTA registradas no Brasil para o sistema Clearfield. Neste sentido, deve-se considerar futuramente que estes escapes gênicos estão produzindo biótipos de arroz vermelho muito mais danosos para o ambiente de produção de arroz irrigado do Rio Grande do Sul e em curto espaço de tempo (imprevisível) esta tecnologia poderá se perder e agronomicamente tornar-se inviabilizada.

Tabela 5 - Porcentagem de alelos de diferentes grupos de arroz cultivar e arroz vermelho, presentes nas populações de arroz vermelho estudadas. Santa Maria, UFSM, 2008.

	Número de alelos	Porcentagem (%)
Arroz vermelho	89	18,39
IRGA 417	243	50,21
IRGA 422 CL	113	23,35
Outros cultivares <i>índicas</i>	11	2,27
Outros cultivares japônicas	28	5,79
Total	484	100

Conclusão

Este estudo mostra claramente que a introgressão é um importante componente para a formação da base genética do arroz vermelho e expressiva fonte de variabilidade que esta planta daninha utiliza para responder às diferentes metodologias utilizadas no seu controle. Mostra também um exemplo de como ocorre a co-evolução cultivar-planta daninha.

É importante salientar, também, que a compreensão dos processos de interação genética entre cultivar-planta daninha, quando esta possui fluxo gênico com a cultivar, como no caso aqui descrito para o arroz cultivar e biótipos de arroz vermelho é de extrema importância para previsões na utilização de novas tecnologias, diminuindo os riscos de possíveis problemas com a biossegurança e impactos ambientais e econômicos.

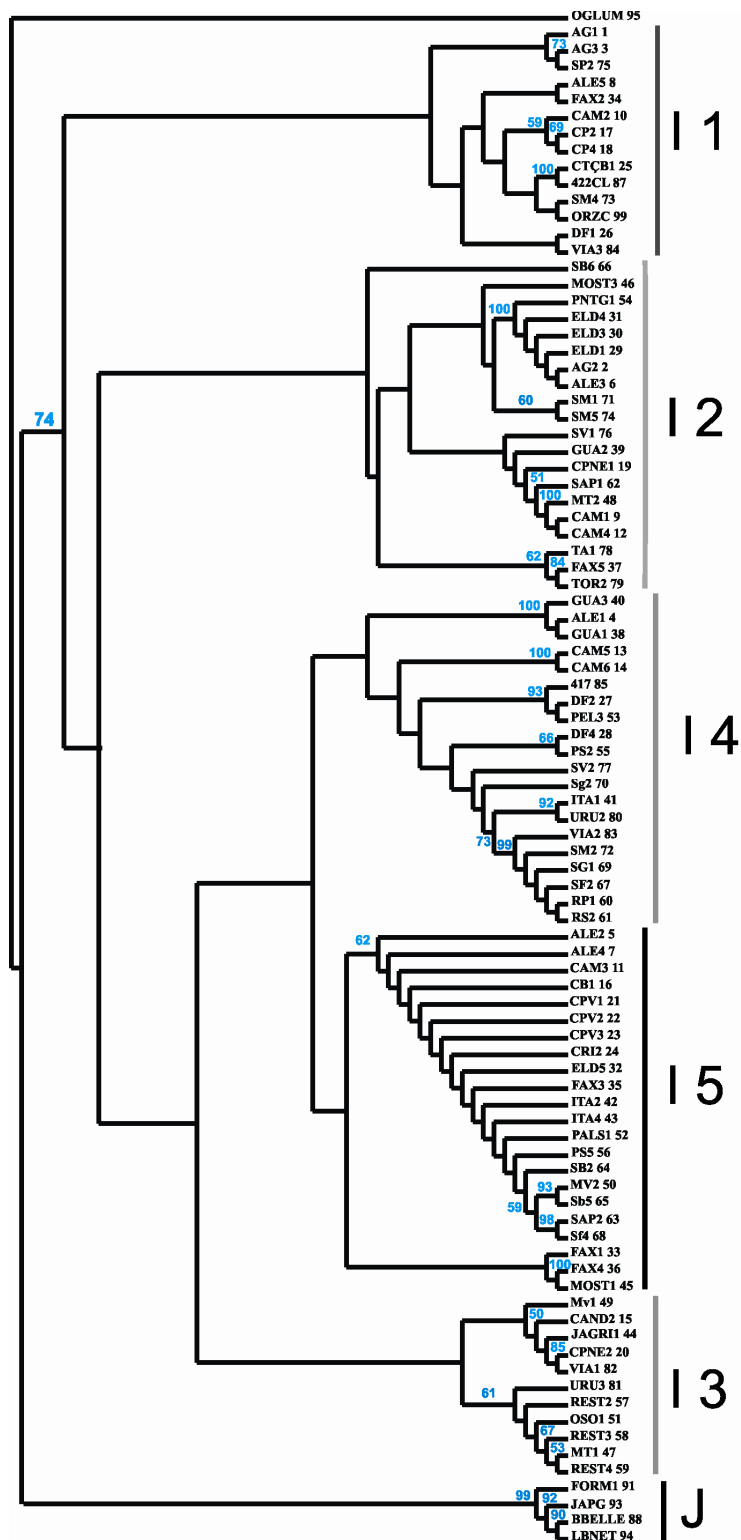


Figura 2 - Inferência filogenética dos acessos de arroz vermelho cultivares indica e japônica e da espécie selvagem *Oryza glumaepatula* utilizando o método Neighbor Joining – UFSM, 2008 .

Tabela 6 – Listagem de biótipos utilizados na construção do gráfico de inferência filogenética e respectivos números. USFM, 2008.

Lista de biótipos de arroz vermelho analisadas no estudo de estruturação populacional e respectivos números para análise do gráfico – UFSM, 2008		
1. Arroio Grande 1	39. Guaíba 2	77. São Vicente do Sul 2
2. Arroio Grande 2	40. Guaíba 3	78. Terra de Areia 1
3. Arroio Grande 3	41. Itaqui 1	79. Torres 2
4. Alegrete 1	42. Itaqui 2	80. Uruguaiana 2
5. Alegrete 2	43. Itaqui 4	81. Uruguaiana 3
6. Alegrete 3	44. Jaguari 1	82. Viamão 1
7. Alegrete 4	45. Mostardas 1	83. Viamão 2
8. Alegrete 5	46. Mostardas 3	84. Viamão 3
9. Camaquã 1	47. Mata 1	85. IRGA 417
10. Camaquã 2	48. Mata 2	86. IRGA 417 F1
11. Camaquã 3	49. Manoel Viana 1	87. IRGA 422 CL
12. Camaquã 4	50. Manoel Viana 2	88. Bluebelle
13. Camaquã 5	51. Osório 1	89. Cica 9
14. Camaquã 6	52. Palmares do Sul 1	90. SCS Epagri 115
15. Candelária 2	53. Pelotas 3	91. Formosa
16. Cerro Branco 1	54. Pantâno Grande 1	92. Francis
17. Capão da Porteira 2	55. Paraíso do Sul 2	93. Japonês Grande
18. Capão da Porteira 4	56. Paraíso do Sul 5	94. Lebonet
19. Capané 1	57. Restinga Seca 2	95. <i>Oryza glumaepatula</i> 1
20. Capané 2	58. Restinga Seca 3	96. <i>Oryza glumapetula</i> 2
21. Capivari do Sul 1	59. Restinga Seca 4	97. <i>Oryza glumaepatula</i> 3
22. Capivari do Sul 2	60. Rio Pardo 1	98. <i>Oryza glumaepatula</i> 4
23. Capivari do Sul 3	61. Rosário do Sul 2	99. Oryzica
24. Cristal 2	62. Sto Antonio da Patrulha 1	100. Puitá CL INTA
25. Catuçaba 1	63. Sto Antonio da Patrulha 2	
26. Dona Francisca 1	64. São Borja 2	
27. Dona Francisca 2	65. São Borja 5	
28. Dona Francisca 4	66. São Borja 6	
29. Eldorado do Sul 1	67. São Francisco de Assis 2	
30. Eldorado do Sul 3	68. São Francisco de Assis 4	
31. Eldorado do Sul 4	69. São Gabriel 1	
32. Eldorado do Sul 5	70. São Gabriel 2	
33. Faxinal do Soturno 1	71. Santa Maria 1	
34. Faxinal do Soturno 2	72. Santa Maria 2	
35. Faxinal do Soturno 3	73. Santa Maria 4	
36. Faxinal do Soturno 4	74. Santa Maria 5	
37. Faxinal do Soturno 5	75. São Pedro do Sul 2	
38. Guaíba 1	76. São Vicente do Sul 1	

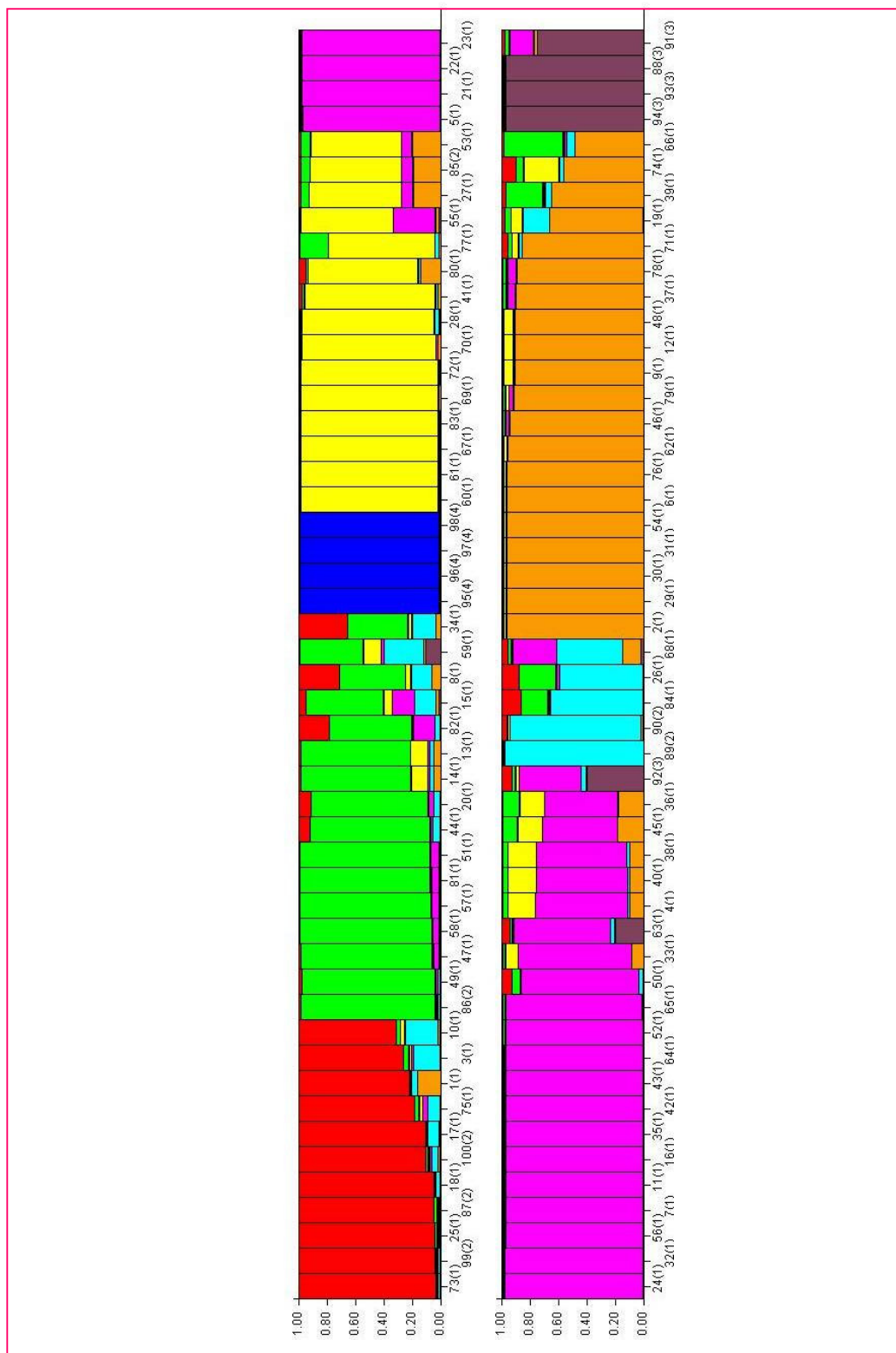


Figura 3 - Estrutura populacional dos cultivares de arroz irrigado, dos biótipos de arroz vermelho do grupo *indica* e *japonica* e da espécie selvagem *Oryza glumaepatula* – UFSM, 2008.

```

          *      20      *      40      *      60
IRGA_422CL : GGCAACCCAGAATGTGAGAGCGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATATT : 66
CTÇB1      : GGCAACCCAGAATGTGAGAGCGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATATT : 66
SAP1       : GGCAACCCAGAATGTGAGAGCGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATATT : 66
IRGA_417   : GGCAACCCAGAATGTGAGAGCGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATATT : 66
AY885673   : GGCAACCCAGAATGTGAGAGCGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATATT : 66
GUA2       : GGCAACCCAGAATGTGAGAGCGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATATT : 66
GGCAACCCAGAATGTGAGAGCGAGATATATCCAGATTTTGTGACTATTGCTAAAGGGTTCAATATT

          *      80      *      100     *      120     *
IRGA_422CL : CCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAGAAGATGCTCGAGACCCCA : 132
CTÇB1      : CCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAGAAGATGCTCGAGACCCCA : 132
SAP1       : CCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAGAAGATGCTCGAGACCCCA : 132
IRGA_417   : CCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAGAAGATGCTCGAGACCCCA : 132
AY885673   : CCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAGAAGATGCTCGAGACCCCA : 132
GUA2       : CCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAGAAGATGCTCGAGACCCCA : 132
CCTGCAGTCCGTGTAACAAAGAAGAGTGAAGTCCGTGCCGCCATCAAGAAGATGCTCGA ACCCCA

          140     *      160     *      180     *      2
IRGA_422CL : GGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCACACCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGAG : 198
CTÇB1      : GGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCACACCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGAG : 198
SAP1       : GGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCACACCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGAG : 198
IRGA_417   : GGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCACACCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGAG : 198
AY885673   : GGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCACACCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGAG : 198
GUA2       : GGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCACACCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTGAG : 198
GGGCCATACTTGTGGATATCATCGTCCCACACCAGGAGCATGTGCTGCCTATGATCCCAAGTG G

          00      *      220     *      240     *      260
IRGA_422CL : GGCGCATTCAAGGACATGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACTATGTATTAATCTATAATCTGTATG : 264
CTÇB1      : GGCGCATTCAAGGACATGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACTATGTATTAATCTATAATCTGTATG : 264
SAP1       : GGCGCATTCAAGGACATGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACTATGTATTAATCTATAATCTGTATG : 264
IRGA_417   : GGCGCATTCAAGGACATGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACTATGTATTAATCTATAATCTGTATG : 264
AY885673   : GGCGCATTCAAGGACATGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACTATGTATTAATCTATAATCTGTATG : 264
GUA2       : GGCGCATTCAAGGACATGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACTATGTATTAATCTATAATCTGTATG : 264
GGCGCATTCAAGGACATGATCCTGGATGGTGATGGCAGGACT TGTATTAATCTATAATCTGTATG

          *      280
IRGA_422CL : TTGGCAAAGCACCCAGCCCGGCCTAT : 289
CTÇB1      : TTGGCAAAGCACCCAGCCCGGCCTAT : 289
SAP1       : TTGGCAAAGCACCCAGCCCGGCCTAT : 289
IRGA_417   : TTGGCAAAGCACCCAGCCCGGCCTAT : 289
AY885673   : TTGGCAAAGCACCCAGCCCGGCCTAT : 289
GUA2       : TTGGCAAAGCACCCAGCCCGGCCTAT : 289
TTGGCAAAGCACCCAGCCCGGCCTAT

```

Figura 4 - Alinhamento do gene ALS das Cultivares IRGA 422 CL, IRGA 417, os acessos de arroz vermelho CTÇB1 (Catuçaba 1), GUA2 (Guaíba 2) e SAP1 (Santo Antonio da Patrulha 1), também foi utilizado o acesso AY885673, representando o genoma de *Oryza sativa indica*.

```

          *          20          *          40          *          60
IRGA_422CL : GNPECESEIYPDFVTTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIKKMLETPGPYLLDIIVPHQEHVLPMIPSEGG : 67
CTÇB1      : GNPECESEIYPDFVTTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIKKMLETPGPYLLDIIVPHQEHVLPMIPSEGG : 67
SAP1       : GNPECESEIYPDFVTTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIKKMLETPGPYLLDIIVPHQEHVLPMIPSEGG : 67
IRGA_417   : GNPECESEIYPDFVTTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIKKMLETPGPYLLDIIVPHQEHVLPMIPSEGG : 67
AY885673   : GNPECESEIYPDFVTTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIKKMLDTPGPYLLDIIVPHQEHVLPMIPSEGG : 67
GUA2       : GNPECESEIYPDFVTTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIKKMLDTPGPYLLDIIVPHQEHVLPMIPSEGG : 67
          GNPECESEIYPDFVTTIAKGFNIPAVRVTKKSEVRAAIKKML TPGPYLLDIIVPHQEHVLPMIPSEGG

          *          80          *
IRGA_422CL : AFKDMILDGDGRTMY*SIICMLAKHQ PGL : 95
CTÇB1      : AFKDMILDGDGRTMY*SIICMLAKHQ PGL : 95
SAP1       : AFKDMILDGDGRTMY*SIICMLAKHQ PGL : 95
IRGA_417   : AFKDMILDGDGRTMY*SIICMLAKHQ PGL : 95
AY885673   : AFKDMILDGDGRTVY*SIICMLAKHQ PGL : 95
GUA2       : AFKDMILDGDGRTVY*SIICMLAKHQ PGL : 95
          AFKDMILDGDGRT6Y SIICMLAKHQ PGL

```

Figura 5 - Proteína predita a partir da sequência do gene ALS, onde o aminoácido Glutamina é trocado por Glicina, sendo este o responsável pela resistência ao herbicida do grupo químico das imidazolinonas.

CAPITULO III

SUSCETIBILIDADE DE BIÓTIPOS DE ARROZ VERMELHO E DE CULTIVARES DE ARROZ IRRIGADO AO HERBICIDA IMAZETAPIR.

RED RICE BIOTYPES AND RICE CULTIVARS SUSCEPTIBILITY TO HERBICIDE IMAZETHAPYR

Resumo

Realizou-se uma avaliação de cinco biótipos de arroz vermelho (acessos Santa Maria 5, Pelotas 3, Rio Pardo 1, Manoel Viana 2 e Catuçaba 1) e três cultivares comerciais de arroz: duas cultivares Clearfield® (Irga 422 CL e Puitá CL INTA) e uma cultivar convencional (Irga 417), para verificação da suscetibilidade destes à fitointoxicação pelo herbicida imazetapir. Utilizou-se a metodologia de curvas dose-resposta proposta por SEEFELDT et. al., (1995). A metodologia de curvas de resposta foi gerada a partir dos parâmetros do modelo logístico e dos valores de I_{50} . Esta metodologia pode ser empregada para descrever a resposta biológica de uma planta e a influência dos fatores ambientais às doses crescentes de um determinado herbicida. O experimento foi conduzido em casa de vegetação no Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria. Os biótipos de arroz vermelho e os cultivares foram submetidos a seis doses do herbicida imazetapir (0; 0,312; 0,625; 1,25; 2,5 e 5,0 L.ha⁻¹). As plantas de arroz foram contadas e coletadas no 20º dia após a aplicação dos tratamentos. A análise do percentual de dano foi realizada através de avaliação visual da fitointoxicação (%), massa verde e massa seca das plantas. Os dados obtidos foram submetidos à análise da variância (ANOVA) que constatou que houve diferença significativa a 1% de probabilidade de erro (Tukey) entre os cultivares e os biótipos e as doses de imazetapir. Analisando-se as curvas e os resultados da análise da variância pode-se inferir que as cultivares Clearfield Irga 422 CL e Puitá CL INTA foram significativamente iguais ao biótipo de arroz vermelho Catuçaba 1 e toleraram doses de imazetapir superiores à dose recomendada em campo para o sistema Clearfield®. Os biótipos Manoel Viana 2, Santa Maria 5 e Pelotas 3 agruparam-se com a cultivar convencional IRGA 417, sendo suscetíveis à dose comercial do herbicida. O biótipo Rio Pardo 1 é tolerante ao herbicida imazetapir e formou um

grupo intermediário entre os cultivares CL com o biótipo resistente e a cultivar suscetível com os biótipos suscetíveis.

Palavras-chave: imazetapir; arroz vermelho; resistência; Clearfield

Clearfield®: sistema patenteado com marca registrada da empresa BASF

Abstract

It was evaluated five biotypes of red rice (accessions Santa Maria 5, Pelotas 3, Rio Pardo 1, Manoel Viana 2 and Catuçaba 1) and three commercial cultivars of rice: two Clearfield® cultivars (IRGA 422 CL and Puitá CL INTA) and one conventional cultivar (IRGA 417), for verification of the susceptibility of the herbicide imazethapyr. The methodology of rate-response curves used was proposed by SEEFELDT et al.,(1995). The methodology of rate-response curves was generated starting from the parameters of the logistic model and of the values of I_{50} . This methodology can be used to describe the biological response of a plant and the influence of the environmental factors to the growing doses of a certain herbicide. The experiment was conducted in greenhouse in the Department of Biology of Santa Maria's Federal University. The biotypes of red rice and cultivated rice were then submitted to six doses of the herbicide imazethapyr (0; 0,312; 0,625; 1,25; 2,5 and 5,0 L.ha⁻¹). The plants of rice were counted and collected in the 20° day after the application of the treatments. The analysis of the percentile of damage was accomplished through visual evaluation of the phytointoxication (%), green mass and mass dries of the plants. The obtained data were submitted to the analysis of the variance (ANOVA) that verified that there was significant difference to 1% of the probability (Tukey) among cultivated rice and biotypes and the imazethapyr rates. Being analyzed the curves and the results of the analysis of the variance can be inferred that cultivated rice and Clearfield rice IRGA 422 CL and Puitá CL INTA were significantly same to the biotype of red rice Catuçaba 1 and they tolerated larger doses of herbicide imazethapyr to the dose recommended in field for the system Clearfield®. The biotypes Manoel Viana 2, Santa Maria 5 and Pelotas 3 grouped with to conventional cultivated rice IRGA 417, being susceptible to the commercial rates of the herbicide.

The biotype Rio Pardo 1 are tolerant to the herbicide imazethapyr and it formed an intermediate group among them cultivated rice CL with the resistant biotype and to cultivar susceptible with the susceptible biotype.

Key-words: imazethapyr; red rice; resistance; Clearfield .

Introdução

O arroz é o principal alimento para parcela significativa da população brasileira. Seu consumo representa 18% das calorias e 12% das proteínas da dieta básica (PEREIRA et. al., 1990). O Rio Grande do Sul é o principal produtor de arroz irrigado. Cerca de 60% de todo arroz produzido no Brasil é colhido de lavouras do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. Nos últimos anos a produtividade da cultura tem evoluído, em função de novas tecnologias que são empregadas pelos rizicultores como a tecnologia Clearfield® (NOLDIN et al., 2004). Porém, ainda não foi atingido o patamar ideal de produtividade em função de diversos fatores como manejo de água, manejo de fertilidade, qualidade de sementes, sistematização de várzeas e controle fitossanitário (LOPES, 1995).

Um dos fatores que interferem neste processo é a presença de plantas daninhas nas várzeas arrozeiras, principalmente as gramíneas, que tem impacto negativo na produtividade em função da competição com a cultura por luz e nutrientes (BRONDANI et. al., 2002). Entre as gramíneas que causam danos à cultura do arroz, destaca-se o arroz vermelho (*Oryza sativa* L.), citado como principal entrave à elevação do rendimento de arroz em 80% dos municípios produtores do Rio Grande do Sul (MARCHEZAN, 1994).

Sendo o arroz vermelho do mesmo gênero e espécie do arroz cultivado (*Oryza sativa* L.) e segundo PEREIRA (2004) ocupando posição geneticamente intermediária entre esta espécie e seus ancestrais *Oryza rufipogon* e *Oryza glumaepatula*, torna-se difícil seu controle através de herbicidas graminicidas, uma vez que um dano por fitointoxicação no arroz vermelho, também reflete-se em danos consideráveis na cultivar convencional (não resistente a herbicida).

Neste contexto, através de obtenção de cultivares de arroz tolerantes/resistentes a herbicidas do grupo químico das imidazolinonas, por indução

à mutação (arroz mutado AHAS-resistente/tolerante) foi possível utilizar uma tecnologia química para controle de gramíneas, sobretudo o arroz vermelho, com cultivares seletivas a determinadas doses do herbicida imazetapir (CROUGHAN, 1994) e controle superior a 80% da população infestante de biótipos de arroz vermelho. Sistema patenteado pela empresa BASF e denominado Clearfield® .

Para o Brasil, encontram-se registrados no sistema Clearfield® os cultivares de arroz irrigado IRGA 422 CL, Tuno CL, Sator CL e Puitá CL INTA (MAPA 2008). A dose de registro para IRGA 422 CL do herbicida Only (imazetapir 75 g/L + imazapic 25 g/L) é de 1,0 litro por hectare do produto comercial para aplicação em pós-emergência das plantas daninhas e da cultura quando estas encontram-se com 2 a 3 folhas abertas (AGROFIT, 2008). Este cultivar está sendo semeado no Rio Grande do Sul desde a safra 2002/2003.

Em função da atual dificuldade de controle de todo complexo arroz vermelho infestante, pelo polimorfismo entre biótipos de arroz vermelho ocorrentes nas várzeas do Rio Grande do Sul (DORNELLES et al., 2004; NOLDIN et al., 2004; LOPES et al., 2007) foi introduzido recentemente a cultivar Puitá CL INTA, desenvolvido na Argentina pela seleção em campo de linhagens mais resistentes ao herbicida imazetapir, sendo que este cultivar resiste a doses duas a três vezes superiores à dose praticada em sistema onde utiliza-se a cultivar IRGA 422 CL. Este programa que inclui a cultivar Puitá CL INTA visa dar maior possibilidade de controle dos biótipos de arroz vermelho tolerantes à dose de 1,0 L.ha¹ do herbicida imazetapir.

Entretanto, ocorrem no Rio Grande do Sul, biótipos de arroz vermelho que resistem a doses até três vezes superiores à dose de registro do herbicida Only (1,0 L.ha⁻¹), conforme relatado por DORNELLES et al., (2004) podendo colocar o sistema Clearfield em dificuldades, uma vez que segundo KUK et al., (2008) a pressão de seleção pelo uso contínuo e intensivo do herbicida imazetapir pode levar ao aparecimento de biótipos de arroz vermelho resistentes ao herbicida, o que torna o sistema ambientalmente insustentável.

Esta pressão de seleção, aliada à fuga (escape) de genes de resistência da cultivar AHAS-resistente para os biótipos de arroz vermelho, foi verificada por pesquisadores como RAJGURU et al., (2005), confirmando que a introgressão destes genes de resistência no arroz vermelho resultam em plantas resistentes aos herbicidas imidazolinonas, sobretudo ao herbicida imazetapir.

Neste contexto, nos arrozais de diversos países que utilizam a tecnologia que alia cultivares mutadas AHAS-resistente à possibilidade de utilização de determinadas doses do herbicida imazetapir, ocorrem biótipos de arroz vermelho suscetíveis ao herbicida (enzima ALS sensível), naturalmente tolerantes ao herbicida (por modificações no sítio de ação da enzima ALS) e aqueles com introgressão de genes de resistência (ÁVILA, 2005; RAJGURU et al., 2005; KUK et al., 2008; GEALY, 2008), o que torna o controle da planta daninha dificultado nas doses convencionais do herbicida.

Em função deste quadro atual, de polimorfismo de biótipos de arroz vermelho nas várzeas do Rio Grande do Sul, e possíveis diferenças de tolerância/resistência destes biótipos ao herbicida imazetapir, o objetivo deste trabalho é avaliar a suscetibilidade de biótipos de arroz vermelho do Estado a doses crescentes do herbicida imazetapir, através da metodologia de curva dose-resposta proposta por SEEFELDT et al., (1995)

Material e métodos

O experimento foi conduzido em casa de vegetação da Universidade Federal de Santa Maria, durante o ano agrícola de 2008. O ensaio foi conduzido em vasos de polietileno de 1,4 L de capacidade, revestidos com sacos plásticos a fim de evitar perdas de água e herbicida no momento da irrigação. O delineamento experimental foi de blocos ao acaso em esquema fatorial 8x6 com quatro repetições. Os tratamentos do fator A consistiram da combinação de duas cultivares Clearfield® tolerantes ao herbicida imazetapir (IRGA 422 CL e Puitá CL INTA), uma cultivar convencional suscetível ao herbicida imazetapir (IRGA 417) e cinco biótipos de arroz vermelho do estado do Rio Grande do Sul com suspeita de tolerância ou resistência ao herbicida imazetapir (acessos Pelotas 3; Santa Maria 5; Manoel Viana 2; Rio Pardo 1; Catuçaba 1); do fator B por doses crescentes de imazetapir (0, 312, 625, 1250, 2500 e 5000 mL.ha⁻¹ de produto comercial imazetapir). O herbicida utilizado apresenta 106 gramas do ingrediente ativo imazetapir por litro de produto comercial.,

O solo onde foram semeadas as cultivares, foi coletado em Santa Maria/RS, sendo classificado como Planossolo Hidromórfico Eutrófico arênico (SiBCS, 2006), pertencente à unidade de mapeamento Vacacaí, e apresentava as seguintes características: pH água(1:1)=4,7; P= 6,0 mg.dm⁻³; K= 112 mg.dm⁻³; Argila= 16%;

M.O.= 1,6%; Ca= 2,2 $\text{Cmol}_c.\text{dm}^{-3}$; Mg= 2,0 $\text{Cmol}_c.\text{dm}^{-3}$; Al=1,7 $\text{Cmol}_c.\text{dm}^{-3}$ e índice SMP 6,6.

Foi adicionado 1200g de solo úmido nos vasos já revestidos com sacos plásticos. Para uniformização da irrigação durante o ensaio, determinou-se a umidade gravimétrica conforme manual de métodos e análises de solo (EMBRAPA, 1997) no momento da colocação do solo nos vasos, determinando-se a massa seca real do solo contido no vaso. Obteve-se 4,25% de umidade no solo.

A adubação do solo foi realizada conforme o resultado da análise química do solo e seguindo as recomendações para a cultura do arroz irrigado. A cada 100 Kg de solo foi adicionado 15g de uréia, 10g de P_2O_5 e 5g de KCl. Após a aplicação dos fertilizantes, o solo foi homogeneizado através de um misturador centrífugo.

A semeadura nos vasos ocorreu no dia 22 de novembro de 2008, em uma profundidade de 1 cm marcada com régua decimilimetrada.

A aplicação dos tratamentos herbicidas, em pós-emergência das plantas, ocorreu no dia 05 de dezembro de 2008, quando as plantas emergidas dos cultivares e do arroz vermelho encontravam-se com 2 a 3 folhas. Utilizou-se equipamento costal pressurizado a CO_2 , com barra de 1,5 metros contendo quatro pontas com bico Teejet 110.02, regulado para um volume de calda aplicado de 150 $\text{L}.\text{ha}^{-1}$.

As condições climáticas no momento da aplicação eram: temperatura média de 23,5°C e umidade relativa média do ar 60,8% medidas com equipamento Kestrel 3000. A aplicação dos tratamentos foi realizada fora da estufa, e após o tratamento, os vasos permaneceram separados em área aberta fora da estufa por 24 horas para evitar a contaminação entre tratamentos através da possível volatilização do herbicida. Após este período os vasos retornaram para a estufa, onde permaneceram em ambiente protegido, recebendo irrigação a cada dois dias, por 30 dias. As condições climáticas médias durante o ensaio foram de 25° C de temperatura e 58% de umidade relativa do ar.

Foram realizadas avaliações visuais de fitointoxicação, no sétimo e vigésimo dia após a aplicação dos tratamentos herbicidas. O efeito dos herbicidas sobre as plantas foi determinado pelo método qualitativo caracterizado por avaliações visuais baseado em escalas arbitrárias estabelecidas (BURRILL et al, 1976).

Para a determinação foi empregada a escala percentual, utilizando-se como padrão a testemunha sem aplicação de herbicidas que correspondeu a nenhum controle (Zero %). Utilizou-se escala de zero (nenhuma injúria sobre as plantas) a 100% (morte de todas as plantas).

Ao final do vigésimo dia realizou-se a contagem do número de plantas por vaso e a coleta das plantas para determinação da massa verde das plantas (MV) e, após secagem em estufa a 60°C até massa constante, a massa seca (MS) de plantas.

Isto porque até 15 dias após a aplicação dos tratamentos, não foram visualizados sintomas fitotóxicos na parte aérea das plantas de arroz cultivar e dos biótipos de arroz vermelho (dados não mostrados). Neste sentido, para obtenção das curvas dose-resposta, foram utilizados os resultados de fitointoxicação (FITO₅₀), massa verde (MV₅₀) e massa seca (MS₅₀) aos 20 dias após a aplicação, quando já eram visualizadas as injúrias provocadas pelos tratamentos, nas plantas de arroz IRGA 422 CL e Puitá CL INTA.

FLECK (2000) e VIDAL (1997) relatam que o modo de ação dos herbicidas deste grupo químico, provoca interrupção do crescimento das plantas dentro de poucas horas após a aplicação. Porém, somente após dez a quinze dias, os tecidos meristemáticos tornam-se cloróticos e, posteriormente, provocam necrose foliar. Esta lenta ação herbicida, só é visualizada quando efetivamente as plantas apresentam sintomas de amarelecimento do limbo foliar em um período não superior a quinze dias para sulfoniluréias e onze dias para imidazolinonas (DORNELLES et. al., 2002).

Os dados obtidos foram testados quanto ao atendimento às pressuposições do modelo. Em seguida foram submetidos à análise da variância (ANOVA) para verificação das interações entre os fatores. As médias entre cultivares e biótipos foram comparadas para massa seca pelo teste da diferença mínima significativa (DMS) a 1% de probabilidade.

$$Y = C + \left(\frac{D - C}{1 + e^{[b(\log(x) - \log(X_{50}))]}} \right) \quad [1]$$

Para as interações significativas, os dados foram ajustados ao modelo de regressão não-linear do tipo log-logístico, usando-se o modelo proposto por SEEFELDT et. al., (1995), onde D representa o limite superior, C representa o limite inferior, sendo a resposta média nas doses mais elevadas; o parâmetro b descreve a inclinação da curva em torno do I_{50} ; e os valores de I_{50} correspondem à dose que causa resposta de 50% da assíntota de máxima da variável resposta (SEEFELDT et. al., 1995). Os parâmetros exigidos na equação foram obtidos através da plotagem dos dados de fitointoxicação (%) da redução em percentagem da massa verde (MV) e massa seca (MS) de plantas em relação à testemunha. A variável fitointoxicação visual sofreu transformação dos valores $yt = \arcseno\sqrt{(y + 0,5)/100}$ para normalizar os dados conforme proposto por RIBOLDI, (1995). Os gráficos foram obtidos a partir de uma matriz básica de dados analisada no programa SigmaPlot® versão 11.

Segundo CHRISTOFFOLETI (2002) o modelo logístico é vantajoso, uma vez que um dos termos integrantes da equação é uma estimativa de C_{50} (control by 50%) e GR_{50} (growth reduction by 50%), neste trabalho denominados FIT_{50} (fitointoxicação 50%), MV_{50} (50% de redução na massa verde) e MS_{50} (50% de redução na massa seca). São as doses do herbicida que proporcionam 50% de controle (fitointoxicação das plantas) ou redução de 50% de massa da planta daninha, respectivamente (CHRISTOFFOLETI & LÓPEZ –OVEJERO, 2004). Os valores de FIT_{50} , MV_{50} e MS_{50} caracterizam os níveis de suscetibilidade das populações de plantas daninhas ao herbicida (MOREIRA et al., 2007).

Com os valores de FIT_{50} e MS_{50} obtêm-se o fator de resistência (FR) para cada combinação das populações com suspeita de resistência e a população suscetível. O fator de resistência é o resultado do quociente entre FIT_{50} do biótipo resistente pela FIT_{50} do biótipo suscetível ($FR = FIT_{50} R / Fito_{50} S$). O fator de resistência (FR) expressa o número de vezes em que a dose necessária para controlar a população resistente (R) é superior à dose que controla 50% da população suscetível (S).

Resultados e Discussão

Tabela 7. Dose de Imazetapir em L. ha⁻¹ que causa 50% de fitotoxicidade (FITO₅₀), 50% de redução de massa verde da planta (MV₅₀) e 50% de redução de massa seca da planta (MS₅₀) em função dos biótipos e cultivares comerciais avaliados. Santa Maria, RS, 2008.

Biótipos e Cultivares	Variáveis		
	FITO ₅₀ (L.ha ⁻¹)	MV ₅₀ (L.ha ⁻¹)	MS ₅₀ (L.ha ⁻¹)
Rio Pardo 1	953,02 ± 166,71	1232,59 ± 266,30	1217,77 ± 172,16
Pelotas 3	240,91 ± 13,45	497,93 ± 100,72	786,964 ± 75,34
Santa Maria 5	287,93 ± 77,57	503,76 ± 195,58	532,77 ± 41,16
IRGA 422 CL	1902,99 ± 156,84	2764,57 ± 1409,4	1392,79 ± 122,38
Manoel Viana 2	348,06 ± 8,39	587,94 ± 67,73	631,55 ± 90,21
Puitá CL INTA	2052,35 ± 202,23	3969,28 ± 626,13	2286,98 ± 692,18
IRGA 417	660,42 ± 20,88	479,58 ± 37,43	458,40 ± 44,86
Catuçaba 1	2257,12 ± 262,86	1471,81 ± 347,98	1669,03 ± 238,15

Tabela 8. Análise estatística – ANOVA - para as interações entre biótipos e cultivares (fator A X fator A = 8 níveis X 8 níveis). Santa Maria, 2008.

Tratamentos	Tratamentos							
	Rio Pardo 1	Pelotas 3	Santa Maria 5	IRGA 422 CL	Manoel Viana 2	Puitá CL INTA	IRGA 417	Catuçaba 1
	Médias							
	58,828	53,466	62,429	71,160	50,405	72,389	46,697	75,318
	P-value							
Rio Pardo 1	-	0,000042	0,000065	0,000057	0,001893	0,000034	0,000069	0,000032
Pelotas 3	-	-	0,927280	0,000032	0,928049	0,000032	0,826983	0,000032
Santa Maria 5	-	-	-	0,012504	0,956078	0,001999	0,844509	0,000040
IRGA 422 CL	-	-	-	-	0,000032	0,899715	0,000032	0,819945
Manoel Viana 2	-	-	-	-	-	0,000032	0,893039	0,000032
Puitá CL INTA	-	-	-	-	-	-	0,000032	0,942659
IRGA 417	-	-	-	-	-	-	-	0,000032

GL=144; DMS=76,270

* Valores abaixo de 0,01 diferem significativamente entre si com 1% de probabilidade de erro pelo teste de Tukey

Tabela 9. Valores de fator de resistência (FR) para FITO₅₀ e MS₅₀ entre os biótipos Catuçaba 1 e Rio Pardo 1 em relação aos biótipos suscetíveis e cultivares suscetíveis e resistentes. UFSM, Santa Maria, 2008

Biótipos de arroz vermelho e cultivares	Fator de Resistência (FR) ¹			
	FITO ₅₀		MS ₅₀	
	Catuçaba 1	Rio Pardo 1	Catuçaba 1	Rio Pardo 1
Catuçaba 1	-	0,4	-	0,6
Rio Pardo 1	2,3	-	1,5	-
Santa Maria 5	7,8	3,3	2,7	1,8
Manoel Viana 2	6,5	2,7	2,9	1,9
Pelotas 3	9,3	3,9	2,3	1,5
IRGA 417	3,4	1,4	4,0	2,6
IRGA 422 CL	1,2	0,5	1,3	0,8
Puitá CL INTA	1,09	0,4	0,8	0,5

¹FR = FITO₅₀ biótipo resistente/ FITO₅₀ biótipo suscetível ou
FR = MS₅₀ biótipo resistente/MS₅₀ biótipo suscetível

As figuras 6, 7, 8 e 9 para resultados de MV₅₀ e MS₅₀ permitem observar que os biótipos Santa Maria 5, Manoel Viana 2 e Pelotas 3 apresentaram maior redução percentual de massa verde (MV) e massa seca (MS) que os biótipos Catuçaba 1 e Rio Pardo 1, sendo estatisticamente iguais ao percentual de redução destes parâmetros medidos para a cultivar suscetível IRGA 417.

Verifica-se, também, que o biótipo Catuçaba 1 apresentou redução percentual de MV e MS, em valores absolutos, inferior àquela obtida com a cultivar IRGA 422 CL e próxima daquela obtida com a cultivar Puitá CL INTA. Porém, pela análise da variância para massa seca (TABELA 8) não encontrou-se diferença estatística significativa entre o biótipo Catuçaba 1 e os cultivares Clearfield avaliados.

Em termos de dose do herbicida imazetapir, os resultados experimentais demonstram que os biótipos suscetíveis Santa Maria 5, Manoel Viana 2 e Pelotas 3 tem reduzida 50% da MV e da MS com doses inferiores a 1,0 L.ha⁻¹ (dose comercial do herbicida imazetapir), enquanto o biótipo Catuçaba 1 terá 50% de sua MV reduzida com a dose de 2,2 L.ha⁻¹ (dobro da dose utilizada em campo para cultivos com IRGA 422 CL) e 50% da MS com dose de 1,8 L.ha⁻¹. O biótipo Rio Pardo 1

tolera doses de até 1,2 L.ha¹ do herbicida imazetapir, configurando-se como um biótipo com suscetibilidade intermediária entre os biótipos suscetíveis Santa Maria 5, Manoel Viana 2 e Pelotas 3 em relação ao biótipo resistente Catuçaba 1.

Esses resultados (tabela 9) demonstram que para parcela dos biótipos de arroz vermelho ocorrentes em áreas de cultivo de arroz irrigado do Rio Grande do Sul, o herbicida imazetapir ainda pode proporcionar controle eficiente na dose de 1,0 L.ha⁻¹. Porém, para biótipos como Rio Pardo 1 e Catuçaba 1, são necessários doses superiores à dose recomendada. No caso de Catuçaba 1 este grau de resistência acontece para doses superiores àquelas praticadas no sistema de cultivo que utiliza a cultivar Puitá CL INTA (cultivar mutado para o gene AHAS (Acetohidróxi ácido sintase) que resiste a doses pelo menos duas vezes superiores àquelas pulverizadas sobre a cultivar IRGA 422 CL). Isto torna o sistema Clearfield-arroz vulnerável, uma vez que a pressão de seleção pelo uso contínuo e sistemático das áreas e do herbicida imazetapir, permitirá selecionar biótipos com maior grau de tolerância ou resistência ao herbicida (KUK et al., 2008), o que é ambientalmente e economicamente problemático em função do uso de doses maiores e progressivas do herbicida na tentativa de controlar a planta daninha, acumulando maior quantidade de resíduos do herbicida no solo das várzeas ou nos mananciais de água adjacentes, causando problemas para as culturas subseqüentes e ao meio ambiente.

Os resultados encontrados neste trabalho corroboram com os obtidos por AVILA (2005) em condições dos Estados Unidos da América. Este pesquisador concluiu que naquelas condições de produção de arroz, são encontrados nas populações de arroz vermelho, biótipos suscetíveis, biótipos moderadamente tolerantes, biótipos tolerantes e biótipos resistentes ao herbicida imazetapir para a dose utilizada no sistema Clearfield. Resultados que também encontrou-se nas condições do Rio Grande do Sul onde os biótipos Manoel Viana 2, Santa Maria 5 e Pelotas 3 são suscetíveis ao herbicida imazetapir na dose comercial (1,0 L.ha⁻¹), o biótipo Rio Pardo 1 é tolerante ao herbicida nesta dose e o biótipo Catuçaba 1 é resistente. Esta resposta para Catuçaba 1 era esperada, uma vez que em análise de DNA realizada por seqüenciamento (dados não mostrados) o acesso Catuçaba 1 demonstrou ser um biótipo que possui o gene de resistência AHAS (ALS-resistente) que o permite suportar doses de herbicidas do grupo químico das imidazolinonas, especialmente do imazetapir, superiores à recomendada para o sistema Clearfield.

Esta resistência possivelmente foi adquirida por hibridização com os cultivares Clearfield utilizados em 50% da área de produção de arroz do estado, uma vez que este biótipo foi coletado em área de três anos de cultivo com a cultivar IRGA 422 CL.

Isto explica o atual quadro encontrado na rizicultura do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina em que o herbicida não tem sido eficiente em controlar determinados biótipos de arroz vermelho, aumentando ano a ano o percentual de áreas inviabilizadas para a produção do cereal em função da planta daninha (DORNELLES et al., 2004; NOLDIN et. al, 2004; DORNELLES et. al., 2007; LOPES et al., 2007; MENEZES et al., 2008).

DORNELLES et. al., (2004) demonstraram a ocorrência de biótipo de arroz vermelho resistente a herbicidas imidazolinonas para o estado do Rio Grande do Sul em estudos realizados com a cultura da soja cultivada em várzea em área de rotação arroz/soja. O biótipo enfocado no estudo resistiu a doses três vezes superiores à dose de registro do herbicida Only (imazetapir 75 g/L + imazapic 25 g/L) registrado no Brasil para o sistema Clearfield.

Em áreas de produção de arroz irrigado do estado de Santa Catarina (NOLDIN et. al., 2004) demonstraram que 22,7% das plantas de arroz vermelho da população infestante, não foram controladas pela dose recomendada do herbicida Only (imazetapir 75 g/L + imazapic 25 g/L), enquanto para o Rio Grande do Sul estes pesquisadores encontraram o percentual de 15,5% de plantas sobreviventes. Neste trabalho não concluíram sobre a possibilidade de resistência ou tolerância destes biótipos às imidazolinonas.

No mesmo sentido, LOPES et al., (2007) estudando biótipos de arroz vermelho do Rio Grande do Sul, em uma amostragem de 321 plantas obtidas aleatoriamente, através de sementes de arroz vermelho coletadas em diferentes locais do estado, verificaram que 119 plantas apresentaram-se resistentes e segregantes, 130 apresentaram-se resistentes e não segregantes e 72 biótipos apresentaram-se suscetíveis ao herbicida Only.

Em recente publicação, MENEZES & MARIOT (2008) afirmam que 55,2% das amostras de arroz vermelho coletadas no estado do Rio Grande do Sul não foram controladas pelo herbicida Only na dose de registro (1,0 L.ha⁻¹), concluindo que estas plantas avaliadas são biótipos com tolerância natural aos herbicidas imidazolinonas.

KUK et al., (2008) afirmam que nos E.U.A. grande percentual dos biótipos de arroz vermelho são naturalmente tolerantes ao herbicida imazetapir, porém não descartam a possibilidade de evolução de populações de arroz vermelho resistentes ao herbicida por pressão de seleção pelo uso intensivo do herbicida.

Estes resultados também foram observados no presente trabalho, e permitem afirmar que nas áreas de produção de arroz irrigado do Rio Grande do Sul ocorrem simultaneamente biótipos de arroz vermelho suscetíveis ao herbicida imazetapir como o Santa Maria 5, Manoel Viana 2 e Pelotas 3 que agruparam-se com a cultivar suscetível IRGA 417, biótipos naturalmente tolerantes como Rio Pardo 1 e biótipos resistentes como o Catuçaba 1 que apresenta características fenotípicas e genotípicas muito próximas dos cultivares Clearfield, inclusive com introgressão do gene de resistência AHAS (ALS-resistente) que confere ao arroz vermelho Catuçaba 1 resistência a doses que são aplicadas sobre a cultivar Puitá CL INTA.

A cultivar Puitá CL INTA, oriundo da Argentina, foi recentemente registrado no Brasil (MAPA, 2008) e está sendo amplamente semeado no Rio Grande do Sul por tolerar a doses do herbicida imazetapir duas a três vezes superiores às recomendadas para programas de manejo onde se utiliza a cultivar IRGA 422 CL.

Neste contexto, no caso do Rio Grande do Sul, a pressão de seleção parece ser maior que no caso americano, relatado por KUK et al., (2008). Isto pode estar relacionado ao sistema de cultivo praticado naquele país, onde grande parte da área produtora de arroz realiza rotação de cultura com soja, utilizando em anos alternados, outros herbicidas com mecanismos de ação diferentes dos inibidores de ALS, sobretudo herbicidas como o Glifosato inibidor da enzima EPSPS (5-enolpiruvilchiquimato-3-fosfato sintase) em soja transgênica (Roundup Ready) o que reduz a pressão de seleção imazetapir-arroz vermelho por manter o banco de sementes de arroz vermelho do solo estável e sob controle.

Situação diferente do contexto brasileiro, particularmente do estado do Rio Grande do Sul, onde verifica-se que boa parte das áreas produtoras de arroz realizam cultivo sobre cultivo com a monocultura. Verifica-se que com o advento do sistema Clearfield, grande parte das áreas de arroz no Rio Grande do Sul não tem praticado a rotação de cultura ou de herbicidas com mecanismos de ação diversos e abandonaram o sistema de pousio, práticas que permitem melhor manejar o problema arroz vermelho.

Neste sentido, o conhecimento dos biótipos e das características dos cultivares torna-se importante para a sustentabilidade do sistema de produção de arroz irrigado do Rio Grande do Sul, possibilitando tomada de decisão segura quanto ao programa de controle a ser adotado em cada caso (cada área, individualmente, conforme suas características e necessidades).

Com base nos resultados obtidos podemos inferir que o sistema Clearfield, no atual quadro estabelecido, em que populações de arroz vermelho resistem a doses superiores às recomendadas para o sistema, inclusive àquelas praticadas para a cultivar Puitá CL INTA, encontra-se ameaçado, uma vez que a adoção de práticas, onde aumenta-se a dose do herbicida utilizado, na tentativa de incrementar o controle da planta daninha, apenas aumenta a pressão de seleção via herbicida para biótipos com grande capacidade de tolerar/resistir a doses superiores do herbicida às até aqui praticadas, como os biótipos Rio Pardo 1 e Catuçaba 1, o que vai tornar, em curto espaço de tempo, o sistema ambientalmente e economicamente insustentável, com interferência direta em questões relacionadas com a biossegurança.

Conclusões

O biótipo de arroz vermelho Catuçaba 1 (AHAS-resistente) é resistente ao herbicida imazetapir em doses duas vezes maiores às doses comerciais do herbicida, agrupando-se com os cultivares Clearfield (AHAS-resistente) IRGA 422 CL e Puitá CL INTA, em relação à fitointoxicação (FITO₅₀), massa verde (MV₅₀) e massa seca (MS₅₀).

Os biótipos Manoel Viana 2, Santa Maria 5 e Pelotas 3 são suscetíveis a doses do herbicida imazetapir, inferiores às praticadas no sistema Clearfield. Agrupam-se com a cultivar suscetível IRGA 417.

O biótipo Rio Pardo 1 apresenta tolerância natural ao herbicida imazetapir formando um grupo intermediário entre os cultivares tolerantes/resistentes IRGA 422 CL e Puitá CL INTA e a cultivar suscetível IRGA 417. Tolerando doses 1,4 vezes maiores que o cultivar suscetível IRGA 422 CL para o fator FITO₅₀. 0,5 vezes menor que a dose tolerada pela cultivar IRGA 422 CL..

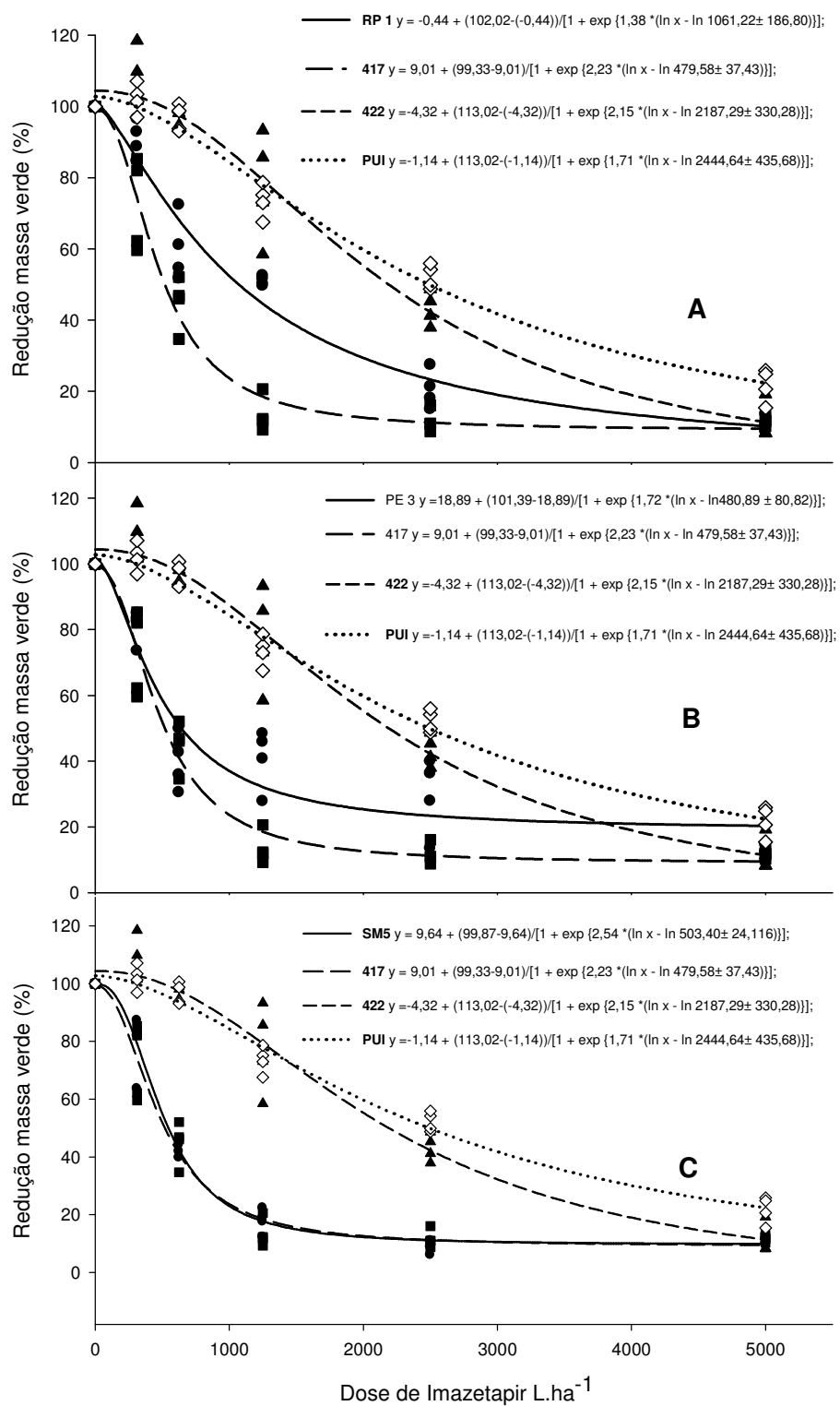


Figura 6 - Percentual de redução de massa verde dos biótipos Rio Pardo 1 (RP1), Pelotas 3 (PE3) e Santa Maria 5 (SM5) em relação aos cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e IRGA 417, em função de doses crescentes do herbicida imazetapir – UFSM, 2008.

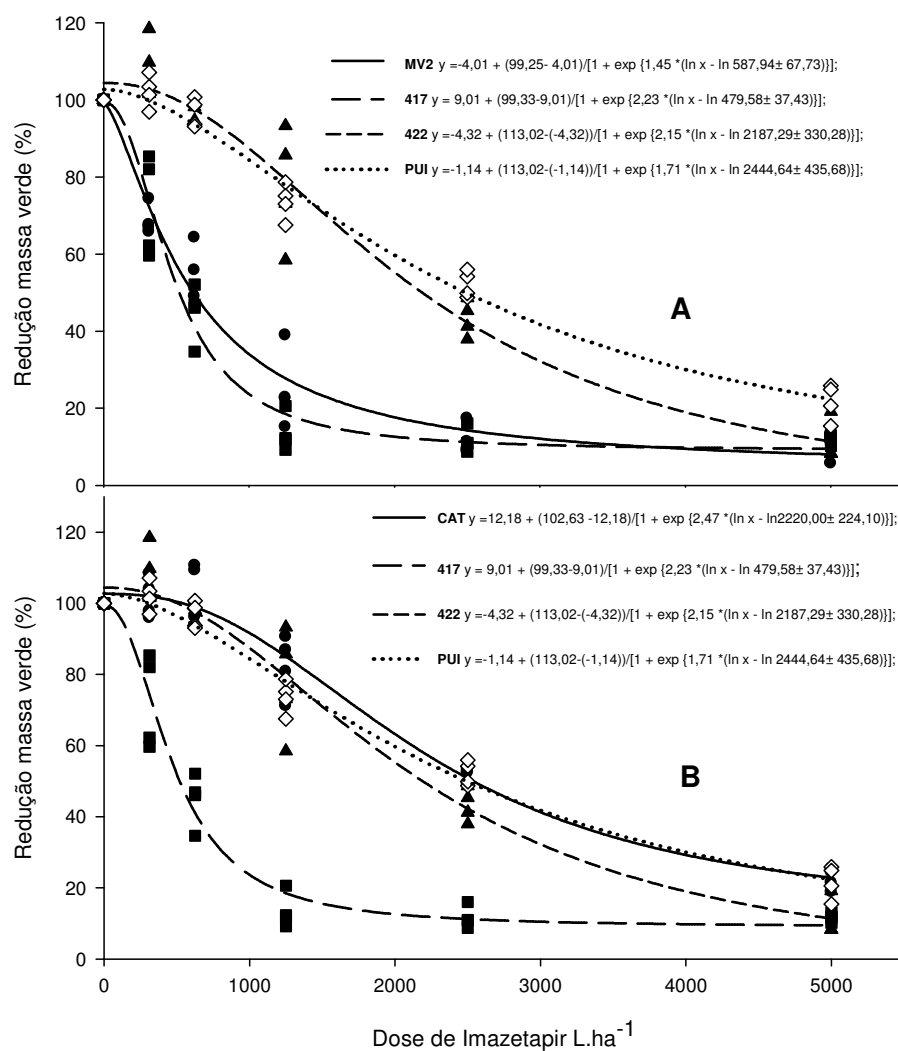


Figura 7 - Percentual de redução de massa verde dos biótipos Manoel Viana 2 (MV2) e Catuçaba 1 (CAT1) em relação aos cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e IRGA 417, em função de doses crescentes do herbicida imazetapir – UFSM, 2008.

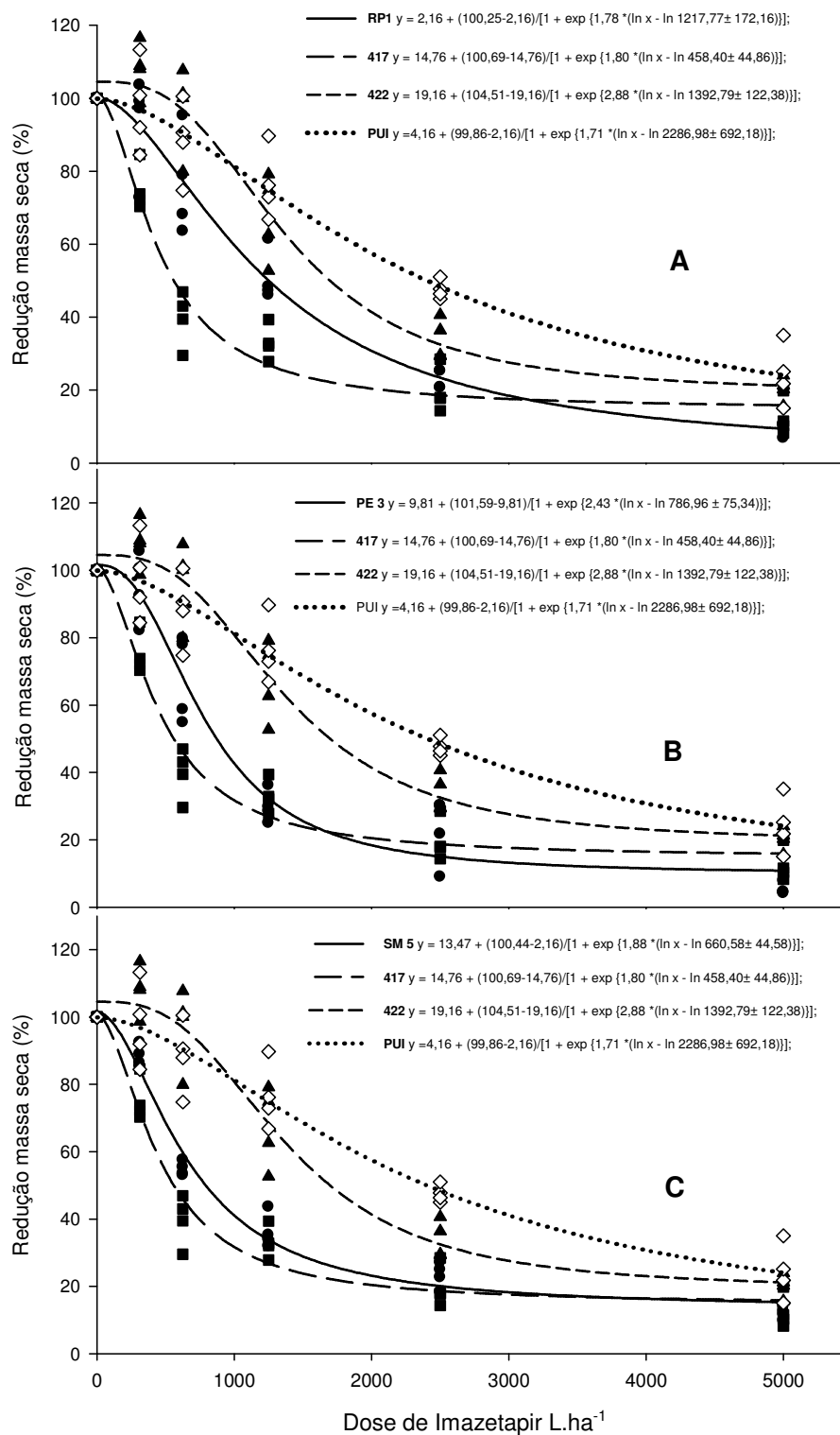


Figura 8 - Percentual de redução de massa seca dos biótipos Rio Pardo 1 (RP1), Pelotas 3 (PE3) e Santa Maria 5 (SM5) em relação aos cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e IRGA 417, em função de doses crescentes do herbicida imazetapir – UFSM, 2008.

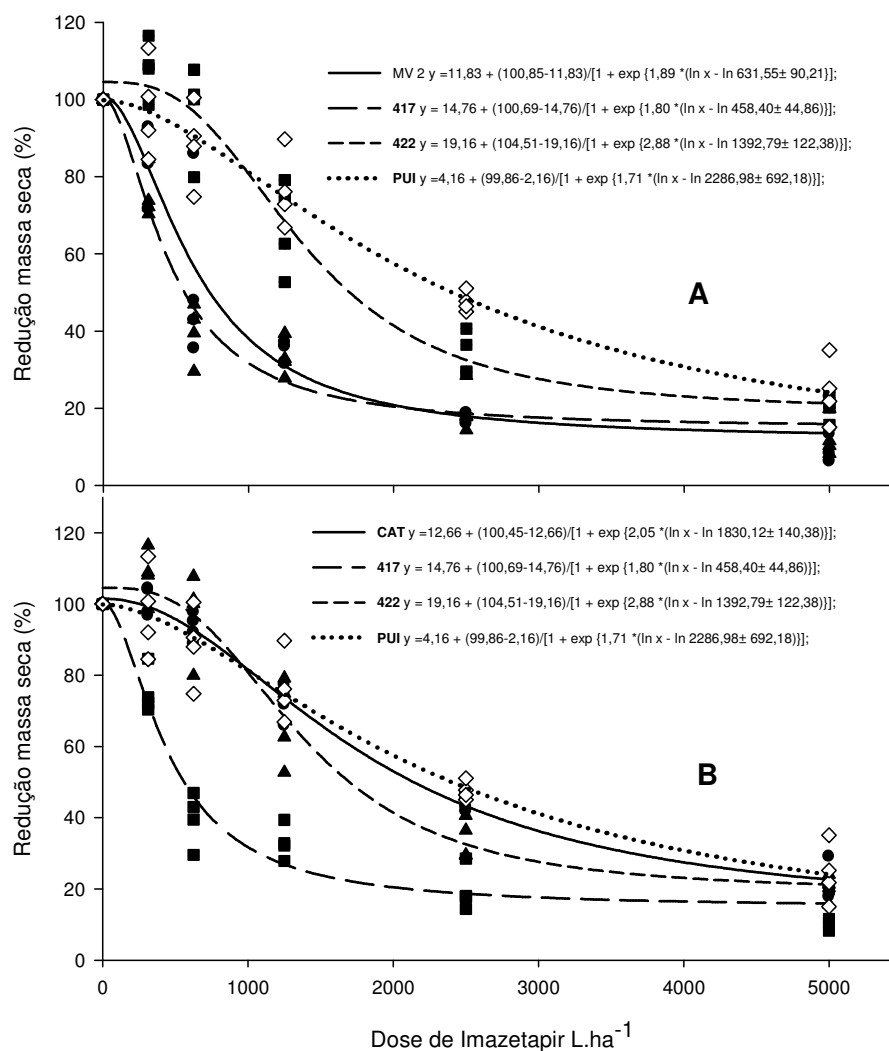


Figura 9 - Percentual de redução de massa seca dos biótipos Manoel Viana 2 (MV2) e Catuçaba 1 (CAT1) em relação aos cultivares IRGA 422 CL, Puitá CL INTA e IRGA 417, em função de doses crescentes do herbicida imazetapir – UFSM, 2008.

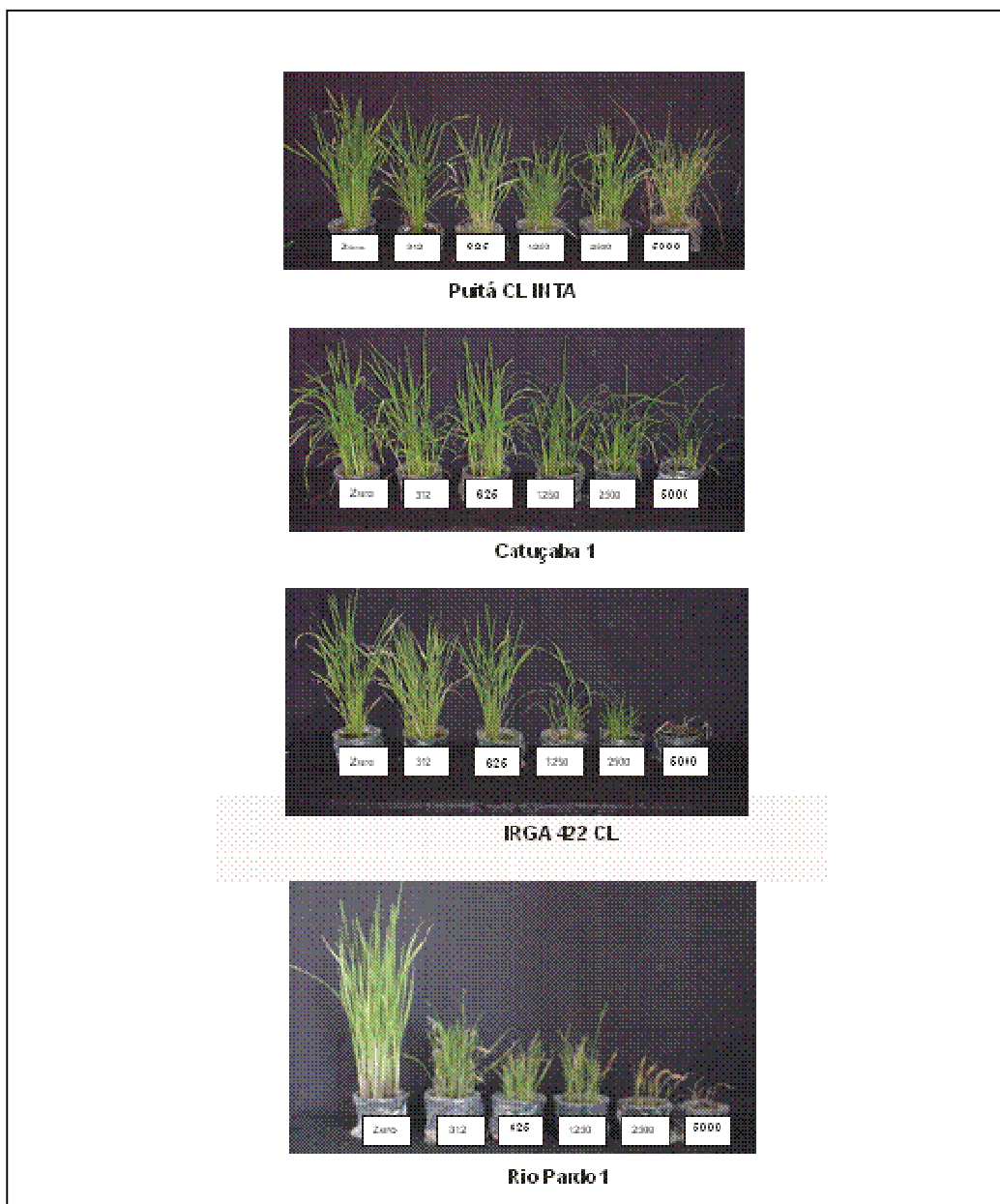


Figura 10 - Detalhe dos sintomas visuais de fitointoxicação e redução da altura de plantas em resposta a doses crescentes do herbicida imazetapir (0; 312; 625; 1250; 2500 e 5000 mL·ha⁻¹) para os cultivares IRGA 422 CL e Puitá CL INTA e para os biótipos de arroz vermelho Catuçaba 1 e Rio Pardo 1 – UFSM, 2008



Figura 11 - Detalhe dos sintomas visuais de fitointoxicação e redução da altura de plantas em resposta a doses crescentes do herbicida imazetapir (0; 312; 625; 1250; 2500 e 5000 mL.ha⁻¹) para o cultivar IRGA 417 e para os biótipos de arroz vermelho Manoel Viana 2, Santa Maria 5 e Pelotas 3 – UFSM, 2008

CONCLUSÃO GERAL

Os resultados obtidos neste trabalho, na avaliação de acessos polimórficos de arroz vermelho do Estado do Rio Grande do Sul, com a utilização de descritores morfológicos e com marcadores moleculares, permitem concluir que a introgressão de genes de cultivares modernos de arroz irrigado como IRGA 417, IRGA 422 CL e Puitá CL INTA, em plantas de arroz vermelho, por fluxo (escape) gênico, é um importante componente para a formação da base genética das populações de arroz vermelho atualmente encontradas nos arrozais, e constitui-se em expressiva fonte de variabilidade que esta planta daninha utiliza para responder às diferentes metodologias utilizadas no seu controle e apontam para um quadro de dificuldades frente ao desafio de manter a sustentabilidade do sistema produtivo de arroz no Estado, uma vez que estes cruzamentos geram biótipos de arroz vermelho mais daninhos ainda, por serem resistentes à tecnologia de controle químico, amplamente difundida e utilizada.

Os resultados obtidos também permitem observar dez diferentes padrões fenotípicos de arroz vermelho para o Rio Grande do Sul, com maior percentual de plantas com características do grupo *indica* em relação ao grupo *japônica*.

Permitem verificar que as populações de arroz vermelho estudadas não estão bem estruturadas e apresentam tipos intermediários de plantas, que merecem atenção especial em futuros estudos em nível de doutorado no PPGA-UFSM, utilizando técnicas moleculares e de taxonomia numérica.

Neste estudo, verificou-se a ocorrência de um biótipo de arroz vermelho (Catuçaba 1) com introgressão do gene de resistência ALS-mutado, por hibridização com cultivares Clearfield, ainda não descrito para o Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGOSTINETTO, D; FLECK, N.G.; RIZZARDI, M.A.; MEROTTO JR, A.; VIDAL, R.A. Arroz vermelho: ecofisiologia e estratégias de controle. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.31, n°2, p.341-349, julho, 2001.

AGROFIT – Sistema de consulta a agrotóxicos registrados no Brasil. Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento. Defesa Sanitária Vegetal. www.agricultura.gov.br/agrofit. acessado em 12 de dezembro de 2008.

ANDO, A.; RODRIGUES, L.R.F. Uso da sensibilidade à radiação gama na discriminação de variedades de arroz-de-sequeiro dos grupos *índica* e japônica. **Bragantia**. Campinas. V.62, n°2, p.179-188, fevereiro, 2003.

ANGLADETTE, A. **El Arroz**. Barcelona: Blume, 1969. 869 p.

ANDREWS, A.T. **Electrophoresis: Theory, Techniques and Biochemical and Clinical Applications**. Oxford. University press. Oxford. 1986. 450 p.

ARAGÓN, L.H. El arroz rojo. **Arroz**. Lima. v. 3, n° 15, p.14-15. Janeiro, 1969.

AVILA, L. A.; ANDRES, A.; MARCHEZAN, E.; MENEZES, V.G. Banco de sementes de arroz vermelho em sistemas de semeadura de arroz irrigado. **Ciência Rural**. Santa Maria, v.30, n°5, p.773-777, janeiro, 2000.

AVILA, L. A.; SENSAMAN, S. A.; McCAULEY, G.N.; CHANDLER, J.M. Effect of flood timing on red rice (*Oryza* spp.) control with imazethapyr applied at different dry-seeded rice growth stages. **Weed Technology**, Lawrence, KS, v. 19, n° 2, p. 476-480, novembro, 2005.

AVILA, L.A.; LEE, D.J.; SENSAMAN, S. A. McCAULEY, G.N.; CHANDLER, J.M, COTHREN, J.T. Assessment of acetolactate synthase (ALS) tolerante to imazethapyr in red rice ecotypes (*Oryza* spp) and imidazolinone tolerant/resistant rice (*Oryza sativa*) varieties. **Pest Management Science**, Inglaterra, v.61, n°2, p. 171-178, janeiro, 2005.

AVOZANI, O.A. et al. Caracterização genética de biótipos de arroz vermelho com marcadores moleculares RAPD, EEA/IRGA. IN: SEMINÁRIO LATINO AMERICANO SOBRE ARROZ VERMELHO. **Anais...** IRGA/FLAR. P. 55-56. Porto Alegre, 1998.

AKAGI, H.; YOKOZEKI, Y.; INAGAKI, A.; FUJIMURA, T. (1996). **Microsatellite DNA markers for rice chromosomes**. Theoretical and Applied Genetics, Mobarra vol. 93, n 7, pp. 1071-1077 .NOVEMBRO, 1996 **Microsatellite DNA**

ANDERSON, D. D. ., Scott N. J., Martin A. R., Roeth F. W. Mechanism of primisulfuron resistance in a shattercane (*Sorghum bicolor*) biotype. **Weed Science**. Lawrence, v. 46, n. 1, p. 158-162, março, 1998

AYENI, A. O.; MAJEK, B. A.; HAMMERSTEDT, J. Rainfall influence on imazethapyr bioactivity in New Jersey. **Weed Science**, n. 46, p. 581-586, 1998.

ANDREI, E. **Compêndio de defensivos agrícolas**. 7. ed. São Paulo: Andrei, 2005. 1142 p.

BOCCHI, S.; VANDONI, G.; MAGGIORE, T. Caratterizzazione morfo-fisiologica Del riso crodo nelle risaie milanesi. **Rivista di Agronomia**. Milão, v.36, n°1, p.157-162, janeiro, 2002.

BRONDANI, D. Manejo de plantas daninhas na cultura do arroz. IN: II SEMINÁRIO INTERNO GIPHE DE MANEJO DE PLANTAS DANINHAS DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO. **Anais...** UFSM, CCNE, Santa Maria, maio 2002. 112 p.

BURRILL, L.C.; CARDENAS, J.C.; LOCATELLI, E. **Field manual for weed control research**. Corvallis: International Plant Protection Center, Oregon State University, 1976. 59p.

CANTO-DOROW, T. S. **Revisão taxonômica das espécies Sul-Riograndenses de *Paspalum* L. (Grupo Notata) Poaceae-Panicaceae com ênfase na análise da variação intra-específica de *Paspalum notatum* Flugge**. Porto Alegre. 1993. 172p. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1993.

CAO, Q.;L, B.; XIA, H.; RONG, J.; SALA, F.; SPADA, A.; GRASSI, F. Genetic Diversity and Origin of Weedy Rice (*Oryza sativa* f. spontanea) Populations Found in North-eastern China Revealed by Simple Sequence Repeat (SSR) Markers. **Annals of Botany**, Vol. 98, No. 6. pp. 1241-1252, 2006.

CAMARGO, E. R. MARCHESAN, E.; ROSSATO, T.L.; TELÓ, G.M.; AROSEMENA, D. Influência da aplicação de nitrogênio e fungicida no estádio de emborrachamento sobre o desempenho agrônômico do arroz irrigado. **Bragantia**, Campinas, SP, v. 67, n. 1, p. 153-159, agosto, 2008.

CAREY, J. B.; PENNER, D.; KELLS, J. J. Physiological basis for nicosulfuron and primisulfuron selectivity in five plant species. **Weed Sci.**, v. 45, n. 1, p. 22-30, fevereiro, 1997.

CEREJEIRA, M. J.; VIANA, P.; BATISTA, S. Pesticide in Portuguese surface and ground waters. **Water Research**, v. 37, n 5; p. 1055-1063, março, 2003.

CHANG T.T; BARDENAS, E.A.; **The morphology and varietal characteristics of the rice plant.** Los Baños: IRRI, 1965. 40 p. (IRRI. Technical Bulletin, 4).

CHANG T.T .The origin, evolution, cultivation, dissemination and diversification of asian and african rices. **Euphytica**, v.25,n 1 p.425-441, janeiro 1976.

CHANG T.T .The origin, evolution, cultivation, dissemination and diversification of asian and african rices. **Euphytica**, v.25, n 1 p.425-441, janeiro 1976.

CHEN, X.; TEMNYKH, S.; XU, Y.; CHO, Y. G.; MCCOUCH, S. R. (1997). **Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.).** *Theoretical and Applied Genetics*, vol. 95, n 4 pp. 553-567. setembro, 2007

CHO Y, CHUNG T, SUH H, CHO YC, CHUNG TY & SUH HS Genetic characteristics of Korean weedy rice (*Oryza sativa* L.) by RFLP analysis. **Euphytica**, v.86,n 2,pp 103-110. Março 1995. **Development of a microsatellite framework map providing genome-wide coverage in rice (*Oryza sativa* L.).**

CHRISTOFFOLETI, P. J.; MENDONÇA, C. G. **Controle de plantas daninhas na cultura de milho: enfoque atual.**, In: FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. (Coords.). **Milho: tecnologia e produtividade.** Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz",. p. 60-95. 2001

CHRISTOFFOLETI, P. J.; Curvas de dose-resposta de biótipos resistente e suscetível de *Bidens pilosa* L. aos herbicidas inibidores da ALS. **Scientia Agrícola.** V.59, n.3, p.513-519, jul/set. 2002.

CHRISTOFFOLETI, P. J.; LÓPEZ-OVEJERO, R.F. Definições e situação da resistência de plantas daninhas aos herbicidas no Brasil e no mundo. IN: CHRISTOFFOLETI, P.J. (Coord.). **Aspectos de resistência de plantas daninhas a herbicidas.** 2. Ed. Campinas: Associação Brasileira de Ação a Resistência de Plantas aos Herbicidas (HRAC-BR), 2004. p.3-22.

COUNCE, P. A. KEISLING, T. C., MITCHELL, A. J., A uniform, objective, and adaptive system for expressing Rice development. **Crop Science**, v. 40, p. 436-443, março, 2000.

CRAIGMILES, J.P. Red rice: . **Controle de plantas daninhas na cultura de milho: enfoque atual.**, In: FANCELLI, A. L.; DOURADO-NETO, D. (Coords.). **Milho: tecnologia e produtividade**

CRESTE, S.; NETO, A.; FIGUEIRA, A. Detection of single sequence repeat polymorphisms in denaturing polyacrylamide sequencing gels by silver staining. **Plant Molecular Biology Reporter**. v.19, n°4, p. 306, 299, dezembro, 2001.

CROUGHAN, T.P., UTOMO, H.S., SANDERS, D.E., BRAVERMAN, M.P. **Herbicide-resistant rice offers potential solution to red rice problem**. *LA Agric.* v.39, n° 3, pp10–12, 1996.

CROUGHAN et al, 1991, "Rice (*Oryza sativa* L.): Establishment of Callus Cultures and the Regeneration of Plants" in Bajaj (Ed.), "**Biotechnology in Agriculture and Forestry**," pp. 19-37 (1991).

DELATORRE, C.A. Dormência em sementes de arroz vermelho. **Ciência Rural**. v. 29, n.3, p. 565-571. Santa Maria, 1999.

DÉLYE, C.; BOUCANSAUD, K. A molecular assay for the proactive detection of target site-based resistance to herbicides inhibiting acetolactate synthase in *Alopecurus myosuroides*. **Weed Research**, Tokio, v.48, n°2, p.97-101, 2008.

DIARRA, A.; SMITH Jr., R.J.; TALBERT, R.E. Growth and morphological characteristics of red rice (*Oryza sativa*) biotypes. **Weed Science**, Arkansas v. 33, n°3, p. 310-314, maio, 1985.

DIARRA, A.; SMITH Jr., R.J.; TALBERT, R.E. Interference of red rice (*Oryza sativa*) with rice (*Oryza sativa*). **Weed Science**. V. 33, n.5, p. 644-649, julho, 1985.

DORNELLES, S.H.B.; DEBORTOLI, M.P.; BRONDANI, D.; CAPITANIO, J. Manejo de plantas daninhas na cultura da soja com herbicidas inibidores da enzima ALS. IN: Jornada Acadêmica Integrada. UFSM. CCNE. **Anais em CD**. Santa Maria, RS, 2004.

DORNELLES, S.H.B.; HATSCHBACH, M.; BORTOLOTTI, R.P.; CAPITANIO, J. Avaliação de acessos de arroz vermelho resistentes a imidazolinonas no Rio Grande do Sul. IN: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO. Águas de São Pedro, SP. 2004. **Anais em CD**. SBCPD. 2004. p.486.

EDWARDS, K.; JOHNSTONE, C.; THOMPSON, C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PSC analysis. **Nu. Acid. Res.** 19 (6): 1349 p. 1991, março 2001.

ELLSTRAND, N. C.; ELAM, D. R. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. **Annu. Rev. Ecol. Syst.** 24:217–42, 1993.

ELLSTRAND, N. C.; PRENTICE, H. C.; HANCOCK, J. F. Gene flow and introgression from domesticated plants into their wild relatives. **Annual Review of Ecology and Systematics**, California. v. 30, n.º 1, pp. 539-563, novembro, 1999.

ELLSTRAND, N. C. Dangerous Liaisons: When Cultivated Plants Mate with Their Wild Relatives. **The Johns Hopkins University Press**, Baltimore, Maryland, v 3, p 205, maio, 2003.

EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Solos. **Manual de métodos de análise de solos**. 2. Ed. rev. e atual. Rio de Janeiro: EMBRAPA, 1997. 21. p.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, L. G.; SCHNEIDER, S. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolutionary Bioinformatics Online** v 1: p 47-50, maio 2005.

FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J. Inference of population structure using multilocus genotype data: dominant markers and null alleles. **Molecular Ecology Notes**, v 7n 4, p 578, 574, fevereiro, 2007.

FEDERICI, M.T. Vaughan D., TOMOOKA N., KAGA A. WANG. X.W., DOI. K., FRANCIS. M., ZORRILLA G., Analysis of Uruguayan weedy rice genetic diversity using AFLP molecular markers. **EJB Electronic Journal of Biotechnology** v.4, n.º.3, dezembro, 2001.

FILIZOLA, H. F FERRACINI, V. L.; ABAKERLI, R.B.; GOMES, M.A.F. Monitoramento de agrotóxicos e qualidade das águas em área de agricultura irrigada. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, RS, v. 11, n. 2, p. 245-250, abril-junho, 2005.

FLECK, N.G. Competição de azevém (*Lolium multiflorum* L.) com duas cultivares de trigo. **Planta Daninha**. Brasília. v. 3, n. 2, p. 61-67, novembro, 1980.

FONNE-PFISTER, R. et al., Hydroxylation of primisulfuron by inducible cytochrome P450 dependent monooxygenase system from maize. **Pest. Biochem. Physiol.**, v. 37, n. 1, p. 165-173, 1990.

FONSECA, J.R.; CASTRO, E.da M. de; SILVEIRA, P.M. Características botânicas e agronômicas de cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.). **Documentos...** 130. Santo Antônio de Goiás, GO. EMBRAPA. 41 p., 2001.

FUTUYMA, D. (1998). **Evolutionary Biology**. p 767. 3rd edn. Sunderland, MA: Sinauer.

GARIS, A.; TAI, T.; COBURN, J.; KRESOVICH, S.; MCCOUCH, S. Genetic structure and diversity in *Oryza sativa* L. **Genetics**..p104,janeiro, 2005.

GEALY, D.; SHIVRAIN, V.; BURGOS, N. Maximum outcrossing rate and genetic compatibility between red rice (*Oryza sativa*) biotypes and Clearfield rice. http://www.ars.usda.gov/research/publications.htm?SEQ_NO_11-232947 acessado em 27 de outubro de 2008.

GERRITS, P.O. & SMID,L. A new, less toxic polymerization system for embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal Microscopy**. v.132, p.81-85, 1983.

GLASZMANN, J.C. Geographic pattern of variation among Asian native rice cultivars (*Oryza sativa* L.) based on fifteen isozyme loci. **Genome**. Ottawa, v. 30, n.5, p. 782-792, 1988.

GONZALEZ, E. *et al.* Caracterización Molecular de Arroz Rojo Colectado em Huila y Tolima. CIAT. Pôster. IN: <http://www.ciat.com>. acessado em 20 de maio de 2005.

GRANT, V. (1997). **Plant speciation**. *New York: Columbia Univ. Press*. 1. ed.

GRANT, V. (1983). **Plant speciation**. *New York: Columbia Univ. Press*. 2nd ed.

GREENLAND DJ *The sustainability of rice farming*. New York, USA: **CAB INTERNATIONAL**. 1997.

GRESSEL, J. (2002) **Molecular biology of weed control**. London: Taylor and Francis. 2002. 504 p.

GRIST, D.H. **Rice**. 5. Ed. Londres: Longman, 1978. 601 p.

HARMS, C. T. et al., Genetic and biochemical characterization of corn inbred lines tolerant to the sulfonyleurea primisulfuron. *Theor. Appl. Geneties*, v. 80, p. 353-358, 1990.

HANADA, K. Tillers. In: MATSUO, T.; HOSHIKAWA, K. (Org). **Science of the plant**. Tokyo: Food Agriculture Policy Research Center, 1993. p. 222-258.

HEISER, J. W. **Dissipation and carryover of imidazolinone herbicides in imidazolinone-resistance rice (*Oryza sativa*)**. 2007. 104 f. Thesis (Master of Scienc), University of Missouri - Columbia. Columbia, MS, 2007.

HINZ, J.R.R.; OWEN, M.D.K. Acetolactate Synthase resistance in a common WaterHemp (*Amaranthus rudis*) population. **Weed Technology**. 11:13-18. 1997.

HUBER, A.; BACH, M.; FREDE, H.G. Pollution of surface Waters with pesticides in Germany: modeling non-point source inputs. **Agriculture Ecosystem and Environment**, v. 80, p. 191-204, 2000.

HUEY, B.A.; FORD, L. Red rice control. IN: RED RICE SYMPOSIUM HELD TEXAS A&M UNIVERSITY. 1978. Texas. **Proceedings...** 1978.

IRRI. **Catalog of descriptors for rice (*Oryza sativa* L.)** Manila: IRRI: IBPGR, 1980. 21 p.

JORGE, A.; BARQUIN, N.M. El arroz rojo. **Arroz**. Lima, v.4, n.2, p.12-20. 1983.

KUK, Y.I.; BURGOS, N.R.; SHIVRAIN, V.K. Natural tolerance to imazethapyr in red Rice (*Oryza sativa*). **Weed Science**. 56: p.1-11, 2008.

KWON, S.L.; SMITH JR, R.J., TALBERT, R.E. Interference durations of red rice (*Oryza sativa*) in red rice (*Oryza sativa*). **Weed Technology**. v. 5, p. 811-816, 1991.

LAGERCRANTZ, U., ELLEGREN, H., ANDERSON, L. The abundance of various polymorphic microsatellite motifs differs between plants and vertebrates. **Nucleic Acids Research**, v. 21, n.5, p.1111-1115, 1993.

LANDEVIN, A.S.; CLAY, K.; GRACE, J.B. The incidence and effects of hybridization between cultivated rice and its related weed rice (*Oryza sativa* L.) **Evolution**. v. 44, n. 4, p. 1000-1008, 1990.

LEITÃO FILHO, H. de F. Estudo de competição entre arroz vermelho e o arroz cultivado. **Bragantia**. Campinas. v.31, n.20, p.249-258. 1972.

LÓPEZ OVEJERO, R. F. et al., **Manejo de plantas daninhas na cultura do milho**. In: FANCELLI, A. L.; DOURADO NETO, D. (Eds.). **Milho: estratégias de manejo para alta produtividade**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", 2003. p. 47-79.

LONDO, J.; SCHAAL, B. (2007). **Origins and population genetics of weedy red rice in the USA**. *Molecular Ecology* 16:4535, 4523.

LOPES, L.C. – Manejo da cultura do arroz irrigado. IN: Seminário Técnico HBT. **Anais....** Santa Maria, 1995. p.82-123.

LOPES, M.C.B.; COMORETO, R.C.M.; SANTOS, C.M.; FREITAS, P.R.S.; LEAL, C. Variabilidade morfológica dos grãos e identificação de arroz vermelho resistente ao herbicida Only em lavouras de arroz Clearfield. IN: V CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO. XXVII REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO. SOSBAI. Pelotas, 2007. **Anais**. v.2, p.105-107.

LU, B.R. (1998). **Diversity of rice genetic resources and its utilization and conservation**. *Chinese Biodiversity* 6: 63-72.

KRAEMER, A. F. **Residual da mistura formulada dos herbicidas imazethapyr e imazapic em áreas de arroz sob diferentes manejos de solo**. 2008. 63 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, RS, 2008.

McCOUCH, S.R. Microsatellite marker development, mapping and applications in rice genetics and breeding. **Plant Molecular Biology**. n.35, p.89-90. 1997.

McCOUCH, S.R. Development and mapping of 2240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). **DNA Research**. n.9, p.199-207. 1997.

McCOUCH, S.R. Molecular mapping of rice chromosomes. **Theoretical Applied of Genetics**. n.76, p.815-829. 1988..

MAGALHÃES Jr., A.M. de; ANDRES, A. **Avaliação da dispersão do pólen em arroz: frequência e distância de cruzamento**. Pelotas: EMBRAPA. 2001. 30p. Relatório Técnico.

MALONE, G.; ZIMMER, P.D.; CASTRO, M.A.S.; ARIAS; L.N.; MENEGHELLO, G.E.; PESKE, S.T. Caracterização bioquímica e molecular de acessos de arroz vermelho coletados no estado do Rio Grande do Sul. **Pesq. Agropec. Tropical**. 37(2): 77-85., 2007.

MARCHEZAN, E. Arroz vermelho: caracterização, prejuízos e controle. **Ciência Rural**. v. 24, n.2, p. 415-421. Santa Maria, 1994.

MARCHEZAN, E. Controle do arroz vermelho. IN: GOMES, A. da S.; MAGALHÃES Jr. A. M. de (ORG). **Arroz Irrigado no Sul do Brasil**.. EMBRAPA. Pelotas, 2004.

MARCHEZAN, E.; CIROLINI, F. potencial de reinfestação do arroz vermelho. IN: CONFERÊNCIA INTERNACIONAL DE ARROZ PARA A AMÉRICA LATINA E O CARIBE, 19. e REUNIÃO NACIONAL DE PESQUISA DO ARROZ, 5. 1996, Goiânia. **Arroz na América Latina: perspectivas para o incremento da produção e do potencial produtivo**. Goiânia. EMBRAPA. Pelotas, 1996. p. 198.

MARCHEZAN, E. **Arroz Irrigado: características de cultivares**. UFSM, Santa Maria, 2006. 94 p.

MARIN, A. Situacion Del arroz colorado em Argentina IN: SEMINÁRIO LATINO AMERICANO SOBRE ARROZ VERMELHO. **Anais...** IRGA/FLAR. P. 45-48. Porto Alegre, 1998.

MARIOT, C. H. P.; MENEZES, V.G. Controle de angiquinho no sistema clearfield em arroz irrigado. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA CIÊNCIA DAS PLANTAS DANINHAS, 26., CONGRESO DE LA ASOCIACIÓN LATINOAMERICANA DE MALEZAS, 18., 2008, Ouro Preto, MG. **Anais...** Ouro Preto: SBCPD, 2008. CD-ROM.

MARQUES, L.F. **Variabilidade do arroz vermelho e preto (*Oryza sativa* L.) e suas consequências na produção de sementes.** Pelotas. 1983. 62p. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Sementes) – Universidade Federal de Pelotas. 1983.

MASSONI, et al., Controle de arroz vermelho em arroz tolerante a imidazolinonas e o residual em genótipo de arroz não tolerante. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO, 5., REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 27., 2007, Pelotas, RS. **Anais...** Pelotas: SOSBAI, 2007. CD-ROM.

MATSUNAKA, S. Historical review of rice herbicides in Japan. **Weed Biology Management**, v. 1, p. 10-14, 2001.

MENEZES, V.G. Ecofisiologia do arroz vermelho. IN: SEMINÁRIO LATINO AMERICANO SOBRE ARROZ VERMELHO. **Anais...** IRGA/FLAR. P. 51-54. Porto Alegre, 1998.

MENEZES, V.G.; AGOSTINETTO, D.; FLECK, N.G; SILVEIRA, C.A.. Caracterização de biótipos de arroz vermelho em lavouras de arroz do Estado do Rio Grande do Sul. **Planta Daninha**. Viçosa. v. 20, n. 2, p. 221-227, 2002.

MENEZES, V.G.; MARIOT, C.H.P. Uso desordenado do Clearfield pode comprometer a tecnologia. **Lavoura Arrozeira**. v. 56. n. 445, p. 21-23, maio, 2008

MEROTTO JR., A.; VIDAL, R. A.; FLECK, N. G. Absorção e translocação de herbicidas. In: VIDAL, R. A.; MEROTTO JR., A. (Org). **Herbicidologia**. Porto Alegre: R. A. Vidal & A. Merotto Jr., 2001. p. 6-14.

METCALF, C.R. **Anatomy of the monocotyledons: Gramineae.** Oxford: Claredon Press, 1960. 715 p.

MORAIS, O.P de Melhoramento genético. Cap. 9. **A Cultura do Arroz no Brasil**. 2. Ed. Santo Antônio de Goiás, GO. EMBRAPA. 2006. p. 289-358 .

MOREIRA, M.S.; NICOLAI, M.; CARVALHO, S.J.P.; CHRISTOFFOLETI, P.J. Resistência de *Conyza canadensis* e *Conyza banariensis* ao herbicida glyphosate. **Planta Daninha**. V. 25, n. 1, p. 157-164, 2007.

MORISHIMA, H.; OKA, H.I. Phylogenetic differentiation of cultivated rice. **Japanese Journal Breeding**. Tokyo, v. 31, p. 402-413, 1981.

NICHOLAS, K. B.; NICHOLAS H. B. JR.; DEERFIELD, D. W. II. GeneDoc: Analysis and Visualization of Genetic Variation. **EMBNEW.NEWS** 4:14, 1997.

NISHIYANA, I. et al., Protection effect of temperature and depth of irrigation water from sterility caused by cooling treatment at meiotic stage of rice plants. **Proceedings of the Crop Science Society of Japan**. v. 38, n. 3, p. 554-555, 1969.

NOLDIN, J.A.; CHANDLER, J.M.; McCAULEY, G.N. Red Rice (*Oryza sativa*) biology. I. Characterization of red rice ecotypes. **Weed Technology**., v. 13, n. 1, p. 12-18. 1999.

NOLDIN, J.A. et al. Desempenho de populações híbridas F₂ de arroz vermelho (*Oryza sativa*) com arroz transgênico resistente ao herbicida amônio-glufosinate. **Planta Daninha**. V.22, n.3. p.181-395, 2004.

NOLDIN, J.A.; PINTO, J.J.O.; RAMPELOTTI, F.T.; EBERHARDT, D.S.; ZUNINO, J.; CONCENÇO, G.; DALMAGRO, T.; MISTURA, C. Suscetibilidade de ecótipos de arroz-vermelho a herbicidas utilizados no sistema Clearfield. IN: XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE ARROZ IRRIGADO. Águas de São Pedro, SP. 2004. **Anais em CD**. SBCPD. 2004. p.479.

OHYANAGI, H.; TANAKA, T.; SAKAI, H.; SHIGEMOTO, Y.; YAMAGUCHI, K.; HABARA, T.; FUJII, Y.; ANTONIO, B. A.; NAGAMURA, Y.; IMANISHI, T.; IKEO, K.; ITOH, T.; GOJOBORI, T.; SASAKI, T. The Rice Annotation Project Database (RAP-DB): hub for *Oryza sativa* ssp. japonica genome information. **Nucleic Acids Res**. 34 (DATABASE ISSUE), D741-D744, 2006.

OGAWA, M. **Red rice: chemistry and organism**. Japan, 1992. v.30, p. 385-388.

OLIVEIRA, J.C. **Sistemas de cultivo de arroz irrigado no controle de arroz vermelho**. 1993. 87 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia). Curso de Pós-graduação em Agronomia. Universidade Federal de Santa Maria. 1983.

OLIVEIRA, L. F. V.; WALLAU, G. L.; LORETO, E. L. S. Isolation of high quality DNA: a protocol combining "rennet" and glass milk. **Electronic Journal of Biotechnology**, 2009.

OLSEN, K. M.; CAICEDO, A. L.; JIA, Y. Evolutionary Genomics of Weedy Rice in the USA. **Journal of Integrative Plant Biology**, 49 (6): 811-116, 2007.

PANTONE, D.J.; BAKER, J.B. Weed-crop competition models and response-surface analysis of red rice competition in cultivated rice: a review. **Crop Science**. V.31, p. 1105-1110, 1991.

PEDROSO, B. A. **Arroz irrigado**: obtenção de e manejo de cultivares. Porto Alegre: Sagra, 1982.

PEREIRA, P.A.; PINHEIRO, B. de S.; TEIXEIRA, S.M. 1990. Rice in Brazil. **Internacional Rice Commission Newsletter**. Roma, v.39, p. 241-248, 1990.

PEREIRA, J.A. **O arroz vermelho cultivado no Brasil**. Terezina, PI. 2004. EMBRAPA. 90 p.

PESKE, S.T.; BARROS, A.C.S.A.; NUNES, M.M.; FERREIRA, L.H. Sobrevivência de sementes de arroz vermelho depositadas no solo. **Rev. Bras. de Agrociência**. V.3, n.1, p. 17-22. Pelotas, 1997.

PILLAR, V.D.P.; Multivariate exploratory analysis and randomization testing with MULTIV. **Coenoses**. v.12, n°2, p.145-148, janeiro,1997.

PINHEIRO, B.S. Características morfofisiológicas da planta relacionadas à produtividade. Cap. 7. **A Cultura do Arroz no Brasil**. 2. Ed. Santo Antônio de Goiás, GO. EMBRAPA. p. 209-256, 2006.

PINTO, L. R. VIEIRA, M. L. C.; SOUZA, A. P.; SOUZA JR, C. L. Isoenzimas e microssatélites em plantas: aspectos técnicos e interpretação genética. **Biociência**. Revista eletrônica. n.°20, maio-junho, 2001.

PRITCHARD, J. K.; STEPHENS, M.; DONNELLY, P. Inference of population structure using multilocus genotype data. **Genetics**, Pittsburgh, PA, v.155, n°2, p.945-959, junho, 2000.

PULVER, E. Dano econômico causado por arroz vermelho. IN: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 15. Porto Alegre, 1986. **Anais...** Porto Alegre, IRGA, 1986. p. 189-196.

RAJGURU, S. N.; BURGOS, N. R.; SHIVRAIN, V .K.; STEWART, J. M. Mutations in the red rice ALS gene associated with resistance to imazethapyr. **Weed Science**, Champaign, v.53, n°5, p.567-577, junho, 2005.

RHYMER, J. M., SIMBERLOFF, D. Extinction by Hybridization and Introgression. **Annual Review of Ecology and Systematics**, Florida, v.27, n° 1, p. 83-109, novembro,1996.

RIBOLDI, J. Cadernos **de matemática e estatística: análise de variância**. 2° Ed. Porto Alegre: Instituto de Matemática - UFRGS, série B, n° 27.1995, 105 p

RIESEBERG, L. H; ELLSTRAND, N. C. What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization? **Crit. Rev. Pl. Sci.** 12: 213-41, 1993.

RIESEBERG, L. H.; BAIRD, S. J.; GARDNER, K. A. Hybridization, introgression, and linkage evolution. **Plant Molecular Biology**, Vol. 42, No. 1. , pp. 205-224, 2000.

RIESEBERG, L. H; RAYMOND, O.; ROSENTHAL, D. M. **Major ecological transitions in annual sunflowers facilitated by hybridization.** **Science**, 301,1211-1216, 2003.

RODRIGUES, B. N.; ALMEIDA, F. S. **Guia de herbicidas**. 5° Ed. Londrina: IAPAR, 2005, 592p.

ROHLF, F. **Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System**. Versão 2.02. NTSYS-PC. 1997.

ROSENBERG; N. A. (2002). **DISTRUCT: A program for the graphical display of structure results**. <http://www.usc.edu/~noahr/distruct.html>.

SAARI, L. L.; COTTERMAN, J.C.; THILL, D.C. Resistance to acetolactate synthase inhibiting herbicides. In: POWLES, S. & HOLTUM, J.A.M. Herbicide resistance in plants: biology and biochemistry. **Boca Raton: CRC Press**, p.83-139, 1994.

SALES, M.; SHIVRAIN, V.; BURGOS, N.; KUK, Y. Amino Acid Substitutions in the Acetolactate Synthase Gene of Red Rice (*Oryza sativa*) Confer Resistance to Imazethapyr. **Weed Science** 56, 2008.

SANGUINETTI, C.J.; DIAS NERO, E.; SIMPSON, A. J. G. Rapid silver staining and recovery of PCR products separated on polyacrylamide gels. **Biotechniques** 17: 915-919, 1994.

SAMPATH S (Origins of cultivated rices. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, v.33, 157-161. 1973

SANTOS, F. M. et al., Controle químico de arroz-vermelho na cultura do arroz irrigado. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 25, n. 2, p. 405-412, 2007.

SATAKE, T. Sterile-type cool injury in paddy rice plants. In: INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE (Los Banos, Philippines). **Climate and rice**. Los Banos, 1976. p. 281-300.

SCHWANKE, A.M.L.; NOLDIN, J.A.; ANDRES, A.; PROCÓPIO, S.O.; CONCENÇO, G. Caracterização de ecótipos de arroz daninho (*Oryza sativa*) provenientes de áreas de arroz irrigado. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 26, n. 2, p. 249-260, 2008.

SEEFELDT, S. S.; JENSEN, J.E. E.; FUERST, E. P. Log-Logistic Analysis of Herbicide Dose-Response Relationships. **Weed Technology**, Lawrence, KS, v.9, n°2, p. 218-227, abril-junho, 1995.

SENSEMAN, S.A. **Herbicide handbook**. 9 ed. Champaign: Weed Science Society of America, 2007, 458 p.

SHIVRAIN, V. K; BURGOS, N. R.; MOLDENHAUER, K. A.; MCNEW, R. W.; BALDWIN, T. L. Characterization of Spontaneous Crosses between Clearfield Rice (*Oryza sativa*) and Red Rice (*Oryza sativa*). **Weed Technology**, Lawrence, KS, v. 20, n° 3. p. 576-584, janeiro-março, 2006.

SHIVRAIN, V.; BURGOS, N.; ANDERS, M.; RAJGURU, S.; MOORE, J.; SALES, M. Gene flow between Clearfield™ rice and red rice. **Crop Protection**, Raleigh NC, v. 26, n° 3, p.349-356, março, 2007.

SMALL E. Hybridization in the domesticated-weed-wild complex. **Plant Biosystematics**, ed. WF Grant, pp. 195–210. Toronto: Academic, 1984.

SMITH Jr. R.J. Weed competition in rice. **Weed Science**. Champaign. v.16, n°2, p. 552-555, dezembro, 1968.

SMITH, J.S.C.; SMITH, O.S. The description and assessment of distances between inbred lines of maize. II. The utility of morphological, biochemical and genetic descriptors and scheme for testing of distinctiveness between inbred lines. **Maydica**. Bergamo, v. 34, p.151-161, agosto, 1989.

SOSBAI, Sociedade Sul - Brasileira de Arroz Irrigado. **Arroz Irrigado: Recomendações técnicas da pesquisa para o Sul do Brasil / Sociedade Sul-Brasileira de Arroz Irrigado; Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado, 5., Reunião da Cultura do Arroz Irrigado, 27.** Pelotas, RS: SOSBAI, 2007.

SOUZA, P.R. de. Arroz Vermelho: um grande problema. **Lavoura Arrozeira.** Porto Alegre, v.42, n. 387, p. 20-25. 57, 1992.

SOUZA, P.R.; FISHER, M.M. Arroz vermelho: danos causados à lavoura gaúcha. **Lavoura Arrozeira.** Porto Alegre, v.39, n°368. p.19-20. 1986.

STACE, C.A. **Plant taxonomy and biosystematics.** Baltimore: Edward Arnold, 1980.

STADEN, R.; BEAL, K. F.; BONFIELD J. K. The Staden package. **Methods Molecular Biology;** Oxford, v.132, n° 2, p.115–30, 2000.

SUBRAMANIAN, M.; BERNASCONI, P.; HESS, F. D. Approaches to assess the frequency of resistance development to new herbicides. Proc. 2nd International **Weed Control Congress;** Copenhagen, Denmark. Pp. 1–8, 1996.

SUH HS, SATO YI & MORISHIMA H Genetic characterization of weedy rice (*Oryza sativa* L.) based on morpho-physiology, isozymes and RAPD markers. **Theoretical and Applied Genetics,** v. 94, n° 1, 316-321, abril-junho,1997.

SWOFFORD, D. L.. **PAUP* Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods), Version 4.0d64.** Sinauer Associates, Sunderland, MA, 2001.

TAN, S.; EVANS, R. R.; DAHMER; M. L.; SINGH B. K.; SHANER, D. L. Imidazolinone-tolerant crops: history, current status and future. **Pest Management Science,** New York, v.61, n°2, 246–257, dezembro, 2005.

TANG L, MORISHIMA H & TANG LH Genetic characterization of weedy rices and the inference on their origins. **Breeding Science,** Tokio, v.47, n°2, 153-160, junho,1997.

TEMNYKH, S.; DECLERCK, G.; LUKASHOVA, A.; LIPOVICH, L.; CARTINHOOR, S.; MCCOUCH, S. Computational and experimental analysis of microsatellites in rice (*Oryza sativa* L.): frequency, length variation, transposon associations, and genetic marker potential., **Genome research,** v. 11, n°2, p. 1441-1452, março, 2001.

THOMPSON, J. D.; HIGGINS D. G.; GIBSON T. J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**. Oxford v.2, n°22, p.4673-4680, setembro, 1994.

TRANEL, P.J. WRIGHT, T. R. Resistance of weeds to ALS-inhibiting herbicides: what have we learned? **Weed Science**. Champaign, v.50, n°6, p.700-712, novembro, 2002.

TRIPLET, G.B.; WOSHAM, A.D. **Principles of weed management with surface-tillage systems**. IN: **No tillage and surface-tillage agriculture**. New York, USA, 1986. p. 319-346. 467 p.

VAUGHAN, L.K.; OTTIS, B.V.; PRZAK-HAVEY, A.M.; SNELLER, C.; CHANDLER, J.M.; PARK, W.D. Is all red rice found in commercial rice really *Oryza sativa*?. **Weed Science**. Champaign, v. 49, n°3. p. 468-476, julho, 2001.

VAUGHAN, D. A. **The Wild Relatives of Rice. A Genetic Handbook**. International Rice Research Institute, Phillipinas, p137, 1994,

VERGARA, B.S. Raising the yield potential of rice. **Philippines Technical journal**. Phillipinas, v.13, n°1, p.3-9, janeiro-março, 1988.

VIDAL, R.A. **Herbicidas: mecanismos de ação e resistência de plantas**. Porto Alegre: Palotti,, p165, 1997.

VILLA, S. C. C.; MARCHEZAN, E.; MASSONI, P.F.S.; SANTOS, F.M.; AVILA, L.A.; MACHADO, S.L.O.; TELO, G.M. Controle de arroz-vermelho em dois genótipos de arroz (*Oryza sativa*) tolerantes a herbicidas do grupo das imidazolinonas. **Planta Daninha**, Viçosa, MG, v. 24, n. 3, p. 549-555, julho-setembro, 2006.

WANG, Z., WEBER, J.L., ZHONG, G., TANKSLEY, S.D. Survey of plant short tandem DNA repeats. **Theoretical and Applied Genetics**, Heidelberg v.88, n°1, p.1-6, abril, 1994.

WATANABE, Y. Classification and morphological characters of plants in genus *Oryza*. IN: MATSUO, T. & HOSHIKAWA, K. **Science of the rice plant**. Tokyo, v.1, n°7, p.23-32, agosto, 1993.

WATANABE, Y. Genomic constitution of Genus *Oryza*. IN: MATSUO, T. & HOSHIKAWA, K. **Science of the rice plant**, Tokyo, v. 3, n°2, p.29-68, março,1997.

WEBSTER, E. P.; MASSON, J. A. Acetolactate synthase inhibiting herbicides on imidazolinone-tolerant rice. **Weed Science**, Champaign, v. 49, n° 5, p. 652-657, setembro, 2001.

YOSHIDA, S. **Fundamentals of rice crop science**. Los Baños: IRRI, 1981.

YOSHIDA, S. Physiological aspects of grain yield. **Annual Review of Plant Physiology**. Palo Alto, v.23, p.437-464, 1972.

ZAMORA, A.; BARBOZA, C.; LOBO, J; ESPINOZA, A.M. Diversity of native rice (*Oryza* Poaceae:) species of Costa Rica. **Genetic Resources and Crop Evolution**. The Netherlands, v.50, n° 8, p. 855-870, dezembro, 2003.

ZIMDAHL, R. L. **Fundamentals of weed science**. San Diego: Academic press, , p.76,1991.

ZHANG, W.; LINScombe, S.; WEBSTER, E.; TAN, S.; OARD, J. Risk assessment of the transfer of imazethapyr herbicide tolerance from Clearfield rice to red rice (*Oryza sativa*). **Euphytica**, Dordrecht, v. 152, n° 1. p. 75-86, novembro, 2006.

ZHANG, W.; LINScombe, S.; OARD, J.. Genetic and agronomic analyses of red rice-Clearfield hybrids and their progeny produced from natural and controlled crosses . **Euphytica**, Dordrecht, v. 164, n°3, p.659-668, dezembro, 2008.