



YASMIN VASQUES BERCHEMBROCK

**UPLAND RICE BREEDING FOR EARLY FLOWERING AND
HIGH TEMPERATURE TOLERANCE**

**LAVRAS – MG
2021**

YASMIN VASQUES BERCHEMBROCK

**UPLAND RICE BREEDING FOR EARLY FLOWERING AND HIGH
TEMPERATURE TOLERANCE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutora.

Prof. Dra. Flávia Barbosa Silva Botelho
Orientadora

**LAVRAS -MG
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Berchembrock, Yasmin Vasques.

Upland rice breeding for early flowering and high temperature
tolerance / Yasmin Vasques Berchembrock. - 2021.

81 p. : il.

Orientador(a): Flávia Barbosa Silva Botelho.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.
Bibliografia.

1. Expressão gênica. 2. Genes da família ERECTA. 3. Predição
de populações segregantes. I. Botelho, Flávia Barbosa Silva. II.
Título.

YASMIN VASQUES BERCHEMBROCK

**MELHORAMENTO DE ARROZ DE TERRAS ALTAS PARA PRECOCIDADE E
TOLERÂNCIA A ALTAS TEMPERATURAS**

**UPLAND RICE BREEDING FOR EARLY FLOWERING AND HIGH
TEMPERATURE TOLERANCE**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Doutora.

APROVADA em 29 de julho de 2021

Dra. Cinthia Souza Rodrigues	Instituto Agronômico de Campinas (IAC)
Dr. Guilherme Barbosa Abreu	Embrapa Cacaos
Dra. Heloísa Oliveira dos Santos	UFLA
Dr. Tiago de Souza Marçal	UFLA

Prof. Dra. Flávia Barbosa Silva Botelho
Orientadora

**LAVRAS -MG
2021**

*Aos meus pais, por fazerem do meu, seus sonhos.
Aos meus irmãos, pela amizade ter transcendido o vínculo sanguíneo.
Ao meu companheiro de vida, por nunca ter largado minhas mãos.*
DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre guiar e iluminar meus caminhos.

Aos meus pais, Rosa e Edgard pelo apoio e incentivo. Por nunca medirem esforços. Por serem minha base, minha família e meu lar. Por sempre se fazerem presentes, mesmo longe.

Aos meus irmãos, Roger e Rafaela, por todo amor e parceria. Por sermos unidos, sermos família e, acima de tudo, sermos amigos.

Ao meu parceiro de vida, Rafael Peron, por descobrirmos que juntos, somos mais fortes. E à sua família, que se tornou parte de mim também.

À Professora Flávia Botelho pela orientação, pelo profissionalismo e acima de tudo, pelo exemplo de ser humano. E à sua família, Rodrigo, Juju e Tininha, por terem me recebido e me acolhido quando eu não tinha ninguém.

À equipe e amigos do MelhorArroz por tornarem a rotina mais agradável e terem sido meu apoio quando não pude estar presente.

Aos funcionários da EPAMIG, em especial ao Janir, por estarem sempre dispostos a ajudar.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, pela oportunidade e aprendizado ao longo dos anos.

Aos professores do PPGGMP por todo conhecimento e experiência transmitidos.

Thank you University of Arkansas and Dr. Vibha Srivastava for the opportunity and experience. And to my lab friends who always supported me, Bhuvan, Peter and Zhara.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de estudos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pela concessão da bolsa de estudos no exterior.

A todos que fizeram parte dessa conquista, muito obrigada!

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

RESUMO

No Brasil, o sistema de arroz de terras altas contribui fortemente para a produção nacional desse cereal. Estratégias para melhorar o desempenho do arroz de sequeiro e sua inserção no sistema brasileiro de produção de grãos, tem norteado as pesquisas em programas de melhoramento. Dentre esses, destaca-se a redução no ciclo do arroz, aumento na produtividade de grãos e tolerância aos estresses abióticos. Uma estratégia é a associação do melhoramento convencional com as novas técnicas de biotecnologia moderna. A busca por possíveis genes candidatos e sua manipulação visando a tolerância a altas temperaturas tem sido essencial nos programas de melhoramento. Os genes da família ERECTA (*ERfs*), codificam proteínas receptoras do tipo quinase que estão envolvidas no desenvolvimento morfológico e fisiológico das plantas bem como na resposta a diferentes estímulos ambientais. No genoma do arroz encontram-se três genes *ERfs*, *OsER1*, *OsER2* e *OsERL*, que apresentam potencial no desenvolvimento de genótipos tolerantes ao calor com a utilização de técnicas de engenharia genética. O trabalho buscou identificar o padrão de expressão dos *OsERfs* em genótipos de arroz no período reprodutivo desde a fase R2 até R6. Foram também obtidas plantas transgênicas T₀ carregando uma proteína ER truncada (Δ *Kinase*), funcionando como um supressor ER, a fim de estudar a sua influência no padrão de expressão dos *OsERfs*. Posteriormente, progênies oriundas dos genótipos de maior expressão do Δ *Kinase* foram submetidas ao estresse de alta temperatura por 14 dias durante o período reprodutivo. Maiores expressões do *OsERfs* foram observadas no início da fase reprodutiva, R2 a R4. Observou-se um efeito de compensação genética, ocorrendo a regulação transcricional positiva dos *OsERfs* na presença do Δ *Kinase*. Todavia, as plantas transgênicas não apresentaram tolerância ao calor durante a fase reprodutiva, resultando em alta esterilidade e reduzida produtividade de grãos. Uma alternativa além do das cultivares tolerantes ao estresse de calor são as cultivares precoces que, além de reduzir o tempo de exposição da lavoura a períodos de temperaturas extremas, permitem a sua inserção em sistemas de sucessão com outras culturas. Visando reduzir o ciclo em genótipos de arroz, uma alternativa é a hibridação. Todavia, o sucesso desta técnica depende da eficiência na seleção dos genitores ou das populações segregantes oriundas dos cruzamentos. Assim, alguns procedimentos para predição do potencial genético de populações segregantes foram aplicados a fim de selecionar uma população com precocidade de florescimento e produtividade de grãos. As populações foram obtidas a partir do cruzamento biparental entre uma cultivar super precoce, BRSMG Caçula, e duas produtivas, BRSMG Caravera e CMG1590. A seleção se baseou nas estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos, componentes de média e variância e probabilidade de linhagens em F_∞ de superar um padrão. Ademais, para cada população foram avaliadas progênies em gerações avançadas de endogamia. Os diferentes métodos utilizados foram satisfatórios na seleção de populações precoces e produtivas. A associação de dois ou mais procedimentos podem auxiliar o melhorista na seleção de populações com bom desempenho e variabilidade genética. A população BRSMG Caçula x Caravera foi superior para seleção de genótipos precoces e produtivos.

Palavras-chave: Expressão gênica. Genes da família ERECTA. Predição de populações segregantes.

ABSTRACT

In Brazil, the upland rice system contributes to the national production of this cereal. Strategies to improve the performance of upland rice and its insertion in the Brazilian grain production system have guided research in breeding programs. Among these, there is a reduction in rice life cycle, increase in grain yield and tolerance to abiotic stresses. One strategy is to combine conventional breeding with the new techniques of modern biotechnology. The search for possible candidate genes and their manipulation aiming at high temperature tolerance has been essential in breeding programs. The ERECTA family genes (*ERfs*) encode receptor-like kinase proteins that are involved in morphological and physiological development of plants, as well as in the response to different environmental stimuli. In the rice genome there are three *ERfs* genes, *OsER1*, *OsER2* and *OsERL*, which have potential in development of heat-tolerant genotypes using genetic engineering techniques. The work identified the expression pattern of *OsERfs* in rice genotypes in the reproductive stage from R2 to R6 stage. T₀ transgenic plants carrying a truncated ER protein (Δ *Kinase*), functioning as an ER suppressor, were obtained to study its influence on the expression pattern of *OsERfs*. Subsequently, progenies T₁ from genotypes with the highest Δ *Kinase* expression were submitted to high temperature stress for 14 days during the reproductive stage. Greater expressions of *OsERfs* were observed at the beginning of the reproductive stage, R2 to R4. A genetic compensation effect was observed, with a positive transcriptional regulation of *OsERfs* in the presence of Δ *Kinase*. However, transgenic plants did not show heat tolerance during the reproductive stage, resulting in high sterility and reduced grain yield. An alternative in addition to the heat stress tolerant cultivars are early flowering cultivars which reduce the time of exposure of the crop to periods of extreme temperatures and allow its insertion in succession systems with other crops. In order to reduce the cycle in rice genotypes, an alternative is hybridization. However, the success of this technique depends on the efficiency in the selection of parents or segregating populations from crosses. Thus, some procedures to predict the genetic potential of segregating populations were applied to select a population with early flowering and grain yield. Populations were obtained from a biparental crossing between an early flowering cultivar, BRSMG Caçula, and two high grain yield lines, BRSMG Caravera and CMG1590. The selection was based on estimates of genetic and phenotypic parameters, mean and variance components, and probability of F_∞ lines that surpass a pre-established standard. Furthermore, progenies in advanced generations of inbreeding were evaluated for each population. The different methods used were satisfactory in the selection of early flowering and productive populations. The association of two or more procedures can help the breeder to select populations with good performance and genetic variability. The BRSMG Caçula x Caravera population was superior for selection of early flowering and high grain yield genotypes.

Keywords: Gene expression. ERECTA family genes. Prediction of segregant populations.

SUMÁRIO

	CAPÍTULO 1: INTRODUÇÃO GERAL	10
1	INTRODUÇÃO GERAL	11
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Cenário da cultura do arroz no Brasil e no Mundo	15
2.2	ERECTA como gene candidato na tolerância a estresses abióticos	17
2.3	Precocidade e sua aplicação na cultura do arroz	19
2.4	Predição e seleção de populações segregantes	22
	REFERÊNCIAS	25
	CAPÍTULO 2 EXPRESSION PATTERN OF ERECTA GENES IN RICE AND ITS SUPPRESSION FOR HEAT TOLERANCE	32
1	INTRODUCTION	34
2	MATERIAL AND METHODS	36
2.1	Expression pattern of <i>OsERfs</i> in cultivar Nipponbare	36
2.2	Generation of transgenic rice plants	37
2.3	Expression pattern of <i>OsERfs</i> and Δ<i>Kinase</i> in transgenic plants	37
2.4	High temperature stress analyses	37
3	RESULTS	38
3.1	Expression pattern of rice <i>ERECTA</i> genes in reproductive stages	38
3.2	Transgenic plants expressing Δ<i>Kinase</i> gene under high temperature	40
4	DISCUSSION	44
	REFERENCES	48
	CAPÍTULO 3 POTENCIAL DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE ARROZ DE TERRAS ALTAS PARA PRECOCIDADE DE FLORESCIMENTO	51
1	INTRODUÇÃO	53
2	MATERIAL E MÉTODOS	55
2.1	Obtenção das populações segregantes	55
2.2	Condução do experimento	55
2.3	Predição do potencial de populações segregantes	55
2.4	Avaliação de progênes precoces F_{2:4} e F_{2:5}	56
3	RESULTADOS	58
4	DISCUSSÃO	66
5	CONCLUSÃO	75
	REFERÊNCIAS	76
	APÊNDICE A	81

CAPÍTULO 1
INTRODUÇÃO GERAL

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cultura do arroz (*Oryza sativa*) se caracteriza como uma importante fonte de energia na forma de amido, além de proteínas, vitaminas e minerais associados a um baixo teor de lipídeos. Principalmente nos países em desenvolvimento, a cultura é a base alimentar da população, contribuindo com 27% dos carboidratos, 20% das proteínas e 3% dos lipídios da alimentação (WALTER; MARCHEZAN; AVILA, 2007).

A cultura do arroz se destaca como a terceira com maior área plantada no Brasil segundo o último levantamento da safra 2020/2021, ficando atrás apenas do milho e da soja (CONAB, 2021b). A área destinada ao arroz de terras altas teve um incremento de 1,3% comparado a safra passada (2019/2020) o que resultou em 20,2 mil toneladas a mais do grão do que no último ano.

Em outubro de 2020, o arroz bateu recorde de preço. O valor da saca de 50 kg vendida pelos produtores chegou a R\$ 106,34 e, comparado a média dos últimos dez anos, quase quadruplicou seu valor (CEPEA, 2021). O encarecimento do arroz nos últimos meses está relacionado ao aumento da exportação do produto, reduzindo a oferta no mercado interno e, consequentemente, resultando em alta no preço. Com isso, o país precisou importar 1,1 milhões de toneladas do grão ainda no primeiro trimestre de 2021 (CONAB, 2021).

Apesar do preço atrativo do cereal, o arroz possui algumas limitações aos produtores, principalmente no sistema de terras altas. Dentre esses, podemos destacar a sensibilidade da cultura frente ao estresse hídrico por seca e a altas temperaturas e a valorização dos preços de grãos que competem por área com a cultura do arroz, como milho e soja (ARF *et al.*, 2012; SOARES *et al.*, 2013).

Tentar conter os principais problemas ambientais sem, contudo, haver redução do potencial produtivo de grãos, torna-se de extrema importância para a sustentabilidade do meio ambiente, da produção mundial deste cereal e da segurança alimentar dos países produtores e consumidores dos grãos.

Desde o desenvolvimento de métodos refinados de biologia molecular que permitiram a manipulação do material genético, a biotecnologia moderna associada ao melhoramento genético convencional se tornou importante no desenvolvimento de genótipos tolerantes aos principais estresses abióticos, contudo, correlacionado com um alto rendimento de grãos (OLIVEIRA; SANTOS; BARBOSA, 2012).

O arroz é particularmente sensível ao déficit hídrico e temperaturas extremas, principalmente, durante o período reprodutivo, podendo resultar em perdas drásticas de produtividade (HSIO, 1982; VENUPRASAD; LAFITTE; ATLIN, 2007). O arroz de terras altas

tem uma grande dependência da pluviosidade ou da irrigação suplementar nas regiões sudeste e centro-oeste, podendo haver grandes perdas nas lavouras em razão da distribuição irregular das chuvas, principalmente nos meses de janeiro a março, estando expostos a períodos de veranicos (ARF *et al.*, 2002; SOARES *et al.*, 2005). Além disso, o aumento da temperatura também pode trazer efeitos negativos à produtividade de grãos, resultado do aumento da esterilidade de espiguetas relacionado, principalmente, aos problemas durante a microsporogênese (SHAH *et al.*, 2011).

A preocupação com as mudanças climáticas e, com as projeções de aumento da temperatura global nas próximas décadas, tem levado os pesquisadores a buscarem diferentes fontes de tolerância ao calor. Embora a tolerância seja uma característica complexa e de baixa herdabilidade, é possível encontrar na literatura genes que se apresentem como candidatos na tolerância a altas temperaturas em plantas.

Os genes da família ERECTA (*ERfs* - *ERECTA family receptor signaling*) são receptores do tipo quinase, uma família de proteína receptoras de superfície celular. Os *ERfs* agem como reguladores dos processos de desenvolvimento morfológico e fisiológico das plantas, bem como na modulação das respostas aos diferentes estímulos ambientais (VAN ZANTEN *et al.*, 2009).

O gene *ERECTA* de *Arabidopsis*, mostrou-se atuar diretamente na tolerância ao calor. A primeira observação ocorreu na comparação entre os ecótipos Columbia-0 (Col-0) e Landsberg *erecta* (Ler) quanto a sensibilidade a altas temperaturas, por Shen *et al.* (2015). Ao serem expostas a temperaturas de 40°C durante 48h, as plantas Ler começaram a murchar nas primeiras 12h e apresentaram folhas completamente secas e mortas ao final do experimento. Enquanto isso, as folhas das Col-0 começaram a sentir o calor somente nas primeiras 36h e, ao final, cerca de 50% das folhas ainda retinham sua pressão osmótica. Os autores ainda detectaram dois principais QTLs (*quantitative trait loci*) responsáveis pela diferença na tolerância ao calor entre os dois ecótipos avaliados, sendo um desses encoberto por uma região em que se encontra o gene *ER*. Os autores associaram o gene *ER* como um dos principais genes do QTL para tolerância ao calor, protegendo as células do dano e morte celular induzidos pela alta temperatura.

Os *ERfs* estão envolvidos em diversos mecanismos nas plantas como alongação da parte aérea, iniciação foliar, desenvolvimento de flores e diferenciação epidérmica (VILLAGARCIA *et al.*, 2012). Além disso, foi identificado sua importância na regulação da eficiência de transpiração, influenciando diretamente nas taxas de transpiração e fotossíntese nas plantas, apresentando grande potencial na tolerância ao estresse hídrico por seca (MASLE *et al.*, 2005).

Embora extensivamente estudados em *Arabidopsis thaliana*, ainda são limitadas as informações na literatura a respeito desses genes em culturas de maior interesse agrícola. Em arroz, são encontrados três genes *ERfs*, caracterizados como *OsERfs*, sendo esses *OsER1*, *OsER2* e seu parálogo, *OsERLike* (*OsERL*). Identificar o comportamento e o padrão de expressão desses genes ao longo das fases de desenvolvimento das plantas de arroz, bem como seu envolvimento na resposta a diferentes estímulos ambientais, é de grande importância no desenvolvimento de cultivares de arroz tolerantes aos estresses de altas temperaturas e déficit hídrico.

Além da utilização de cultivares tolerantes a seca e/ou ao calor, a adoção de cultivares precoces se torna uma alternativa ao produtor.

A redução do ciclo em arroz constitui uma importante estratégia de escape da época crítica ao estresse, com isso, a espécie tem sido alvo de estudos em programas de melhoramento visando associar a precocidade e a produtividade de grãos (SOARES *et al.*, 2008; SOARES *et al.*, 2013). Ademais, cultivares precoces de arroz de terras altas trazem diversas vantagens no sistema agrícola de produção de grãos.

No sistema de sucessão de culturas, as cultivares precoces tem papel importante, permitindo a saída mais rápida da cultura na área, antecipando a entrada de outra espécie e permitindo a instalação da segunda safra (safrinha) sem comprometer a “janela de plantio”, além de mais tempo para planejar o manejo entressafra (CORTE; MODA-CIRINO; DESTRO, 2002; BURATTO *et al.*, 2007; SILVA; RAMALHO; ABREU, 2007).

Os métodos de melhoramento por hibridação, constitui uma alternativa ao melhorista para ampliação da variabilidade genética. Esse, tem sido um dos passos iniciais em programas de melhoramento para a geração do material básico para a seleção (GUIMARÃES; FERREIRA, 1987). Com a hibridação os melhoristas buscam reunir em um único genótipo ou linhagem alelos favoráveis de diferentes genitores para uma característica de interesse.

Geralmente, o melhorista possui uma grande gama de linhagens disponíveis, todavia, os programas de melhoramento possuem limitações quanto a área e recursos, os quais não podem ser extrapoladas. Sendo assim, o melhorista precisa utilizar procedimentos que permitam a escolha bem-sucedida de genitores e populações segregantes com potencial para gerar genótipos e linhagens superiores as pré-existentes (RAMALHO *et al.*, 2012).

A escolha de genitores e populações segregantes não é uma tarefa fácil, porém, na literatura são relatadas algumas metodologias a serem aplicadas. Baenziger e Peterson (1991) sugeriram a divisão dessas metodologias em duas categorias, aquelas baseadas somente na informação *per se* dos genitores, como média, coeficiente de parentesco e divergência genética,

ou aquelas baseadas no comportamento da descendência, podendo acontecer com base nos cruzamentos dialélicos, estimativas de $m+a'$ e d , estimativa da probabilidade de linhagens em F_{∞} de superar um padrão, entre outras (VENCOVSKY, 1987; GARDNER. EBERHART, 1966; JINKS E POONI, 1976; CRUZ; REGAZZI; CARNEIRO, 2004).

Uma população é dita superior quando essa reúne bom desempenho, associada a suficiente variabilidade para a característica de interesse (ALLARD; HANSCHKE, 1964). Vale destacar que a escolha de populações promissoras se faz necessária nas primeiras gerações possíveis, permitindo ao melhorista um gasto menor de tempo e recurso em genótipos com baixo desempenho (ABREU; RAMALHO; SANTOS, 2002).

Dado o exposto, o trabalho teve por objetivo avaliar o padrão de expressão dos genes *OsERfs* em plantas de arroz e estudar o comportamento de plantas transgênicas carregando um gene de supressão do ER ($\Delta Kinase$) expostas a altas temperaturas. Além disso, foram avaliados o desempenho de populações segregantes de arroz de terras altas visando a precocidade do ciclo, sem, contudo, haver perda na produtividade de grãos. Para isso, foram aplicados diferentes métodos de predição nas gerações iniciais F_2 e F_3 do programa de melhoramento.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Cenário da cultura do arroz no Brasil e no Mundo

O arroz é um cereal do gênero *Oryza*, do qual a espécie *Oryza sativa* e *Oryza glaberrima*, se destacam como as únicas domesticadas e cultivadas para consumo humano. É atualmente plantada em quase todos os continentes, no entanto, foi domesticado na Ásia onde evoluiu sobre forte pressão de seleção humana e natural (LI; RUTGER, 2000). Ao longo dos milênios a espécie se diferenciou em três subgrupos, *indica*, *japônica* e *javanica*, o qual se distinguem, entre outras coisas, quanto a sua adaptação climática, conteúdo de amilose, alongamento dos grãos e temperatura de gelatinização (SWAMINATHAN, 1985).

O arroz (*Oryza sativa*) é uma das culturas cerealíferas de maior importância socioeconômica mundial. Atualmente, é cultivado em seis dos sete continentes do mundo, sendo fonte de alimento para mais da metade da população mundial e uma das principais fontes de carboidrato. Com destaque ao seu alto consumo entre os países mais populosos, como China e Índia (HU *et al.*, 2012).

Segundo últimos dados da Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura – FAO, no ano de 2013 a média mundial de consumo de arroz em casca foi de quase 4,2 milhões de toneladas, sendo o consumo médio individual de 45g/per capita/dia. Todavia, nos últimos dez anos a população mundial tem aumentado cerca de 1% anualmente, sendo observado maior incremento na Ásia e África, onde o arroz é a base alimentar da população (KUBO; PUREVDORJ, 2004; TIMMER; BLOCK; DAWE, 2010). Com isso, prevê-se um aumento de produção de 2 milhões de toneladas desse cereal até 2050 a fim de suprir a demanda alimentar do produto (JEON *et al.*, 2011).

Segundo previsão realizada por Timmer, Block e Dawe (2010), embora o consumo mundial de arroz ainda seja liderado pela Ásia, até 2050 a África terá uma posição de destaque na economia global arroseira. No entanto, ainda que os autores tenham previsto um incremento anual de 3,92% no consumo do grão no continente africano, eles não acreditam nesse contínuo aumento exponencial, uma vez que o continente se tornará dependente de importações do produto, podendo esse não ser suportado política e financeiramente.

Segundo dados levantados pela FAO, em 2019 a produção mundial de arroz foi de 9,7 milhões de toneladas dos quais somente a China, maior produtora, foi responsável por 22% do montante total. Apesar da alta produção, a China também foi destaque ficando no segundo lugar do ranking de importação desses grãos, ou seja, nesse país o arroz é cultivado somente para consumo doméstico. No mesmo ano, o Brasil se manteve na décima segunda colocação no

ranking de produção mundial contribuindo com apenas 1% do total. A produção brasileira foi a menor observado dos últimos vinte anos, com uma área plantada de apenas 47% quando comparada ao ano de 2000.

O arroz é um alimento essencial na dieta da maioria da população brasileira. Segundo a Pesquisa de Hábitos Alimentares Brasileiros realizada em 2006, o consumo de arroz ficou acima de 90% em todos os grupos sociais, pertencentes a todos os cinco segmentos de renda da sociedade brasileira (BARBOSA, 2007). Com o acometimento da maior crise sanitária mundial dos últimos cem anos devido a pandemia da COVID-19 e, conseqüentemente, com o isolamento social, houve um aumento na frequência das refeições em domicílio gerando um incremento no consumo e logo, na importação de arroz no Brasil. De fevereiro a novembro de 2019 houve a importação de 829,7 mil toneladas do grão dos quais a maior parte veio dos Estados Unidos (CONAB, 2021).

No Brasil, o sistema de cultivo de arroz se divide em dois tipos: terras altas e inundado. No sistema inundado o arroz pode estar em uma área naturalmente alagada ou sob áreas de várzea com ou sem irrigação controlada. Já no cultivo de terras altas, comumente chamado de arroz de sequeiro, é cultivado em terras firmes podendo ou não utilizar irrigação suplementar.

O arroz de terras altas foi comumente utilizado no Brasil para recuperação de áreas de pastagens degradadas, ou seja, áreas com solos descobertos, elevado índice de plantas daninhas, grande quantidade de cupins e formigas e solos com alta acidez e compactação, sendo uma importante alternativa ao produtor uma vez que a renovação tecnificada dessas áreas através do sistema convencional apresenta custo elevado (REIS, 1998; MACEDO; KICHEL; ZIMMER, 2000). Além disso, essas áreas são caracterizadas principalmente pela baixa fertilidade e baixa capacidade de retenção de água, sendo a cultura do arroz de terras altas prejudicada pela ocorrência de veranicos, caracterizados por curtos períodos de estiagem que ocorrem nas áreas de cultivo (CRUSCIOL *et al.*, 2003). Esses fatores, associados a utilização da cultura para abertura de novas áreas agrícolas e baixo investimento tecnológico por parte do produtor, é responsável pela menor produtividade do sistema de terras altas quando comparado ao sistema inundado (FERREIRA *et al.*, 2005). Na safra 2019/2020 a estimativa de produtividade do arroz de sequeiro foi de 2,5 ton.ha⁻¹ quando comparado a 7,9 ton.ha⁻¹ do arroz irrigado (CONAB, 2021).

Todavia, o arroz de terras altas tem conquistado espaço como componente do sistema de produção de grãos, especialmente no sistema de plantio direto, como produção de palhada nos sistemas de cultivo em rotação ou sucessão de culturas. Com isso, o arroz de sequeiro tem aumentado seu potencial produtivo sendo uma alternativa para produtores mais tecnificados,

em ambientes de lavouras mecanizadas e sob sistemas de irrigação complementar. Além disso, o sistema de arroz irrigado é um dos que mais utilizam água proveniente de irrigação e, diante da preocupação com a crise mundial da água e a preocupação com a produção sustentável de alimentos, o sistema de arroz de sequeiro se torna uma alternativa na cadeia produtiva arrozeira (PORTUGAL *et al.*, 2015).

Embora tenha ocorrido uma redução da área total plantada de arroz na safra 2019/2020 quando comparada com a anterior, houve um incremento de 5,9% da área plantada com arroz de terras altas e, conseqüentemente, incremento de 89,4 mil toneladas de grãos produzidos a partir desse sistema (CONAB, 2020). No Brasil o arroz de sequeiro é mais comum no cerrado, podendo ocorrer em duas épocas de plantio, de outubro a dezembro ou de janeiro a fevereiro. Na safra 2019/2020 os maiores produtores no sistema de terras altas foram os estados do Mato Grosso e Maranhão.

Apesar da menor produtividade, o arroz de terras altas mantém um importante papel na agricultura brasileira, visto que, o arroz irrigado sozinho não consegue abastecer o mercado interno. Sendo assim, a inserção do arroz de sequeiro é interessante para garantir o abastecimento interno sem necessidade de aumento nas importações (FERREIRA *et al.*, 2002). Logo, os programas de melhoramento genético da cultura do arroz têm um importante papel na oferta de cultivares de arroz de terras altas que agreguem maior produtividade, estabilidade de produção e oferta de produtos de melhor qualidade, adequando-se às exigências dos produtores e consumidores.

2.2 ERECTA como gene candidato na tolerância a estresses abióticos

A preocupação com o aumento da população mundial associado a frequência na ocorrência de condições meteorológicas extremas, tem levado os cientistas a buscarem métodos mais eficientes para produção sustentável de alimentos. Assim, uma estratégia a ser empregada em programas de melhoramento genético para a obtenção de genótipos produtivos e tolerantes aos principais estresses abióticos, é a associação de técnicas biotecnológicas ao melhoramento convencional.

As aplicações da biotecnologia vegetal na agricultura já é uma realidade. Desde o início do século houve um aumento no uso de cultivares transgênicas na produção de grãos e produtos de grandes culturas agrícolas como milho, soja e algodão (FERREIRA; FALEIRO, 2008). Todavia, a manipulação de genes de interesse utilizando técnicas de engenharia genética dependem do conhecimento aprofundado de suas principais funções a nível molecular.

Embora a tolerância a estresses abióticos seja um caráter complexo e que envolve muitos genes de pequenos efeitos distribuídos pelo genoma, denominados QTLs (*quantitative trait loci*), é possível encontrar na literatura genes com ampla gama de funções, tornando-os potenciais candidatos na melhoria da expressão fenotípica das culturas frente aos estresses ambientais. Dentre esses, podemos destacar os genes da família ERECTA (*ERfs* - *ERECTA family receptor signaling*)

Vias centrais de sinalização são usadas repetidamente durante a morfogênese para gerar respostas distintas em diferentes tecidos e órgãos, e são diretamente influenciadas pelo ambiente. Em plantas, uma dessas vias é a sinalização do receptor da família ERECTA (SHPAK, 2013). Os genes *ERfs* codificam uma proteína quinase receptora transmembrana, conhecido como RLKs (*receptor-like kinase*), com um domínio de ligação do ligante extracelular rico em repetições de leucina (LRR - *leucine-rich repeat*), implicando numa via de transdução de sinal através da cascata de MAP (*mitogen activated protein kinases*) quinase (TORII *et al.*, 1996).

Os *ERfs* são responsáveis por controlar diversos aspectos no desenvolvimento e arquitetura de plantas como alongamento de órgãos da parte aérea, iniciação de folhas, desenvolvimento de flores e diferenciação da epiderme (VILLAGARCIA *et al.*, 2012). Mais recentemente os *ERfs* têm sido descritos na resposta a diferentes estresses bióticos e abióticos, como consequência do seu envolvimento direto na morfologia das plantas. Em muitos processos, o gene *ER* funciona sinergicamente com seu parálogo, *ER-Like*.

Masle, Gilmore e Farquhar (2005), relataram a influência do gene *ER* na regulação da eficiência de transpiração em *Arabidopsis thaliana*, por mecanismos que incluem efeitos na organogênese foliar e modulações na densidade estomática, expansão das células epidérmicas, proliferação das células do mesófilo e contato célula-célula. Os autores observaram que plantas *er* mutantes exibiram menor eficiência de transpiração, ao mesmo tempo que, nos mesmos genótipos transgênicos transformados com o gene *ER*, a eficiência de transpiração foi superior tanto em condições normais quanto em condições de estresse por seca. O estudo reportou ainda menor condutância estomática em genótipos *ER*, associado a menor densidade estomática, quando comparado aos *er* mutantes. O *ER* foi o primeiro gene descrito a agir diretamente na coordenação entre transpiração e fotossíntese, e, por estar presente em diversas culturas de interesse agrícola (ZHANG *et al.*, 2018), se apresenta com grande potencial no desenvolvimento de genótipos tolerantes ao estresse hídrico por seca.

Estudo realizado por Shen *et al.* (2015) também identificou a relação do gene *ER* na tolerância a altas temperaturas. Os autores observaram que genótipos *er* mutantes de

Arabidopsis apresentaram maior sensibilidade ao calor quando comparados ao tipo selvagem. Todavia, os genótipos na presença do transgene *ER* nativo, apresentaram a tolerância ao calor restaurada. Ademais, os autores super expressaram o gene *ER* em plantas selvagens na esperança de obter genótipos tolerantes a altas temperaturas. As plantas transgênicas apresentaram incremento na biomassa, no número de inflorescências, no peso da parte aérea e na produção de sementes. Os genótipos que acumularam maior nível de transcritos do transgene, de fato, apresentaram maior tolerância ao calor. As plantas foram submetidas a temperatura de 40°C em câmaras de crescimento durante dois dias e apresentaram uma taxa de sobrevivência até 75% superior quando comparado ao tipo selvagem. Embora o ER tenha aumentado a termotolerância nas plantas, o mecanismo celular envolvido ainda é desconhecido. No mesmo estudo, os autores inseriram o gene *ER* de *Arabidopsis* em plantas de arroz, e, novamente, observaram maior tolerância das plantas transgênicas com super expressão do gene *ER* quando submetidas ao calor, tanto em ambiente controlado quanto a campo. Essas, no final do ciclo, apresentaram maior número de sementes cheias e, logo, maior potencial produtivo quando comparadas ao genótipo selvagem.

Os *ERfs* tem sido largamente estudados em *Arabidopsis thaliana*, e, embora se apresente altamente conservado nas diferentes espécies (ZHANG *et al.*, 2018), é necessário obter maiores informações sobre seu papel funcional na morfologia, fisiologia e resposta a estresses abióticos em espécies agrícolas de maior impacto econômico.

2.3 Precocidade e sua aplicação na cultura do arroz

O ciclo de uma planta compreende o tempo em que essa demora para se desenvolver, desde o plantio até o momento da colheita. A precocidade, segundo Costa e Zimmermann (1988), pode ser caracterizada como a capacidade dessas em completarem seu ciclo em período inferior ao considerado em média para cada cultura. Por trazer algumas vantagens no sistema agrícola de produção, essa redução no ciclo tem sido alvo de estudos em programas de melhoramento de diversas espécies agrícolas, incluindo algumas autógamas como soja (BUENO, 2017; TEIXEIRA *et al.*, 2017), feijão (SILVA; RAMALHO; ABREU, 2007; MACHADO *et al.*, 2008; VALE *et al.*, 2015) e trigo (JI; LIU, 2009).

O ciclo de vida da planta de arroz pode variar de 90 a 210 dias, dependendo da cultivar e das condições ambientais, e divide-se em três fases: plântula, vegetativa e reprodutiva. As cultivares de arroz podem ser classificadas, quanto ao ciclo de desenvolvimento, em super precoces, atingindo a maturação completa em menos de 105 dias, precoces, de 106 a 120 dias, médias, de 121 a 135 dias e tardias, com ciclo acima de 135 dias (BORÉM; RANGEL, 2015).

O manejo do ciclo do arroz, visando o encurtamento desse, tem várias aplicações práticas no sistema agrícola brasileiro. Cultivares precoces possuem uma vantagem no escape de condições climáticas adversas, podendo reduzir a coincidência da fase reprodutiva com períodos de estiagem prolongados, principalmente em cultivos totalmente dependentes das condições pluviais, além de escape a períodos de altas temperaturas (HEINEMANN, 2010). Uma vez que o estresse hídrico de seca e calor extremo são os principais estresses abióticos na cultura do arroz de terras altas, esses podem afetar fortemente o desenvolvimento das plantas e, conseqüentemente, o rendimento de grãos (GAO; CHAO; LIN, 2007). Ademais, cultivares precoces estão menos sujeitas aos riscos frente a diversos patógenos e pragas que atacam a cultura, devido ao menor tempo de exposição da lavoura.

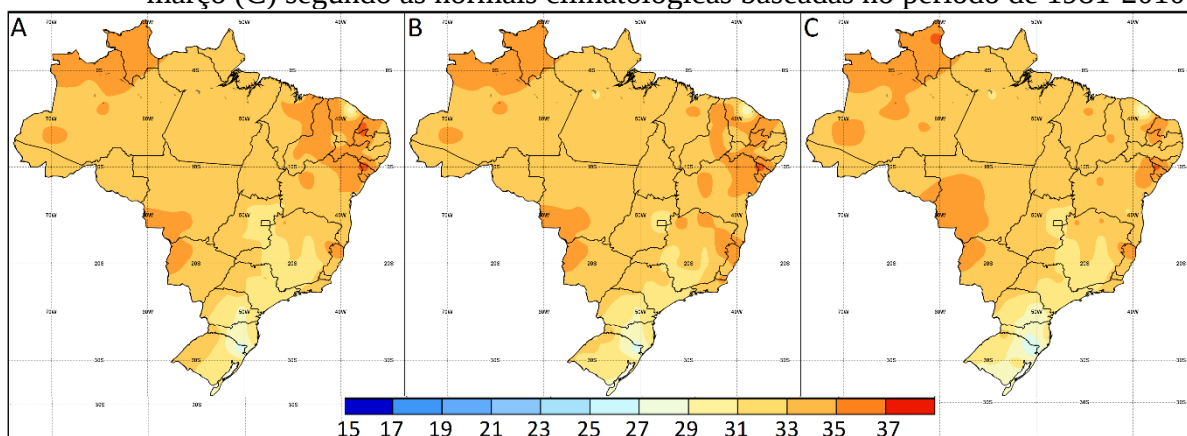
Cultivares precoces também tem um papel importante nos sistemas agrícolas de rotação e sucessão de culturas, permitindo a colheita antecipada, semeadura tardia e mais tempo para o manejo entressafra.

Enquanto a rotação de culturas se caracteriza pela alternância de diferentes culturas em determinado espaço de tempo, na mesma área e na mesma estação do ano, a sucessão é definida como o ordenamento de duas culturas na mesma área agrícola, sendo cada uma cultivada em uma estação do ano diferente. Essa divisão é determinada pelo zoneamento climático da cultura, diversidade botânica, diferença nos sistemas radiculares e exigências nutricionais (FRANCHIANI *et al.*, 2011).

A inserção do arroz no sistema de sucessão de cultura tem se apresentado como uma alternativa economicamente positiva aos orizicultores. O arroz de terras altas pode ser uma alternativa ao milho após a soja, na sucessão feijão de inverno-arroz de terras altas, ou ainda em sucessão com milho e sorgo para produção de silagem (BORDIN *et al.*, 2003; SPOHR *et al.*, 2005; PACHECO *et al.*, 2013).

Todavia, a sensibilidade do arroz a altas temperaturas pode ser um desafio na inserção da cultura em sistemas de sucessão. Considerando-se que, principalmente na região centro-oeste, o plantio de primeira safra das culturas de milho e soja se iniciam a partir de setembro, a entrada do arroz seria prevista para acontecer a partir de janeiro (CONAB, 2019), época em que as temperaturas podem chegar acima de 31°C nos principais estados produtores da cultura (FIGURA 1).

Figura 1 - Temperatura máxima nacional observada nos meses de janeiro (A), fevereiro (B) e março (C) segundo as normais climatológicas baseadas no período de 1981-2010.



Fonte: INMET (2021).

A temperatura limite superior na fase reprodutiva do arroz pode variar de 32 a 35°C, afetando desde a fase de emborrachamento até a maturação dos grãos, resultando em decréscimo na produtividade (YOSHIDA, 1978; MORITA *et al.*, 2004; JAGADISH *et al.*, 2007; SHAH *et al.*, 2011). Em relação aos gametas masculinos, o calor extremo pode prejudicar diretamente a deiscência da antera, liberação de pólen, germinação do grão de pólen no estigma e alongamento dos tubos polínicos (SATAKE; YOSHIDA, 1978; PRASAD *et al.*, 2006; KRISHNAN *et al.*, 2011). Logo, a associação de cultivares precoces com tolerância a altas temperaturas se torna uma alternativa vantajosa ao produtor que pretende inserir a cultura no seu sistema de produção.

Em resumo, as vantagens de se obter cultivares precoces estão associadas ao menor tempo de exposição a estresses bióticos e abióticos, principalmente a períodos de escassez de água e de temperaturas extremas, menor consumo de água, energia e uso de solo em cultivos irrigados reduzindo custo de produção, favorecimento do sistema de sucessão e rotação de culturas antecipando a entrada de outra cultura ou instalação da segunda safra (safrinha), além de permitir a comercialização antecipada do produto (CORTE; MODA-CIRINO; DESTRO, 2002; BURATTO *et al.*, 2007; SILVA; RAMALHO; ABREU, 2007).

Como medida para avaliação e seleção à campo de plantas com ciclo reduzido, pode-se utilizar o número de dias desde a emergência até o florescimento, quando aparecem as primeiras flores, ou ainda, da emergência a maturidade fisiológica. Estudando o ciclo de desenvolvimento de plantas de arroz, Streck *et al.*, (2006b) observaram uma relação linear positiva entre a duração do ciclo total da cultura e a duração da fase vegetativa. Ou seja, do tempo entre a fase de emergência a completa maturidade da panícula (R9), e entre a fase de emergência até o estágio R2, também conhecida como fase de emborrachamento o qual antecede a floração. Isto

é, a cultivar será mais precoce quanto menor for a fase vegetativa, e, mais tardia, quanto maior essa for.

Além disso, observa-se pouca variabilidade entre as cultivares comerciais de arroz durante o período de florescimento a maturação fisiológica (estádios R2 a R9), sendo que a maior parte da variação em genótipos de arroz, frente ao comprimento do ciclo, ocorre na fase vegetativa (HEINEMANN *et al.*, 2008; STRECK *et al.*, 2006a). Sendo assim, a estratégia de avaliação da duração do ciclo a partir da fase de semeadura ou emergência em dias corridos até a emissão da panícula, tem sido aplicado em programas de melhoramento de arroz.

O tempo para início do florescimento, diretamente ligado ao ciclo de desenvolvimento em arroz, é dependente de fatores genéticos e ambientais. Entre os fatores ambientais podemos destacar a temperatura e o fotoperíodo. A sensibilidade ao fotoperíodo em genótipos de arroz tem início no fim do período vegetativo e se estende até dois ou três dias após a diferenciação da panícula, estágio R1. O arroz é caracterizado como uma planta de dia curto, sendo que ocorre atraso no florescimento à medida que o fotoperíodo aumenta (COUNCE; KEISLING; MITCHELL, 2000; LEE *et al.*, 2001; STRECK *et al.*, 2006a). Todavia, devido ao processo de seleção e adaptação das cultivares de arroz, essas estão se tornando gradualmente insensíveis ao fotoperíodo (SOARES *et al.*, 2013).

Sendo assim, a temperatura do ar se torna o principal fator ambiental que afeta a duração do ciclo na cultura do arroz (SIÉ *et al.*, 1998). A temperatura tem um efeito significativo na fase vegetativa e, como já comentado, irá atuar diretamente no comprimento do ciclo. Essa relação é inversa, ocorrendo uma diminuição progressiva do ciclo com o aumento da temperatura média do ar, frisando novamente a importância de obter genótipos tolerantes a altas temperaturas (LAGO *et al.*, 2008; WALTER *et al.*, 2010).

2.4 Predição e seleção de populações segregantes

O sucesso na condução de programas de melhoramento por hibridação depende da escolha dos genitores e, posteriormente, das populações segregantes obtidas a partir dos cruzamentos realizados. As populações devem apresentar grande variabilidade genética, em função da diversidade genética dos genitores, e alto desempenho quanto as características agronômicas desejáveis (ALLARD; HANSCH, 1964). Essas características de interesse, por sua vez, dependem do mapeamento dos problemas existentes para a cultura em estudo e da região de interesse. Essa etapa é importante pois vai direcionar o melhorista na seleção dos alelos de interesse, visando solucionar ou minimizar problemas e, ainda, aumentar a produtividade.

As populações são consideradas mais promissoras quanto maiores as chances de obter genótipos ou linhagens superiores. Cabe ao melhorista o desafio de identificar e concentrar recursos nessas populações, aumentando as chances de obtenção de descendentes de desempenho superior aos genitores e com capacidade de lançamento como cultivares que superem às já existentes no mercado. Essa decisão deverá ser tomada o mais precocemente possível, em gerações iniciais, reduzindo o gasto desnecessário de recursos humanos e financeiros em populações de baixo desempenho (RIBEIRO, TOLEDO, RAMALHO, 2009; ROCHA *et al.*, 2015).

Existem alguns métodos para a escolha de genitores e populações segregantes, podendo esses se basear somente na informação dos prováveis genitores, ou, ainda, no desempenho da descendência (BAENZIGER; PETERSON, 1991). Dentre os principais procedimentos utilizados na avaliação baseada nos descendentes destacam-se os cruzamentos dialélicos, estimativas dos componentes de média $m+a'$ e d e a metodologia de Jinks e Pooni (1976), o qual se baseia na probabilidade de linhagens em F_{∞} de superarem um determinado padrão ou testemunha.

Atualmente é possível encontrar diferentes métodos de análises de cruzamentos dialélicos, como os que envolvem dialelos balanceados, Jinks e Hayman (1953), Hayman (1954), Griffing (1956) e Gardner e Eberhart (1966), os dialelos parciais circulantes, Kempthorne e Curnow (1961) ou dialelos incompletos e desbalanceados, Cruz, Regazzi e Carneiro (2004). A análise dialélica permite ao pesquisador obter estimativas quanto a capacidade geral ou específica de combinação, bem como o potencial per se dos genitores e seus efeitos heteróticos. No entanto, é limitante quanto as hibridações, principalmente em culturas em que a hibridação artificial se torna trabalhosa e onerosa, como no caso do arroz (RAMALHO *et al.*, 2012).

A estimativa do componente de média, $m+a'$, avalia o potencial das populações na obtenção de linhagens de alta performance. Proposto inicialmente por Vencovsky (1987), $m+a'$ corresponde à média de todas as linhagens obtidas após sucessivas gerações de endogamia. Essa estimativa se baseia na contribuição dos locos em homozigose, favoráveis ou desfavoráveis, fixados em ambos os genitores. E, corresponde ainda, à média dos genitores envolvidos no cruzamento. Desse modo, populações que apresentem melhores estimativas de $m+a'$ estão relacionadas a populações com maiores frequências de alelos favoráveis para o caráter desejável (ABREU; RAMALHO; SANTOS, 2002; BISON; RAMALHO; RAPOSO, 2003).

Uma vez que $m+a'$ só fornece uma estimativa do desempenho *per se* das linhagens e dos locos em homozigose fixados nos genitores, a aplicação de outra metodologia para avaliação dos locos segregantes na população se faz necessário. Utilizando as mesmas informações experimentais, é possível obter facilmente os valores referentes a soma algébrica dos efeitos dos locos em heterozigose (d) (OLIVEIRA *et al.*, 1996). Essa estimativa nos fornece uma ideia quanto as linhagens diferentes geneticamente obtidas em F_∞ , e, conseqüentemente, quanto a variabilidade presente na população. Essa será maior quanto mais divergente forem os genitores utilizados nos cruzamentos (BISON; RAMALHO; RAPOSO, 2003).

Abreu, Ramalho e Santos (2002) estudando o potencial de populações segregante de feijoeiro comum (*Phaseolus vulgaris* L.) obtiveram as estimativas dos componentes de média, $m+a'$ e d . Os autores propuseram a utilização da estimativa de d em substituição a estimativa de variância genética, quando essa se tornar laboriosa, como quando há necessidade de avaliação de plantas individuais. Além disso, comprovaram a eficiência das estimativas dos componentes de média obtidos em populações precoces, baseado no desempenho de suas progênes $F_{5:7}$. Desse modo, concluíram que ambos os componentes forneceram as informações necessárias ao melhorista na escolha de populações segregantes superiores, permitindo a identificação de populações que associem boa média e variação genética.

Outra metodologia que leva em consideração tanto a média quanto a variância, foram propostas por Jinks e Pooni (1976). Nela se estima a probabilidade de uma dada população em gerar linhagens que superem um padrão pré-estabelecido. Proposto para caracteres quantitativos, controlados por pelo menos seis genes, baseia-se que os valores médios fenotípicos das linhagens F_∞ a partir de um cruzamento entre duas linhagens segue uma distribuição normal (OLIVEIRA *et al.*, 1996; ABREU; RAMALHO; SANTOS, 2002). Assim, usando as propriedades de uma distribuição normal padronizada, é possível estimar a probabilidade de ocorrência de linhagens com valor médio fenotípico que sejam superiores a um determinado padrão. Para sua aplicação, considera-se que a média e variância ambiental da geração avaliada, geralmente F_2 ou F_3 , sejam iguais a da geração F_∞ . Uma limitação dessa metodologia é que a mesma só se aplica para caracteres sem efeito de dominância, ou seja, caracteres com predominância da ação gênica aditiva (OLIVEIRA, 2003).

Utilizando a cultura de arroz de terras altas, Santos, Soares e Ramalho (2001) avaliaram o desempenho de progênes originadas a partir de populações com diferentes performances agronômicas. Utilizando a metodologia de Jinks e Pooni (1976), os autores selecionaram as duas populações mais e as duas menos promissoras de acordo com os caracteres avaliados. Posteriormente, avaliaram o desempenho de vinte progênes dentro de cada uma das populações

quanto a produtividade de grãos. Os autores observaram que as melhores progênes vieram, em sua grande maioria, das melhores populações, comprovando a eficiência da metodologia de Jinks e Pooni. (1976). Embora também tenham observado desempenho não coincidente entre progênes com base na população selecionada, os autores associaram esse fato, em parte, a interação genótipos x ambientes, reforçando a necessidade de avaliação dos genótipos em diferentes ambientes, locais e anos.

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. D. Prediction of seed-yield potential of common bean populations. **Genetics and Molecular Biology**, 2002, 25.3: 323-327.
- ALLARD, R. W.; HANSCH, P. E. Some parameters of population variability and their implications in plant breeding. In: **Advances in Agronomy**. Academic Press, 1964. p. 281-325.
- ARF, O. *et al.* Preparo do solo, irrigação por aspersão e rendimento de engenho do arroz de terras altas. *Scientia Agricola*, 2002, 59.2: 321-326.
- BAENZIGER, P. S.; PETERSON, C. J. **Genetic variation: Its origin and use for breeding self-pollinated species**. 1992.
- BARBOSA, L. Feijão com arroz e arroz com feijão: o Brasil no prato dos brasileiros. **Horizontes antropológicos**, 2007, 13.28: 87-116.
- BISON, O.; RAMALHO, M. A. P.; RAPOSO, F. V. Potencial de híbridos simples de milho para extração de linhagens. *Ciência e Agrotecnologia*, 2003, 27.2: 348-355.
- BORDIN, L. *et al.* Sucessão de cultivo de feijão-arroz com doses de adubação nitrogenada após adubação verde, em semeadura direta. **Bragantia**, 2003, 62.3: 417-428.
- BORÉM, A.; RANGEL, P. H. N. **Arroz: do plantio a colheita**. Viçosa: Ed. UFV, 2015.
- BUENO, T. V. **Capacidade combinatória de genitores de soja nas gerações F 1 e F 2 visando melhoramento para precocidade e produtividade de grãos**. 41f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2017.
- BURATTO, J. S. *et al.* Adaptabilidade e estabilidade produtiva em genótipos precoces de feijão no estado do Paraná. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 28, n. 3, 2007.
- CEPEA - Centro de Estudos Avançados em Economia Aplicada. **Indicador do arroz em casca ESALQ/SENAR-RS**. Disponível em: <https://cepea.esalq.usp.br/br/indicador/arroz.aspx>. Acesso em: 04 de maio de 2021.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: Décimo segundo levantamento, setembro 2020 – safra**

2019/2020. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 16 de março de 2021.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: Sexto levantamento, março 2021 – safra 2020/2021.** Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2021a. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 19 de março de 2021.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: sétimo levantamento, abril 2021 – safra 2020/2021.** Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2021b. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 04 de maio de 2021.

CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Calendário de Plantio e Colheita de Grãos no Brasil – 2019.** 2019. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/institucional/publicacoes/outras-publicacoes/item/7694-calendario-agricola-plantio-e-colheita>. Acesso em: 16 de junho de 2021.

CORTE, A. D.; MODA-CIRINO, V.; DESTRO, D. Adaptability and phenotypic stability in early common bean cultivars and lines. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Londrina, v.2, n.4, p.525-534, Dec. 2002.

COSTA, J. G. C.; ZIMMERMANN, M. J. O. Melhoramento genético. In: ZIMMERMANN, M. J. O.; ROCHA, M.; YAMADA, T. (Org). **Cultura do feijoeiro: fatores que afetam a produtividade.** Piracicaba: Associação Brasileira para a Pesquisa da Potassa e do Fosfato, 1988. p.229-245.

COUNCE, P. A.; KEISLING T. C.; MITCHELL A. J. A uniform, objective, and adaptive system for expressing rice development. **Crop Science**, 2000, 40.2: 436-443.

CRUSCIOL, C. A. C. *et al.* Absorção, exportação e eficiência de utilização de nutrientes pela cultura do arroz de terras altas em função de lâminas de água aplicadas por aspersão. **Acta Scientiarum. Agronomy**, 2003, 25.1: 97-102.

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

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS. **Statistics Database.** Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org/faostat>> Acesso em 15 de março de 2021.

FERREIRA, C. M. *et al.* **Importância econômica e social do arroz no Brasil.** 2005.
FERREIRA, C. M., *et al.* Padrões tecnológicos e econômicos do arroz de terras altas. **Embrapa Arroz e Feijão-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2002.

FERREIRA, M. E.; FALEIRO, F. G. Biotecnologia: avanços e aplicações no melhoramento genético vegetal. FALEIRO, FG; FARIAS NETO, AL **Savanas: desafios e estratégias para o equilíbrio entre sociedade, agronegócio e recursos naturais.** Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, 2008, 765-792.

FRANCHINI, J. C., *et al.* Importância da rotação de culturas para a produção agrícola sustentável no Paraná. **Embrapa Soja-Documents (INFOTECA-E)**, 2011.

GAO, J. P.; CHAO, D. Y.; LIN, H. X. Understanding abiotic stress tolerance mechanisms: recent studies on stress response in rice. **Journal of Integrative Plant Biology**, 2007, 49.6: 742-750.

GARDNER, C. O.; EBERHART, S. A. Analysis and interpretation of the variety cross diallel and related populations. **Biometrics**, p. 439-452, 1966.

GRIFFING, B. Concept of general and specific combining ability in relation to diallel crossing systems. **Australian Journal of Biological Sciences**, Melbourne, v. 9, p. 463-493, jun.1956.

GUIMARÃES, E. P.; FERREIRA, R. de P. Híbridos controlados em arroz. In: Embrapa Arroz e Feijão-Resumo em anais de congresso (ALICE). In: **Reunião Nacional de Pesquisa de Arroz**, 3., 1987, Goiânia. Resumos. Brasília, DF: EMBRAPA-DDT, 1987., 1987.

HAYMAN, B. I. The analysis of variance of diallel tables. **Biometrics**, v. 10, n. 2, p. 235-244, 1954.

HEINEMANN, A. B. Caracterização dos padrões de estresse hídrico para a cultura do arroz (ciclo curto e médio) no estado de Goiás e suas consequências para o melhoramento genético. **Ciência e Agrotecnologia**, 2010, 34.1: 29-36.

HSIAO, T.C. 1982. The soil plant atmosphere continuum in relation to drought and crop production. p. 39–52. In: **Drought resistance in crops with emphasis on rice**. IRRI, Los Baños, Philippines.

HU, E. A., *et al.* White rice consumption and risk of type 2 diabetes: meta-analysis and systematic review. **Bmj**, 2012, 344.

INMET. Instituto Nacional de Meteorologia. Normais Climatológicas do Brasil (1981-2010). Brasília, 2021. Disponível em: <https://clima.inmet.gov.br/NormaisClimatologicas>. Acesso em: 29 de junho de 2021.

IPCC. Intergovernmental Panel on Climate Change. **Climate change 2007: The physical science basis**. Agenda, 2007, 6.07: 333.

JAGADISH, S.V.K.; CRAUFURD, P.Q.; Wheeler, T.R. (2007). High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of experimental botany**, 2007, 58.7: 1627-1635.

JEON, J. S. *et al.* Genetic and molecular insights into the enhancement of rice yield potential. **Journal of Plant Biology**, 2011, 54.1: 1-9.

JI, Y.; LIU, X. Study on Wheat Somaclonal Variation of Precocity Induced by Amino Acid In vitro [J]. **Journal of Henan Agricultural Sciences**, v. 12, p. 011, 2009.

JINKS, J. L.; HAYMAN, B. I. The analysis of diallel crosses. **Maize genetics cooperation newsletter**, v. 27, p. 48-54, 1953.

JINKS, J. L.; POONI, H. S. Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. **Heredity**, 1976, 36.2: 253-266.

KEMPTHORNE, O.; CURNOW, R. N. The partial diallel cross. **Biometrics**, v. 17, n. 2, p. 229-250, 1961.

KRISHNAN, P. *et al.* High-temperature effects on rice growth, yield, and grain quality. **Advances in agronomy**, 2011, 111: 87-206.

KUBO, M.; PUREVDORJ, M. The future of rice production and consumption. **Journal of Food Distribution Research**, 2004, 35.856-2016-57064: 128-142.

LAGO, I. *et al.* Impact of increasing mean air temperature on the development of rice and red rice. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2008, 43.11: 1441-1448.

LEE, C. K. *et al.* Heading date and final leaf number as affected by sowing date and prediction of heading date based on leaf appearance model in rice. **Korean Journal of Crop Science**, 2001, 46.3: 195-201.

LI, Z.; RUTGER, J. N. Geographic distribution and multilocus organization of isozyme variation of rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, 2000, 101.3: 379-387.
MACEDO, M. C. M.; KICHEL, A. N.; ZIMMER, A. H. Degradação e alternativas de recuperação e renovação de pastagens. **Embrapa Gado de Corte-Comunicado Técnico (INFOTECA-E)**, 2000.

MACHADO, C. F. de *et al.* Identificação de genótipos de feijão-caupi quanto à precocidade, arquitetura da planta e produtividade de grãos. **Revista Ciência Agronômica**, v. 39, n. 1, 2008.

MASLE, J.; GILMORE, S. R.; FARQUHAR, G. D. The ERECTA gene regulates plant transpiration efficiency in Arabidopsis. **Nature**, 2005, 436.7052: 866-870.

MORAIS, O. P. *et al.* Estimação dos parâmetros genéticos da população de arroz irrigado CNA-IRAT 4/0/3. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 32, n. 4, p. 421-433, 1997.

MORITA, S. *et al.* Effect of high temperature on grain ripening in rice plants: analysis of the effects of high night and high day temperatures applied to the panicle and other parts of the plant. **Japanese Journal of Crop Science (Japan)**, 2004.

OLIVEIRA, L. B. *et al.* Alternative procedures for parent choice in a breeding program for the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Genetics**. 1996, 19.4: 611-615.

OLIVEIRA, M. S. **Predição do potencial genético de populações segregantes de feijão comum oriundas de híbridos simples e duplos**. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. 2003.

PACHECO, L. P., *et al.* Ciclagem de nutrientes por plantas de cobertura e produtividade de soja e arroz em plantio direto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2013, 48.9: 1228-1236.

PORTUGAL, J. R. *et al.* Análise econômica do cultivo do arroz de terras altas com e sem irrigação. **Agrarian**, 2015, 8.27: 104-110.

PRASAD, P.V.V. *et al.* Species, ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress. **Field crops research**, 2006, 95.2-3: 398-411.

RAMALHO, M. A. P. *et al.* **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**. Ed. UFLA, 2012. 522 p.

REIS, J. C. L. Pastagens em Terras Baixas. **Embrapa Clima Temperado-Circular Técnica (INFOTECA-E)**, 1998.

RIBEIRO, A. S.; TOLEDO, J. F. F. D.; RAMALHO, M. A. P. Selection strategies of segregant soybean populations for resistance to Asian rust. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2009, 44.11: 1452-1459.

ROCHA, G. S. *et al.* Estratégias de predição e efeitos de ambientes na avaliação de populações segregantes de feijão. **Revista Ceres**, 2015, 62.5: 438-445.

ROMAGOSA, I.; FOX, P. N. Genotype×environment interaction and adaptation. In: **Plant breeding**. Springer, Dordrecht, 1993. p. 373-390.

SANTOS, P. G.; SOARES, A. A.; RAMALHO, M. A. P. Performance of upland rice families selected from segregant populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 2002, 2.2. SATAKE, T.; Yoshida, S. High temperature-induced sterility in indica rices at flowering. **Japanese Journal of Crop Science**, 1978, 47.1: 6-17.

SHAH, F. *et al.* Impact of high-temperature stress on rice plant and its traits related to tolerance. **The Journal of Agricultural Science**, 2011, 149.5: 545-556.

SHEN, H. *et al.* Overexpression of receptor-like kinase ERECTA improves thermotolerance in rice and tomato. **Nature Biotechnology**, 2015, 33.9: 996-1003.

SHPAK, E. D. Diverse roles of ERECTA family genes in plant development. **Journal of integrative plant biology**, 2013, 55.12: 1238-1250.

SIÉ, M. *et al.* Rice crop duration and leaf appearance rate in a variable thermal environment.: I. Development of an empirically based model. **Field Crops Research**, 1998, 57.1: 1-13.

SILVA, E. A. da, *et al.* Avaliação de cultivares de arroz de terras altas sob condições de sequeiro em Cassilândia, MS. **Ciência e Agrotecnologia**, 2009, 298-304.

SILVA, M. G. da, *et al.* Sucessão de culturas e sua influência nas propriedades físicas do solo e na produtividade do feijoeiro de inverno irrigado, em diferentes sistemas de manejo do solo. **Bragantia**, 2008, 67.2: 335-347.

SILVA, F. B.; RAMALHO, M. A. P.; ABREU, A. F. B. Seleção recorrente fenotípica para florescimento precoce de feijoeiro 'Carioca'. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v. 42, n. 10, p. 1437-1442, 2007.

SOARES, A. A., *et al.* BRSMG Caçula: very early upland rice cultivar for Minas Gerais. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 2013, 13.3: 208-211.

SOARES, A. A. *et al.* BRSMG Conai: cultivar de arroz superprecoce para terras altas. **Revista Ceres**, v. 52, n. 303, 2005.

SPOHR, R. B., *et al.* Irrigação na produção de silagem de milho e sorgo, em sucessão ao arroz de terras altas. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, 2005, 9.4: 469-474.

STRECK, N. A., *et al.* Avaliação da resposta ao fotoperíodo em genótipos de arroz irrigado. **Bragantia**, 2006a, 65.4: 533-541.

STRECK, N. A. *et al.* Duração do ciclo de desenvolvimento de cultivares de arroz em função da emissão de folhas no colmo principal. **Ciência Rural**, 2006b, 36.4: 1086-1093.
SWAMINATHAN, M. S. Arroz. **AgroANALYSIS**, 1985, 9.4: 2-13.

TEIXEIRA, F. G. **Herança da precocidade e de caracteres agrônômicos em soja e seleção de linhagens com base em índices de seleção**. 88 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2017.

TIMMER, C. P.; BLOCK, S.; DAWE, D. Long-run dynamics of rice consumption, 1960–2050. **Rice in the global economy: strategic research and policy issues for food security**, 2010, 139-174.

VALE, N. M. do *et al.* Escolha de genitores quanto à precocidade e produtividade de feijão tipo carioca. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 50, n. 2, p. 141-148, 2015.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: PATERNIANI, E.; VIÉGAS, G. P. **Melhoramento e produção do milho**. 2. ed. rev. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 135-214.

VENUPRASAD, R.; LAFITTE, H. R.; ATLIN, G. N. Response to direct selection for grain yield under drought stress in rice. **Crop Science**, 2007, 47.1: 285-293.

VILLAGARCIA, H. *et al.* Modification of tomato growth by expression of truncated ERECTA protein from Arabidopsis thaliana. **Journal of experimental botany**, 2012, 63.18: 6493-6504.

WALTER, *et al.* Mudança climática e seus efeitos na cultura do arroz. **Ciência Rural**, 2010, 40.11: 2411-2418.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. de. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, v. 38, n. 4, 2008.

YOSHIDA, S. Tropical climate and its influence on rice. **IRRI Research Paper Series 20**. 1978.

ZHANG, Y. *et al.* Phylogenetic and CRISPR/Cas9 studies in deciphering the evolutionary trajectory and phenotypic impacts of rice ERECTA genes. **Frontiers in plant science**, 2018, 9: 473.

CAPÍTULO 2
EXPRESSION PATTERN OF ERECTA GENES IN RICE AND ITS
SUPPRESSION FOR HEAT TOLERANCE

ABSTRACT

The ER family of receptors (*ERfs*) encoding leucine-rich repeat receptor-like kinases (LRR-RLKs) have evolved to regulate multiple aspects of plant development. Furthermore, *ERfs* have also been studied in plant responses to abiotic stresses. In rice (*Oryza sativa* L.) it is possible to find three *ERfs*, *OsER1* and *OsER2*, and its paralogs *OsERL*. However, the expression pattern of the *OsERfs* during the plant growth developmental stages remains quite limited. We studied the expression pattern of *OsERfs* genes at reproductive stage from booting (R2) to milk (R6) stage in Nipponbare cultivar and in Δ *Kinase* transgenic plants. The Δ *Kinase* expresses a truncated ERECTA protein from *Arabidopsis* functions as a dominant-negative receptor disrupting signaling of the *ER* genes. Also, progenies from plants with high expression of the Δ *Kinase* gene were submitted to high temperature stress during the reproductive stage. The highest level of genes expression was noted at heading (R3) and flowering (R4) stages. Downregulation of ER signaling pathway by Δ *Kinase* induced the compensation effect and increased the expression of endogenous *OsERfs* genes. This effect was positively correlated with the level of transgene expression. The Δ *Kinase* transgenic plants were not tolerant to heat stress, showing a high percentage of sterility affecting grain yield.

Keywords: ERECTA gene. Receptor-like kinase. Δ *Kinase*. Heat stress.

1 INTRODUCTION

Rice (*Oryza sativa* L.) ranks fourth among the most produced grains in the world. Rice grain has played a key role in human nutrition and culture for at least 10,000 years (STEIN *et al.*, 2018) and stands out as a primary source in the diet of more than half of the world's population (FAO, 2019).

The challenges of feeding the world have led scientists to seek more efficient methods in food production. The application of biotechnology in breeding programs has been recognized as of highly valuable in developing improved genotypes. The contributions of biotechnology to agriculture are highlighted in several countries, where transgenic cultivars have been adopted for cultivation.

The ERECTA family genes (*ERfs*) encoding leucine-rich repeat receptor-like kinases (LRR-RLKs) are found in many dicotyledonous and monocotyledonous species and have evolved to regulate multiple aspects of plant development (Liu *et al.*, 2019). The *ERfs* control a set of morphological traits that affect plant architecture, stomata density, photosynthesis rate and transpiration efficiency that, consequently, influence responses to environmental stresses (LIN *et al.*, 2017; SHPAK, 2013; VAN ZANTEN *et al.*, 2009; VILLAGARCIA *et al.*, 2012).

Although ER gene has been extensively studied in *Arabidopsis thaliana*, there is little research on ER orthologues from agronomically important crop species. In rice, three *ERfs* are found, the *ER* gene, *OsER1* and *OsER2*, and its paralogs ER-Like, *OsERL* (ZHANG *et al.*, 2018). Identifying and characterizing the expression pattern of these genes in different growth stages in rice is an important step towards determining their roles in improving yield, quality and resistance. In addition, by virtue of their role in plant architecture and stomata patterning, *OsERfs* may be potentially useful for regulating tolerance to abiotic stresses.

The truncated ER protein from *Arabidopsis* that lacks the cytoplasmatic kinase domain (Δ *Kinase*) interferes with the function of the *ER* gene (SHPAK; LAKEMAN; TORII, 2003), and has been expressed in other plant species to suppress ER signaling. In *Arabidopsis*, transgenic plants expressing the Δ *Kinase* showed similar phenotypic traits as that of the loss-of-function *erecta* mutants, such as short plant stature and compact inflorescence (SHPAK; LAKEMAN; TORII, 2003). In soybean, transgenic plants carrying the same gene also showed losses in the phenotype and a negative correlation between the level of transgene expression and the main traits of agronomic interest of the species (BERCHEMBROCK, BOTELHO, SRIVASTAVA, 2021).

However, other studies reported positive effect of the gene on water stress, which $\Delta Kinase$ tomato (VILLAGARCIA *et al.*, 2012) and soybean lines (SHANMUGAN *et al.*, 2020) exhibited greater tolerance under drought conditions, indicating at first the possibility of manipulating this gene against abiotic stresses and the need for specific information on the effect of $\Delta Kinase$ on plant species of agronomic importance.

ERECTA family genes are important regulator in diverse functions in plants, however, its behavior in rice is still somewhat unknown. In this study, we identified the expression pattern of the rice *ER* gene family (*OsERfs*) during reproductive growth stages and studied the influence of the ER suppression in transgenic rice plants expressing $\Delta Kinase$. Additionally, we analyzed thermotolerance of $\Delta Kinase$ transgenic plants under high temperature stress.

2 MATERIAL AND METHODS

2.1 Expression pattern of *OsERfs* in cultivar Nipponbare

Seeds from cultivar Nipponbare (*Oryza sativa* L. japonica) were sown individually in 0.5 L pots containing a mixture of sphagnum peat moss and perlite (9:1), PRO-MIX LP15[®] and Osmocote[®] fertilizer (15N-9P-12K). The plants were kept in the greenhouse under normal light conditions with supplemental light between 8:00 am and 5:00 pm, when sunlight drops below 1,260 mmol/m²/s and temperature (22–27°C). All plants received normal water supply uniformly.

Total RNA was extracted from the spikelet of the three first panicles in different reproductive growth stages, from R2 to R6 stages, using TRIzol (Invitrogen—Life Technologies) reagent according to the manufacturer's instructions and quantified by Nano-drop 2000 (Thermo-Fisher Inc.). The R2 stage is defined as booting stage, characterized by panicle growth inside of the leaf sheath, R3 is the heading stage when panicle emerges from the protective flag leaf sheath, R4 is the anthesis or flowering stage and refers to the events between the opening and closing of the spikelet, R5 stage is five days after flowering, and R6 or milk stage, is the stage when developing grains in the kernel are soft and the interior of the kernel is filled with a milky liquid (MOLDENHAUER; COUNCE; HARDKE, 2001).

All RNA samples were treated with RQ1-RNase free DNase (Promega Inc.) for 30 min at 37°C, followed by the inactivation of DNase I by EDTA. All the DNase-treated RNA was quantified again, and a 1-mg DNase-treated RNA was used for cDNA synthesis using PrimeScript RT reagent kit (Takara Bio., Mountain View, CA, United States). The real-time quantitative PCR was performed on the cDNA using TB green Premix Ex Taq II kit (Takara Bio., Mountain View, CA, United States) on Bio-Rad CFX 96 C1000 with following conditions: 95°C for 30 s followed by 40 cycles of 95°C for 5 s. and 60°C for 30 sec. The product specificity was verified by the melt curve analysis, and the expression of *OsERfs* gene was determined using the delta CT method normalized against *7Ubiquitin* fused protein (*7UBIQ*) as reference gene.

The ER primers used were 5'-TTCGTGCCGTTTCATCTGGC-3' and 5'-CAGGTGGACTATGAGGCC-3' for *OsER1*, 5'-CCTCTGTCTCAAGGTCTG-3' and 5'-GATGGTAGTGCATGGATATC-3' for *OsER2* and 5'-CCTCGCATAATCCACAGAGATG-3' and 5'-AGCACATAAGTGGAGGCATGG-3' for *OsERL*, and as reference gene, *7UBIQ*, 5'-TGGTCAGTAATCAGCCAGTTTG-3' and 5'-CAAATACTTGACGAACAGAGGC-3'.

2.2 Generation of transgenic rice plants

The Δ Kinase transformation vector, pNS37, consisted of 8.0 kb *Arabidopsis ER* gene (promoter and coding region) with a stop codon before the transmembrane domain cloned into pTF101.1 vector (Addgene # 134770) backbone; therefore, lacking the kinase domain (Δ Kinase) (SHPAK; LAKEMAN; TORII, 2003). Embryogenic calli of cv. Nipponbare were co-bombarded with pNS37 and the selection gene construct, pHPT, harboring hygromycin phosphotransferase gene under 35S promoter using Bio-Rad PDS1000/He gene gun. Equal amounts (5 ug each) of the two vectors were mixed to generate DNA coated gold particles for the transformation. The bombarded calli were selected on 50 mg/L hygromycin containing media, and the selected calli were subjected to plant regeneration. The tissue culture media and protocols are as described by Nishimura *et al.* (2006).

2.3 Expression pattern of *OsERfs* and Δ Kinase in transgenic plants

Six T₀ plants (1-8, 5-1, 5-2, 9-1, 9-4 and 18) and one non-transgenic (empty vector) control line were cultivated individually in 2.5 L pots with the mixture of soil and greenhouse conditions as the same way described above. The mixture of soil was previously weighed in order to standardize the amount of soil in each pot.

Total RNA was isolated from three spikelets of each R2 to R6 reproductive stages and the real-time quantitative PCR was performed as described above. The Δ Kinase gene was amplified using primers 5'-GGACTTGTCCTACAATCAGCTAACT-3' and 5'-TTGAACCAGTCAGCTTGTTACTGTGC-3'.

The Pearson's correlation coefficient between the Δ Kinase and *OsERfs* expression was applied, and the Student's *t*-test was performed adopting 5% significance level.

2.4 High temperature stress analyses

For high temperature stress response analysis at the reproductive stage, T₁ progenies from two transgenic plants showing high Δ Kinase expression (1-8 and 5-1) and one non-transgenic control line were sown individually in 2.5L pots with the mixture of soil and greenhouse conditions as the same way described above. In order to evaluate the thermotolerance, a completely randomized designer in a factorial scheme (3x2) was used in which the evaluated treatments were the three genotypes (1-8, 5-1 and control) in two temperature conditions, normal and high temperature stress. Three replications were used, and each plot consisted of a pot with one plant.

All plants were kept in greenhouse until the R2 stage when the temperature-stressed plants were transferred to the controlled-temperature growth chamber for 14 days and later returned to the greenhouse until the end of the cycle. The temperature was set to simulate the daily changes as described by Ye *et al.* (2012) (TABLE 1).

Table 1 - Settings for high temperature treatment in the growth chamber for 24h.

Step	Time		Duration (min)	Temperature (°C)
1	06:30	07:00	30	27
2	07:00	07:30	30	30
3	07:30	08:00	30	35
4	08:00	14:30	390	38
5	14:30	15:30	60	35
6	15:30	16:30	60	30
7	16:30	17:30	60	27
8	17:30	18:30	60	24
9	18:30	06:30	720	24

Source: YE *et al.* (2012)

The phenotypic traits evaluated in the plants were number of tillers (TIL), number of panicles (PAN), grain yield (YLD) and grain sterility percentage (STR). The phenotypic data were statistically analyzed by analysis of variance (ANOVA), and the Tukey test for comparisons among treatment means was applied with 5% as significance level using R software (R Core Team, 2017).

3 RESULTS

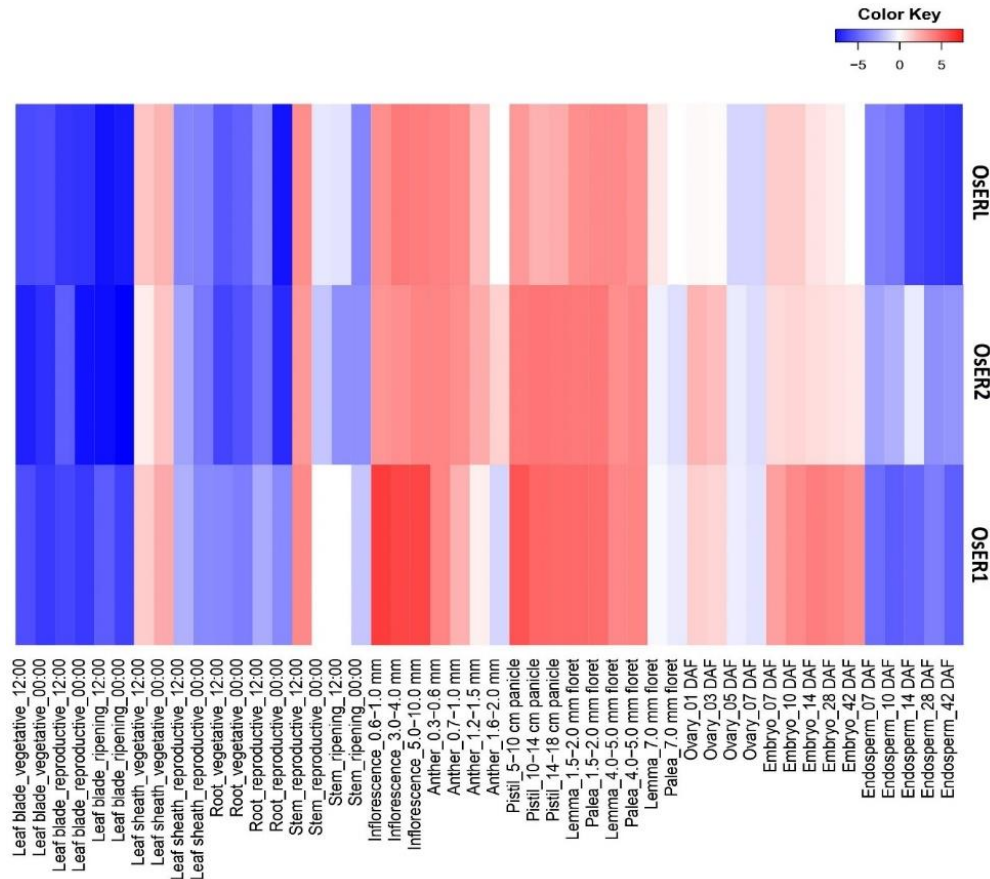
3.1 Expression pattern of rice *ERECTA* genes in reproductive stages

The ER family genes (*ERfs*), present in several species, have a great influence on plant growth and development and play an important role in adaptation to environmental stresses and resistance to some biotic factors (GODIARD *et al.*, 2003; MASLE; GILMORE; FARQUHAR, 2005; SHEN *et al.*, 2015; ZHENG *et al.*, 2015; TAKAHASHI *et al.*, 2016). Thus, *ERfs* alleles have a strong potential for use in modern breeding programs.

There are three *ERfs* in the rice genome, *OsER1*, *OsER2*, and the ER-LIKE, *OsERL* (ZHANG *et al.*, 2018). The study of the expression pattern of these genes and their modulation at different growth stages of the rice plant is essential for exploring their application in developing abiotic stress tolerance.

Based on the available database for rice, higher expressions of the *OsERfs* gene are reported in reproductive organs, except for the endosperm (FIGURE 1). Since higher estimates of gene expression are verified in reproductive organs, determining the stages of higher expression is important for directing actions in breeding programs with the objective of manipulating these genes during the reproductive stages.

Figure 1 - Expression pattern of the three ERECTA family genes in rice (*OsERfs*) considering different plant organs and growth stages, according to the RiceXPro Database.

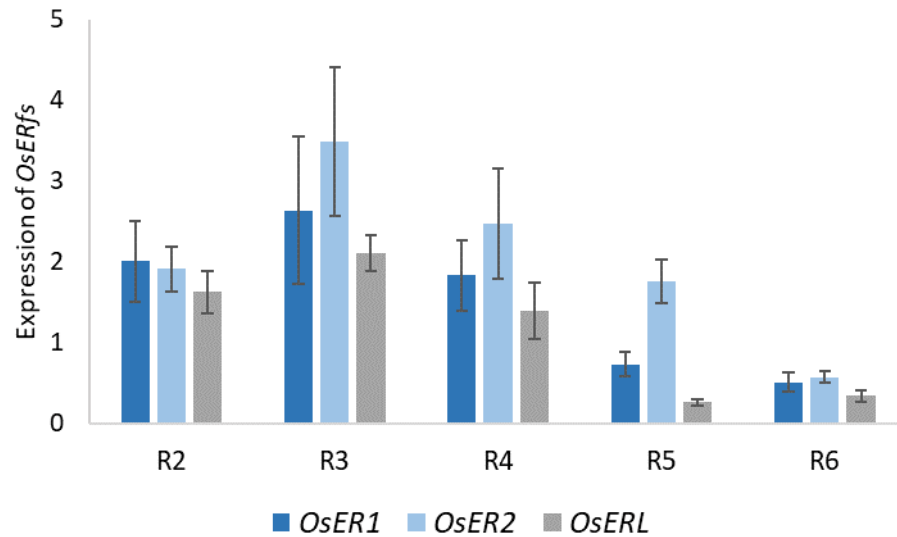


Source: Sato *et al.* (2013).

Assessing the expression level of *OsERfs* genes in the cultivar Nipponbare (*Oryza sativa* L. japonica), in the stages between panicle initiation to the beginning of ripening stage (R2 – R6), higher expression was observed in the earlier reproductive stage (R2 – R4) as compared to the later stages (R5 – R6) (FIGURE 2). The R3 or heading stage, when the panicle begins to exert from the boot, showed highest transcript levels of the three *OsERfs* genes. From stage R2 onwards, the expression level starts to increase reaching its maximum in R3 followed by gradual decline at the flowering or anthesis stage (R4) and five days after flowering (R5), until the minimum expression at the milk stage (R6), when the plants start the grains ripening process

(MOLDENHAUER; SLATON, 2001). Furthermore, except for R2 stage, the *OsER2* gene had the highest levels of transcription, followed by *OsER1* and *OsERL*.

Figure 2 - Expression pattern of *OsERfs* genes in cultivar Nipponbare at different reproductive stages (R2-R6). The error bars indicate $\pm$ standard error.



Source: From the author (2021).

3.2 Transgenic plants expressing Δ *Kinase* gene under high temperature

In order to understand the behavior of the *ERECTA* gene under adverse conditions, rice plants were transformed with the truncated *Arabidopsis thaliana ER* (*AtER*) gene that encoded the receptor function but encoded stop codon before the kinase domain sequence (Δ *Kinase*), essentially acting as a dominant-negative receptor (SHPAK; LAKEMAN; TORII, 2003).

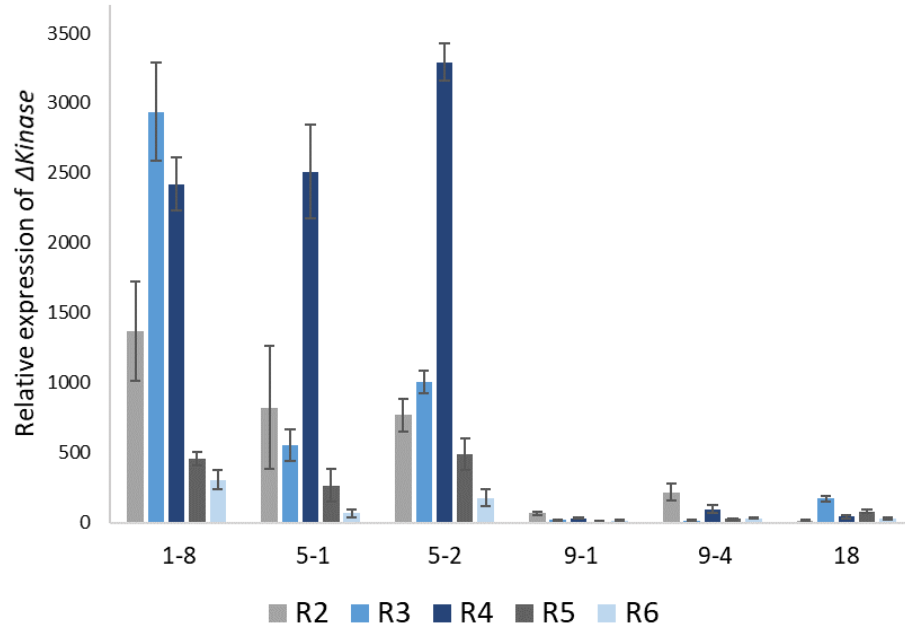
Six T_0 plants (1-8, 5-1, 5-2, 9-1, 9-4 and 18) were evaluated for the expression level of the Δ *Kinase* gene in reproductive growth stages from R2 to R6 (FIGURE 3).

Although all plants expressed Δ *Kinase* when compared to the empty vector control plant, the expression level among them was variable. Plants 1-8, 5-1 and 5-2 had high expression levels, while the others, 9-1, 9-2 and 18 had lower expression levels of the Δ *Kinase* gene. The greatest difference was observed between genotypes 1-8 and 9-1, in which the former showed ~53-fold higher level of transcript.

Further, although the pattern of Δ *Kinase* expression through the reproductive stages was variable between plants, highest expression was generally observed in R2, R3 and R4 stages. These results are significant for crop breeding because rice plant is most vulnerable to abiotic

stresses such as drought stress and high temperatures during early reproductive stages, resulting in losses of grain yield due to high spikelet sterility.

Figure 3 - Relative expression of $\Delta Kinase$ gene in six T_0 plants (1-8, 5-1, 5-2, 9-1, 9-4 and 18) at different reproductive stages (R2-R6). The error bars indicate $\pm$ standard error.

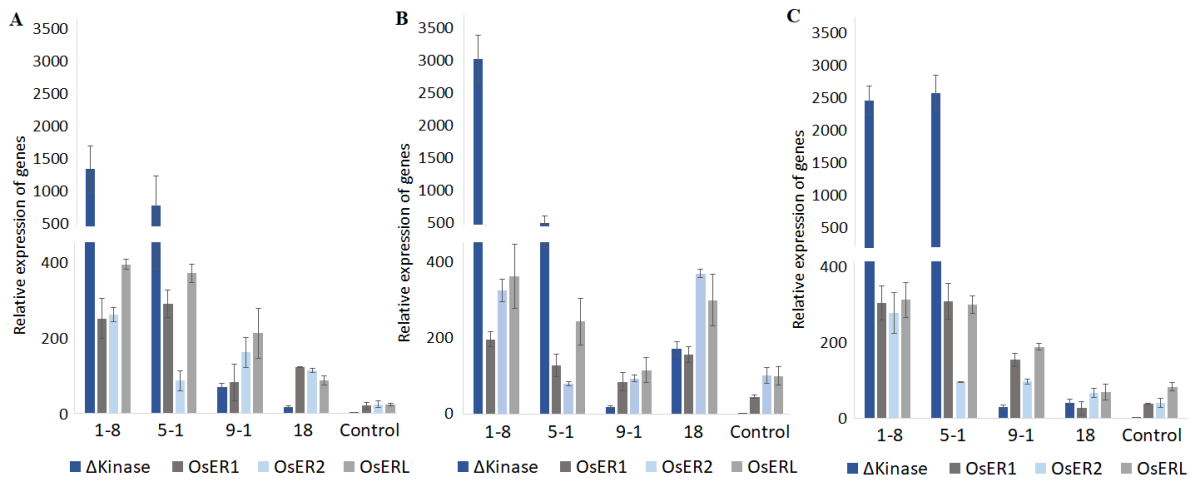


Source: From the author (2021).

After, four T_0 plants, two with high (1-8 and 5-1) and two with low (9-1 and 18) $\Delta Kinase$ expression level, were selected for evaluating the *OsERfs* expression during R2, R3 and R4 stages.

A genetic compensation effect was observed in the transgenic lines expressing $\Delta Kinase$ gene as the native *OsERfs* genes were upregulated in transgenic plants in comparison to the control (FIGURE 4). Genetic compensation refers to the occurrence of transcriptional upregulations of certain genes in the presence or absence of the action of other genes in the plant genome (ROSSI *et al.*, 2015). Therefore, transcriptional upregulation of *OsERfs* genes in the presence of $\Delta Kinase$ suggests genetic compensation due to the suppression of ER signaling in transgenic plants.

Figure 4 - Relative expression of *OsERfs* and Δ *Kinase* gene in four T₀ (1-8, 5-1, 9-1 and 18) and a control plant at different reproductive stages, R2 (A), R3 (B) and R4 (C). The error bars indicate $\pm$ standard error.



Source: From the author (2021).

In order to obtain greater reliability regarding the compensation effect, the correlations between the expression levels of *OsERfs* and Δ *Kinase* genes were estimated (TABLE 2). A high and significant correlation ($p \leq 0.05$) was observed, with the highest values at flowering stage (R4), with values ranging from 0.67 (*OsER2*) to 0.95 (*OsER1*). In the R2 stage, significant correlations were also observed between the number of transcripts, except for the *OsER2* gene.

Table 2- Pearson's correlation value between expression level of Δ *Kinase* and *OsERfs* genes at three different reproductive stages (R2-R4) in T₀ plants.

	<i>ΔKinase</i>		
	R2	R3	R4
<i>OsER1</i>	0.29	0.60*	0.95*
<i>OsER2</i>	0.20	0.44	0.67*
<i>OsERL</i>	0.33	0.66*	0.82*

*Significant by Student's t-test at 5%.

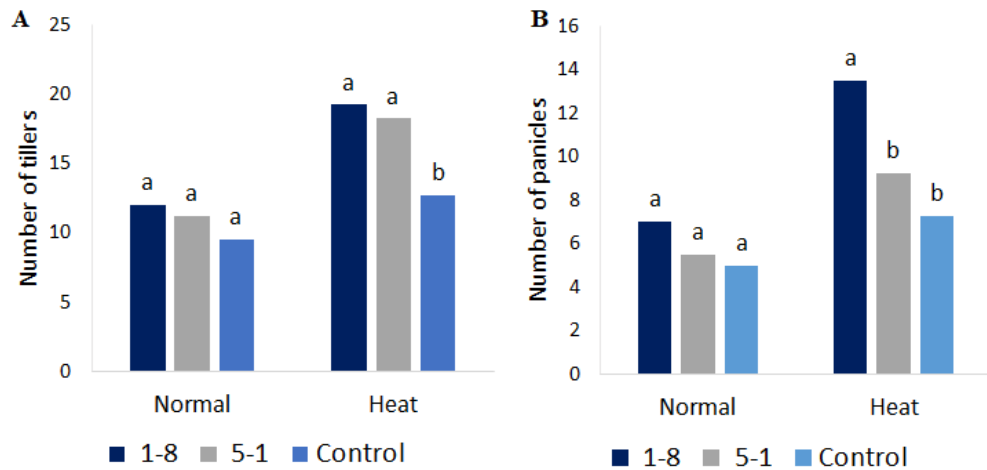
Source: From the author (2021).

After, T₁ plants of genotypes 1-8 and 5-1, classified as genotypes of high Δ *Kinase* expression, were evaluated for tolerance to high temperatures. In order to observe the behavior of transgenic plants under stress, as well as its effect on economically important traits, the phenotyping of plants was carried out regarding the number of tillers (TIL), number of panicles (PAN), grain yield (YLD) and grain sterility percentage (STR).

The effects of genotype and temperature, evaluated under normal and stressed (high temperature) conditions, were significant ($p \leq 0.05$) for all the traits. However, only for YLD and STR a significant effect ($p \leq 0.05$) of the genotypes x temperatures interaction was observed.

No penalty was observed regarding the vegetative development stage of the transgenic plants. Under normal temperature, the $\Delta Kinase$ plants had statistically similar TIL and PAN compared to the control plants (FIGURE 5). Although both the negative control and the transgenic plants produced more TIL under stress conditions, plants expressing the $\Delta Kinase$ gene, 1-8 and 5-1, showed statistically higher values. In addition, genotype 1-8 also had higher PAN.

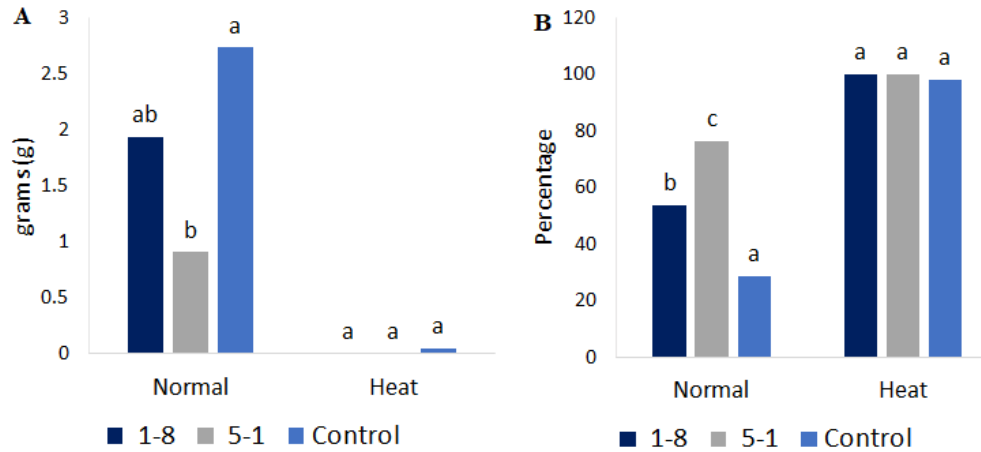
Figure 5 - Number of tillers (A) and panicles (B) of transgenic (1-8 and 5-1) and control plants under normal and high (heat) temperature conditions. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$) between genotypes by the Tukey test ($n = 3$) under different temperature conditions.



Source: From the author (2021).

Although initially transgenic plants showed superior agronomic performance compared to control under stress, this did not hold up compared to YLD (FIGURE 6). Since the stress was of high intensity, reaching a maximum of 38°C, none of the genotypes managed to produce grains, reaching a STR of one hundred percent. Under normal conditions, the control plant was also superior to $\Delta Kinase$ positive plants, having the lowest estimates of STR. In addition, YLD in control plants was three times higher than 5-1 genotype.

Figure 6 - Grain yield (A) and grain sterility percentage (B) of transgenic (1-8 and 5-1) and control plants under normal and high (heat) temperature conditions. Different letters indicate significant differences ($p \leq 0.05$) between genotypes by the Tukey test ($n = 3$) under different temperature conditions.



Source: From the author (2021).

4 DISCUSSION

The ER family of receptors (*ERfs*) regulates multiple aspects of plant development, and more recently, has been assigned an important role in biotic and abiotic stress response (GODIARD *et al.*, 2003; SHPAK, 2013; SHEN *et al.*, 2015; ZHENG *et al.*, 2015). The *ER* genes and its *ER-Like* paralogs are highly conserved in different species, suggesting functional conservation in different plant species (ZHANG *et al.*, 2018). However, it is important to understand how the *ER* genes act in the rice genome, including expression patterns, morphological impact and behavior under different stresses, in order to determine their application in breeding programs.

The *ERfs* have distinct expression pattern through developmental stages, organs or tissues in different plant species. *Arabidopsis thaliana* has a single *ER* gene, which is expressed at the highest level in the inflorescence, with maximum expression in young floral buds, followed by flowers and siliques, and low expression in the stem and leaves (Torii *et al.*, 1996). The rice genome (*Oryza sativa*) has two *ER* genes, *OsER1*, *OsER2* and one *ER-LIKE*, *OsERL*. However, these have a similar behavior to that observed in *Arabidopsis*, with a higher level of expression in the inflorescence, specifically, spikelet, panicles and stamens (ZHANG *et al.*, 2018).

In Nipponbare cultivar from the *japonica* subspecies, a model plant in genetic research in rice, a greater number of transcripts was observed at the early stages between booting stage (R2), until flowering stage (R4), when one or more spikelet on the main stem panicle has

reached anthesis. Although the maximum expression occurred in heading stage (R3), when the panicle begins to exert from a collar on the flag leaf (MOLDENHAUER; SLATON, 2001; COUNCE; SIEBENMORGEN; AMBARDEKAR, 2015).

These stages are responsible for triggering a series of metabolic activities in the rice plant that directly influence grain yield. Microsporogenesis, the process of formation of pollen grains in the male sex organs of a plant, occurs at the R2 stage. The occurrence of abiotic stresses at this stage, such as the low moisture and high temperatures, can lead to high levels of grain sterility (SHEORAN; SAINI, 1996; MATSUI; OMASA; HORIE, 2000), mainly due to the abortion of male gametes.

High expression of *OsERfs* genes between R2 and R4 stages is of great interest as they regulate metabolic pathways that influence plant's response to stress (TERPSTRA *et al.*, 2010; MENG *et al.*, 2012). In addition, the *ERfs* play roles during development of reproductive tissues, although the nature of the cell-to-cell communication enabled by *ERfs* is not yet known (SHPAK, 2013).

Shpak, Lakeman and Torii (2003), developed a truncated *Arabidopsis* ERECTA protein, Δ Kinase, that lacks the cytoplasmatic kinase domain. The Δ Kinase interferes with the endogenous ER signaling by binding and arresting the signal molecules. We introduced the Δ Kinase gene into the cultivar Nipponbare to study the effects of ER suppression on plant phenotype, native rice genes (*OsERfs*), and abiotic stress tolerance. For this, six T₀ plants (1-8, 5-1, 5-2, 9-1, 9-4 and 18) expressing the Δ Kinase gene were grown in the greenhouse.

Based on Δ Kinase expression in reproductive growth stage in transgenic plants, plants with high, 1-8, 5-1 and 5-2, and plants with low Δ Kinase expression, 9-1, 9-2 and 18 were identified. The expression pattern of Δ Kinase gene was the same as observed for the *OsERfs* genes in the Nipponbare cultivar, with higher estimates in the reproductive stages, R2, R3 and R4. This result suggests both Δ Kinase and *OsERfs* participate in the same cell-to-cell signal transduction pathways in transgenic rice plants.

Subsequently, four T₀ plants were evaluated for the expression pattern of the *OsERfs* genes in the presence of the transgene in R2, R3 and R4 stages. With higher expression of Δ Kinase, greater decrease in ER signaling is expected, however, this was not observed. Initially, we observed genetic compensation effect, characterized by transcriptional up-regulation of the *OsERfs* genes in the presence of Δ Kinase gene, that suggests interference by Δ Kinase. A similar result was observed by Villagarcia *et al.* (2012), in tomato (*Solanum lycopersicum*) plants. The Δ Kinase gene expression in transgenic tomato plants resulted in upregulation of the two endogenous *ER* family genes, *SIER* and *SIERL*. The downregulation of the ERECTA signaling

pathway by $\Delta Kinase$ presumably induced genetic compensation effect, leading to the increase in expression of the endogenous *ER* genes in different organs, above that observed in the wild-type plants.

An interesting observation was that greater genetic compensation effect was observed in transgenic plants that showed higher levels of $\Delta Kinase$ as compared to plants that expressed lower levels. This was confirmed by the strong positive correlation between the expression levels of $\Delta Kinase$ and *OsERfs*, especially in R4 stage.

Intensive research on climate changes shows projections of increased air temperature in the next few decades (KRISHNAN *et al.*, 2011). Plants exposed to temperatures above a certain threshold, can suffer damage in growth, development and reproduction (WAHID *et al.*, 2007). The upper limit temperature in the reproductive stage of rice can vary from 32 to 35°C, impacting from the booting stage to the ripening stages, and resulting in losses in grain yield (YOSHIDA, 1978; MORITA *et al.*, 2004; JAGADISH; CRAUFURD; WHEELER, 2007; SHAH *et al.*, 2011).

Due to better performance of $\Delta Kinase$ -expressing tomato and soybean in water deficit (VILLAGARCIA *et al.*, 2012; SHANMUGAM *et al.*, 2020), as well as the importance of the *ER* gene in thermotolerance in rice (SHEN *et al.*, 2015), progenies from the high $\Delta Kinase$ gene expression genotypes (1-8 and 5-1), together with a control type, were subjected to high temperature stress.

It is important to note that T₁ transgenic plants did not present a vegetative development penalty in the presence of the $\Delta Kinase$, as observed for soybean plants by Berchembrock, Botelho and Srivastava (2021). Probably, the genetic compensation in rice is not just a transcriptional effect but also likely a phenotypic effect.

Plants expressing the $\Delta Kinase$ gene presented tillering capacity statistically similar to the control under normal conditions. Under high temperature stress, all genotypes showed an increase in the number of tillers, a fact already proven in other studies (YOSHIDA; SATAKE; MACKILL, 1981; BAKER; ALLEN JR; BOOTE, 1992). However, transgenic plants 1-8 had on average 46% higher number of tillers when compared to the control.

Generally, the number of tillers per plant is correlated with the number of panicles, which is a component of grain yield. High tillering plants have a greater number of panicles than low tillering plants (NURUZZAMAN *et al.*, 2000). In fact, it was possible to observe a linear behavior regarding the number of tillers and panicles under both temperature conditions, except for the genotype 5-1 under stress.

Although the genotypes had the same number of panicles under normal conditions, the control plants had the lowest grain sterility, which resulted in a grain yield three times higher compared to the 5-1 transgenic genotype. The grain yield of transgenic plants 1-8 and 5-1 was affected by high levels of sterility, respectively, 53.9% and 76.6%.

Although the two rice *ER* genes have a certain level of redundancy, the *OsER2* has greater involvement in the regulation of reproductive development, directly affecting the seed setting rate (ZHANG *et al.*, 2018). The suppression of *ERECTA* signaling, presumably by Δ *Kinase*, compromised fertility and, consequently, grain yield in rice plants.

Soybean studies also observed an inverse relationship between the level of Δ *Kinase* gene expression and grain yield in transgenic plants, with an estimated correlation of -0.78 (BERCHEMBROCK, BOTELHO, SRIVASTAVA, 2021). Furthermore, Shpak, Lakeman and Torii (2003) observed reduced fertility in Δ *Kinase* transgenic plants in *Arabidopsis* due to developmental problems in the reproductive structures.

The reproductive stage in rice is sensitive to high air temperature and may affect the dehiscence of the anther, shedding of pollen, germination of pollen grains on stigma, and elongation of pollen tubes (SATAKE; YOSHIDA, 1978; PRASAD *et al.*, 2006; KRISHNAN *et al.*, 2011). In this stage, stress mainly lack fertilization of spikelets and may result in almost complete sterility and significant loss of grain yield (KRISHNAN *et al.*, 2011).

Exposure of rice genotypes to prolonged extreme heat in growth chamber conditions resulted in total sterility, for both transgenic and control genotypes. The truncated ER (Δ *Kinase*) did not influence the tolerance of plants under stress since their performance was not significantly different from that of the control.

The *ER* gene is an important thermotolerance regulator in rice although how it responds to increasing temperatures and what signaling pathways are involved are still not clear (VAN ZANTEN *et al.*, 2009). Shen *et al* (2015) studied a loss-of-function mutation of *OsER1* and *OsER2* in two different *japonica* cultivars as additional genetic support for the role of *ER* gene in heat tolerance. The authors observed the death of the spikelets and, consequently, low rate of seed setting in the *Oser1* mutant plants that were grown for 10 days at 42°C/35°C (day/night) in the growth chamber. However, no difference in heat tolerance was observed between *Oser2* and its control, suggesting that only *OsER1* plays a role in thermotolerance in rice.

In conclusion, the *OsERfs* genes showed higher expressions in the reproductive development stages in different rice genotypes, with emphasis on the highest expressions observed in the spikelets in booting (R2), heading (R3) and flowering (R4) stages. The suppression of ER signaling by Δ *Kinase* in transgenic rice plants seemed to trigger a

compensation effect by increasing the expression of three endogenous rice ER family genes, which are highly correlated with the expression level of the transgene. Although plants expressing the truncated ERECTA protein did not show diminished vegetative growth, they presented lower seed setting and yield grain. Contrary to our expectation, the transgenic plants did not exhibit tolerance to high temperature stress. In-depth knowledge of the behavior of *ERfs* in rice may be of great importance in the adoption of gene editing strategies aimed at modifying their expression in the search for plants with desired agronomic traits associated with greater tolerance to different abiotic stresses.

REFERENCES

- BAKER, J.T.; ALLEN JR., L. H.; BOOTE, K. J. Response of rice to carbon dioxide and temperature. **Agricultural and Forest Meteorology**, 1992, 60.3-4: 153-166.
- BERCHEMBROCK, Y. V.; BOTELHO, F. B. S.; SRIVASTAVA, V. Suppression of ERECTA Signaling Impacts Agronomic Performance of Soybean (*Glycine max* (L) Merrill) in the Greenhouse. **Frontiers in plant science**, 2021, 12: 644.
- COUNCE, P. A.; SIEBENMORGEN, T. J.; AMBARDEKAR, A. A. Rice reproductive development stage thermal time and calendar day intervals for six US rice cultivars in the Grand Prairie, Arkansas, over 4 years. **Annals of Applied Biology**, 2015, 167.2: 262-276.
- FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. Statistics Database. 2019. Available in: <<http://www.faostat.fao.org/faostat>>
- GODIARD, L. *et al.* ERECTA, an LRR receptor-like kinase protein controlling development pleiotropically affects resistance to bacterial wilt. **The Plant Journal**, 2003, 36.3: 353-365.
- JAGADISH, S.V.K.; CRAUFURD, P.Q.; WHEELER, T.R. High temperature stress and spikelet fertility in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of experimental botany**, 2007, 58.7: 1627-1635.
- KRISHNAN, P. *et al.* High-temperature effects on rice growth, yield, and grain quality. **Advances in agronomy**, 2011, 111: 87-206.
- LIN, G. *et al.* A receptor-like protein acts as a specificity switch for the regulation of stomatal development. **Genes & development**, 2017, 31.9: 927-938.
- LIU, M. *et al.* Identification and expression analysis of ERECTA family genes in grape (*Vitis vinifera* L.). **Genes & genomics**, 2019, 41.6: 723-735.
- MASLE, J.; GILMORE, S.R.; FARQUHAR, G.D. The ERECTA gene regulates plant transpiration efficiency in *Arabidopsis*. **Nature**, 2005, 436.7052: 866-870.
- MATSUI, T.; OMASA, K.; HORIE, T. High temperature at flowering inhibits swelling of pollen grains, a driving force for thecae dehiscence in rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Production Science**, 2000, 3.4: 430-434.

MENG, X. *et al.* A MAPK cascade downstream of ERECTA receptor-like protein kinase regulates Arabidopsis inflorescence architecture by promoting localized cell proliferation. **The Plant Cell**, 2012, 24.12: 4948-4960.

MOLDENHAUER, K.E.W.C.; SLATON, N. Rice growth and development. **Rice production handbook**, 2001, 192: 7-14.

MORITA, S. *et al.* Effect of high temperature on grain ripening in rice plants: analysis of the effects of high night and high day temperatures applied to the panicle and other parts of the plant. **Japanese Journal of Crop Science (Japan)**, 2004.

NURUZZAMAN, M. *et al.* Varietal differences in tillering ability of fourteen japonica and indica rice varieties. **Soil Science and Plant Nutrition**, 2000, 46.2: 381-391.

PRASAD, P.V.V. *et al.* Species, ecotype and cultivar differences in spikelet fertility and harvest index of rice in response to high temperature stress. **Field crops research**, 2006, 95.2-3: 398-411.

R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria: URL <https://www.R-project.org/>. [Google Scholar], 2017.

ROSSI, A. *et al.* Genetic compensation induced by deleterious mutations but not gene knockdowns. **Nature**, 2015, 524.7564: 230-233.

SAINI, H.S.; WESTGATE, M.E. Reproductive development in grain crops during drought. **Advances in agronomy**, 1999, 68: 59-96.

SATAKE, T.; YOSHIDA, S. High temperature-induced sterility in *indica* rices at flowering. **Japanese Journal of Crop Science**, 1978, 47.1: 6-17.

SATO, Y. *et al.* RiceXPro version 3.0: expanding the informatics resource for rice transcriptome. **Nucleic acids research**, 2013, 41.D1: D1206-D1213.

SHAH, F. *et al.* Impact of high-temperature stress on rice plant and its traits related to tolerance. **The Journal of Agricultural Science**, 2011, 149.5: 545-556.

SHANMUGAM, S. *et al.* Modification of soybean growth and abiotic stress tolerance by expression of truncated ERECTA protein from Arabidopsis thaliana. **Plos one**, 2020, 15.5: e0233383.

SHEN, H. *et al.* Overexpression of receptor-like kinase ERECTA improves thermotolerance in rice and tomato. **Nature Biotechnology**, 2015, 33.9: 996-1003.

SHEORAN, I.S.; SAINI, H.S. Drought-induced male sterility in rice: changes in carbohydrate levels and enzyme activities associated with the inhibition of starch accumulation in pollen. **Sexual Plant Reproduction**, 1996, 9.3: 161-169.

SHPAK, E. D. Diverse roles of ERECTA family genes in plant development. **Journal of integrative plant biology**, 2013, 55.12: 1238-1250.

SHPAK, E.D.; LAKEMAN, M.B.; TORII, K.U. Dominant-negative receptor uncovers redundancy in the Arabidopsis ERECTA leucine-rich repeat receptor–like kinase signaling pathway that regulates organ shape. **The Plant Cell**, 2003, 15.5: 1095-1110.

STEIN, J.C. *et al.* Genomes of 13 domesticated and wild rice relatives highlight genetic conservation, turnover, and innovation across the genus *Oryza*. **Nature genetics**, 2018, 50.2: 285-296.

TAKAHASHI, T.; SHIBUYA, H.; ISHIKAWA, A. ERECTA contributes to non-host resistance to *Magnaporthe oryzae* in *Arabidopsis*. **Bioscience, biotechnology, and biochemistry**, 2016, 80.7: 1390-1392.

TERPSTRA, I.R. *et al.* Regulatory network identification by genetical genomics: signaling downstream of the Arabidopsis receptor-like kinase ERECTA. **Plant physiology**, 2010, 154.3: 1067-1078.

TORII, K.U. *et al.* The *Arabidopsis* ERECTA gene encodes a putative receptor protein kinase with extracellular leucine-rich repeats. **Plant Cell**. 1996; 8: 735–746.

VAN ZANTEN, M. *et al.* The many functions of ERECTA. **Trends in plant science**, 2009, 14.4: 214-218.

VILLAGARCIA, H. *et al.* Modification of tomato growth by expression of truncated ERECTA protein from *Arabidopsis thaliana*. **Journal of experimental botany**, 2012, 63.18: 6493-6504.

WAHID, A. *et al.* Heat tolerance in plants: an overview. **Environmental and experimental botany**, 2007, 61.3: 199-223.

YE, C. *et al.* Mapping QTL for heat tolerance at flowering stage in rice using SNP markers. **Plant Breeding**, 2012, 131.1: 33-41.

YOSHIDA, S. Tropical climate and its influence on rice. **IRRI Research Paper Series 20**. 1978.

YOSHIDA, S.; SATAKE, T.; MACKILL, D.S. High-temperature stress in rice [study conducted at IRRI, Philippines]. **IRRI Research Paper Series (Philippines)**, 1981.

ZHANG, Y. *et al.* Phylogenetic and CRISPR/Cas9 studies in deciphering the evolutionary trajectory and phenotypic impacts of rice ERECTA genes. **Frontiers in plant science**, 2018, 9: 473.

ZHENG, J. *et al.* TaER expression is associated with transpiration efficiency traits and yield in bread wheat. **PloS one**, 2015, 10.6: e0128415.

CAPÍTULO 3
POTENCIAL DE POPULAÇÕES SEGREGANTES DE ARROZ DE TERRAS
ALTAS PARA PRECOCIDADE DE FLORESCIMENTO

RESUMO

O sucesso na consolidação do arroz de terras altas no sistema de produção de grãos no Brasil é dependente do desenvolvimento de cultivares produtivas com resistência às principais doenças e fatores abióticos. Cultivares precoces, além de reduzir o tempo de exposição das plantas a fatores adversos, também facilita a inserção da cultura em sistemas de sucessão com outras espécies agrícolas. Assim, a identificação de populações promissoras para a extração de linhagens de ciclo curto com alto potencial produtivo é uma boa estratégia em programas de melhoramento de arroz de terras altas. Com isso, foram avaliadas duas populações segregantes obtidas a partir do cruzamento entre a cultivar super precoce, BRSMG Caçula, com duas linhagens produtivas, BRSMG Caravera e CMG1590 por meio das estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos, das estimativas de $m+a'$ e d e baseado na metodologia de Jinks e Pooni (1976). Foram avaliados os caracteres número de dias para florescimento e produtividade de grãos. Além disso, progênies precoces $F_{2:4}$ e $F_{2:5}$ de cada cruzamento foram avaliadas, para ambos os caracteres, em delineamento de blocos casualizados com três repetições e em dois ambientes, nas safras 2018/2019 e 2019/2020. O cruzamento BRSMG Caçula x BRSMG Caravera se mostrou mais promissor na possibilidade de se obter linhagens precoces. Foi possível observar potenciais linhagens que associem precocidade no ciclo de desenvolvimento com alto rendimento de grãos. Todavia, a população BRSMG Caçula x CMG1590 além de apresentar maior variabilidade para os caracteres avaliados, apresentou maiores estimativas de heterose para produtividade. As metodologias aplicadas para predição precoce do potencial genético nas populações mostraram-se eficientes.

Palavras-chave: *Oryza sativa*. Precocidade. Produtividade. Predição de populações segregantes.

1 INTRODUÇÃO

Cultivado e consumido em quase todos os continentes do mundo, o arroz (*Oryza sativa*) desempenha um importante papel tanto econômico quanto social, sendo umas das principais fontes de carboidrato para diversos países em desenvolvimento (WALTER *et al.*, 2007; PRASAD; SHIVAY; KUMAR, 2017). Embora tenha sido observada uma redução da área total destinado à cultura do arroz no Brasil nos últimos quinze anos (FAO, 2021), na safra 2020/2021 houve um incremento de 1,3% da área destinada ao arroz de terras altas no país quando comparado a safra passada (CONAB, 2021).

O melhoramento genético de arroz de terras altas tem como desafio trazer maior competitividade da espécie no mercado, desenvolvendo cultivares com ganhos na produtividade e qualidade de grãos, e, também, capazes de serem introduzidas em sistemas agrícolas de sequeiro, em áreas de sucessão com outras culturas como feijão (STONE; SILVEIRA, 2001), milho (ARF *et al.*, 2018), algodão e soja (FAGERIA, 2004; NASCENTE; STONE, 2018). O desenvolvimento de cultivares de ciclo curto permite a melhor utilização do arroz de terras altas nesses sistemas. Além disso, genótipos que permanecem menos tempo a campo estão sujeitos tanto a menor pressão de doenças, quanto a menores riscos de adversidades climáticas, como períodos de estiagem durante a fase reprodutiva que comprometem diretamente a produtividade de grãos (O'TOOLE; MOYA, 1981; KONDO; MURTY; ARAGONES, 2000). Sendo assim, a precocidade na cultura do arroz possui diversas vantagens agrícolas como menor tempo de exposição a estresses bióticos e abióticos, menor consumo de água, energia e uso de solo, favorecimento do sistema de sucessão de culturas e comercialização antecipada do produto

O método de melhoramento por hibridação é uma importante ferramenta para obtenção, seleção e recomendação de genótipos superiores e tem por objetivo reunir em uma nova linhagem os alelos favoráveis presentes em dois ou mais genitores. Com o avanço das gerações subsequentes à hibridação, ocorre uma ampla liberação da variabilidade genética, todavia, essa atividade em um programa de melhoramento demanda recursos humanos e financeiros (ALLARD, 1960; SIQUEIRA; FONSECA; SONDHAL, 1988). Dessa forma, a escolha de genitores e ou populações promissoras ainda nas etapas iniciais do programa evita o dispêndio desnecessário de esforços, tempo e capital. Logo, existem diversos procedimentos que possibilitam o descarte de combinações não promissoras o mais previamente possível, podendo essas, se basearem somente nas informações dos genitores ou ainda, no desempenho da

descendência originada dos cruzamentos (BAENZINGER; PETERSON, 1992; RAMALHO *et al.*, 2012).

O sucesso na seleção de genótipos depende de populações que tenham desempenho cada vez mais satisfatórios para os caracteres desejáveis, a partir de populações menos homogêneas possíveis, ou seja, populações que associem melhores médias e maior variabilidade genética para o caráter estudado (ALLARD; HANSCH, 1964). Dentre as metodologias de predição de populações superiores que permitem obter simultaneamente as informações de média e variância estão a metodologia de Jinks e Pooni (1976) e aquela baseada nos componentes de média $m+a'$ e d (VENCOVSKY, 1987; FALCONER; MACKAY, 1996). O método proposto por Jinks e Pooni (1976) estima a probabilidade das linhagens obtidas em F_{∞} de superar um determinado padrão ou testemunha, considerando a média e variância das gerações iniciais (ABREU; RAMALHO; SANTOS, 2001). Já com as estimativas baseadas nos componentes de média, é possível identificar as contribuições dos locos em homozigose ($m+a'$) e a heterose, ou contribuição dos locos em heterozigose (d). As estimativas de $m+a'$ corresponde à média de todas as linhagens obtidas em F_{∞} e é baseada na média dos pais e nos locos já fixados nos genitores. Já a estimativa de d , avalia a contribuição dos locos em heterozigose e, conseqüentemente, a divergência genética entre as linhagens. Essa, por sua vez, será tanto maior quanto menor for a semelhança da constituição genética dos genitores para o caráter em estudo, desde que esse não apresente predominância de efeitos aditivos (SANTOS; SOARES; RAMALHO, 2002).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo predizer o potencial de populações segregantes em originar genótipos produtivos e precoces por meio das estimativas de parâmetros genéticos e fenotípicos, das estimativas dos componentes de média $m+a'$ e d e pela metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976). Além de avaliar o desempenho de progênies precoces $F_{2:4}$ e $F_{2:5}$ oriundas de cada cruzamento com base no ciclo da cultura e produtividade de grãos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Obtenção das populações segregantes

Realizou-se em casa de vegetação, o cruzamento entre a cultivar de arroz de terras altas classificada como de ciclo super precoce, BRSMG Caçula (SOARES *et al.*, 2013) com outras duas linhagens selecionadas quanto ao alto desempenho produtivo, BRSMG Caravera (SOARES *et al.*, 2008) e CMG1590, linhagem elite selecionada do Ensaio de Valor de Cultivo e Uso (VCU) do Programa de Melhoramento de arroz de terras altas (MelhorArroz) da Universidade Federal de Lavras. Com isso, originou-se duas populações distintas, BRSMG Caçula x BRSMG Caravera e BRSMG Caçula x CMG1590. Parte das sementes F_1 de cada cruzamento foram utilizadas para obtenção das sementes F_2 e, posteriormente, F_3 .

2.2 Condução do experimento

Os experimentos foram conduzidos durante a safra 2018/2019 no Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT) da Universidade Federal de Lavras (UFLA), localizado no município de Lavras/MG (latitude: $-21^{\circ}12'11''$, longitude: $-44^{\circ}58'47''$), que se insere na classificação Cwa de Köppen, caracterizada como uma estação chuvosa no verão e seca no inverno (MARTINS *et al.*, 2018). Para cada população implantou-se um experimento em delineamento de blocos casualizados, com dez repetições e cinco tratamentos, sendo esses as gerações P_1 , P_2 , F_1 , F_2 e F_3 . Cada repetição foi constituída por onze parcelas, sendo uma parcela para cada uma das gerações P_1 , P_2 e F_1 e quatro parcelas para cada uma das gerações segregantes F_2 e F_3 . Foram selecionadas aleatoriamente, durante o período vegetativo, cinco plantas dentro de cada parcela P_1 , P_2 , F_1 e F_2 , e seis plantas para cada parcela F_3 . Sendo assim, no total do experimento foram avaliadas individualmente 50 plantas P_1 , 50 plantas P_2 , 50 plantas F_1 , 200 plantas F_2 e 240 plantas F_3 , quanto ao número de dias para florescimento, decorridos da semeadura até a data de completa emissão da primeira panícula, e produtividade de grãos (g/planta).

As adubações dos experimentos e os demais tratos culturais foram feitos de acordo com as recomendações para a cultura.

2.3 Predição do potencial de populações segregantes

Utilizando os métodos dos quadrados mínimos estimou-se a variância fenotípica média das parcelas que receberam os mesmos tratamentos nas diferentes repetições. A partir dessas,

foram estimadas as variâncias genéticas (σ_{Gij}^2) das gerações F₂ e F₃ de cada população *i* pela expressão: $\sigma_{Gij}^2 = \sigma_{Fij}^2 - \sigma_{Ai}^2$. Em que, σ_{Fij}^2 é a variância fenotípica média da geração *j* na população *i* e σ_{Ai}^2 é a variância ambiental média da população *i*. A variância ambiental σ_{Ai}^2 é calculada indiretamente pela variância manifestada dentro das gerações homogêneas de cada população *i*, P₁ (σ_{P1i}^2), P₂ (σ_{P2i}^2) e F₁ (σ_{F1i}^2) seguindo a expressão $\sigma_{Ai}^2 = \frac{\sigma_{P1i}^2 + \sigma_{P2i}^2 + \sigma_{F1i}^2}{3}$ (ALLARD, 1960; CRUZ, 2006).

O potencial das populações foi estimado com base no desempenho das progênes seguindo as estimativas dos componentes de média $m+a'$ e *d* e a probabilidade de obter linhagens F_∞ que superem um determinado padrão (JINKS; POONI, 1976; VENCOVSKY, 1987).

As estimativas dos componentes de média foram obtidas pelos contrastes, $m + a'_i = 2\bar{F}_{3i} - \bar{F}_{2i}$ e $d_i = 4(\bar{F}_{2i} - \bar{F}_{3i})$ uma vez que $\bar{F}_{3i} = m + a'_i + \frac{1}{4}d_i$ e $\bar{F}_{2i} = m + a'_i + \frac{1}{2}d_i$ (OLIVEIRA *et al.*, 1996; RAMALHO *et al.*, 2012). Em que, *m* é a média fenotípica de todas as linhagens possíveis na geração F_∞, a'_i o somatório dos locos não contrastantes nos genitores da população *i*, ou seja, locos já fixados, *d_i* o desvio do heterozigoto em relação à média e, por fim, $\bar{F}_{2i}$ e $\bar{F}_{3i}$ são as médias das gerações F₂ e F₃, respectivamente, da população *i* (*i* = 2).

A metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976) leva em consideração as propriedades da distribuição normal padronizada. Utilizando-se as gerações F₂ e F₃ como referência e, desconsiderando a presença de dominância, temos as seguintes equações: $Z_i = \frac{\bar{L} - \bar{F}_{2i}}{\sqrt{2\sigma_{F2i}^2 - \sigma_{Ai}^2}}$ e

$Z_i = \frac{\bar{L} - \bar{F}_{3i}}{\sqrt{1,33\sigma_{F3i}^2 - 0,33\sigma_{Ai}^2}}$. Em que, *Z_i* é a probabilidade da população *i* em originar linhagens que

superem um determinado padrão ($\bar{L}$), definido para as características número de dias para florescimento e produtividade de grãos, respectivamente, como a média do genitor BRSMG Caçula nas duas populações e produção média de 55g/planta definido com base nos resultados. $\bar{F}_{2i}$ e $\bar{F}_{3i}$ são as médias das gerações F₂ e F₃, respectivamente, σ_{F2i}^2 e σ_{F3i}^2 são as variâncias fenotípicas das gerações F₂ e F₃ e σ_{Ai}^2 a variância ambiental média da população *i* o qual será extrapolada para as linhagens que serão obtidas em F_∞.

2.4 Avaliação de progênes precoces F_{2:4} e F_{2:5}

Visando testar a confiabilidade das estimativas de predição, na safra 2017/2018, na geração F₂ de cada população, foram selecionadas fenotipicamente as 25 plantas mais precoces

quanto a emissão de panículas, originando progênes F_{2:3}. Essas, foram conduzidas em bulk dentro de progênie para a obtenção das gerações F_{2:4}. Na safra 2018/2019, as progênes F_{2:4} foram avaliadas em dois ambientes, em Lavras/MG na área experimental previamente citada, e Lambari/MG, na área experimental da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais (EPAMIG) (latitude: -21° 50' 32'', longitude: -45° 21'01) também inserida na classificação Cwa de Köppen (MARTINS *et al.*, 2018).

As progênes F_{2:5}, obtidas novamente pelo método de bulk dentro de progênie, foram avaliadas na safra seguinte (2019/2020) somente em Lavras/MG. Os experimentos foram conduzidos em delineamento de blocos casualizados, com três repetições e 56 tratamentos, sendo as 25 progênes de cada população *i* e, como testemunhas, os três genitores envolvidos nos dois cruzamentos, BRSMG Caçula, BRSMG Caravera e CMG1590, repetidos duas vezes. Cada parcela foi constituída por duas linhas de dois metros, com densidade de semeadura de 80 sementes por metro linear e espaçamento de 0,40m. As características avaliadas foram o número de dias para florescimento, quando 50% das plantas da parcela emitiram panículas (estágio R4) contados pelo número de dias corridos a partir da data de semeadura, e produtividade de grãos (ton.ha⁻¹) por parcela. Os dados, para cada população, foram submetidos a uma análise de variância individual por ambiente e geração e, posteriormente, conjunta. Na análise conjunta foram considerados conjuntamente os três ambientes e gerações, sendo esse, junto com a média e as populações, os efeitos fixos do modelo:

$$\bar{Y}_{ijkl} = m + p_i + g_{j(i)} + a_k + pa_{ij} + ga_{j(i)k} + b_{l(k)} + e_{ijk}$$

em que:

$\bar{Y}_{ijk}$: valor observado da média do genótipo *j*/população *i*, no ambiente e geração *k*;

m: média geral do experimento;

p_i: efeito da população *i*, (*i*=1,2);

g_{j(i)}: efeito do genótipo *j* (*j*=1,2, ..., 28), dentro de cada população *i* (*i*=1,2) sendo

$g_{j(i)} \sim N(0, \sigma_g^2)$;

a_k: efeito do ambiente e geração *k*, (*k*=1,2,3);

pa_{ik}: efeito da interação das populações *i* x ambientes;

ga_{j(i)k}: efeito da interação dos genótipos dentro da população *i* x ambientes, sendo

$ga_{j(i)k} \sim N(0, \sigma_{ga}^2)$;

b_{l(k)}: efeito do bloco *j* (*j*=1,2 e 3) dentro de cada ambiente e geração *k* (*k*=1,2,3);

e_{ijn}: erro experimental associado à observação *Y_{ijkl}*;

A partir das esperanças dos quadrados médios das análises conjuntas foi estimado a variância genética na média de genótipos (σ_{gi}^2) para cada população i considerando todos os ambientes e gerações, bem como as herdabilidades no sentido amplo (h_{gi}^2). Os intervalos de confiança das herdabilidades foram obtidos utilizando as expressões apresentadas por Knapp, Stroup e Ross (1985), com $\alpha = 0,05$. As análises estatísticas foram realizadas com o apoio do software R (R Core Team, 2019).

3 RESULTADOS

O resumo da análise de variância entre as gerações, quanto as características número de dias para florescimento e produtividade de grãos, é apresentado na Tabela 1.

Constatou-se que a fonte de variação gerações foi significativa ($p < 0.05$) para as duas populações, indicando diferença entre os tratamentos quanto aos caracteres avaliados.

Tabela 1 - Resumo da análise de variância quanto ao número de dias para florescimento e produtividade de grãos (g/planta) avaliados em cinco gerações (P₁, P₂, F₁, F₂ e F₃) e em duas populações distintas.

Número de dias para o florescimento				
	BRSMG Caçula x BRSMG Caravera		BRSMG Caçula x CMG1590	
FV	GL	QM	GL	QM
Geração	4	131,48**	4	567.13**
Repetição	9	27,56**	9	18.95
Erro	36	22,53	36	16,94
Dentro	526	10,35	527	11,53
Média	83,60		85,88	
Acurácia	0,95		0,98	
Produtividade de grãos				
	BRSMG Caçula x BRSMG Caravera		BRSMG Caçula x CMG1590	
FV	GL	QM	GL	QM
Geração	4	908,04*	4	2079.50**
Repetição	9	1129,31**	9	593.84
Erro	36	466,63	36	385.21
Dentro	495	296,65	519	388.81
Média	36,80		40,00	
Acurácia	0,82		0,90	

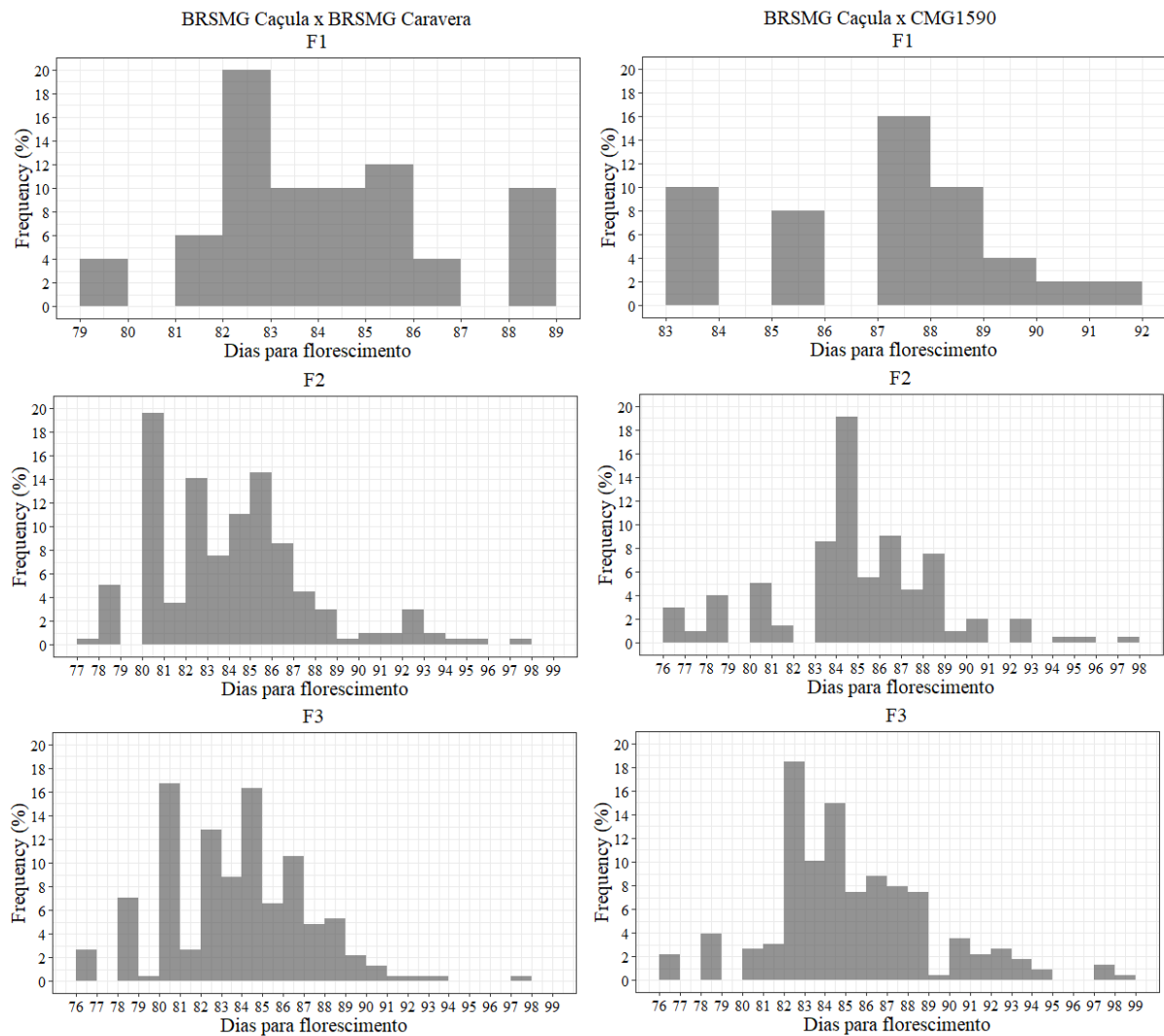
** : significativo a 1% de probabilidade pelo teste F.

Fonte: Do autor (2021).

Com base no histograma de frequência (FIGURA 1 e FIGURA 2), pode-se observar menor variabilidade na geração F₁ quando comparado às gerações F₂ e F₃. Isso já era esperado uma vez que as plantas da geração F₁ são geneticamente iguais, sendo toda a variação observada devido aos fatores ambientais. Todavia, quando se compara as gerações F₁ das populações

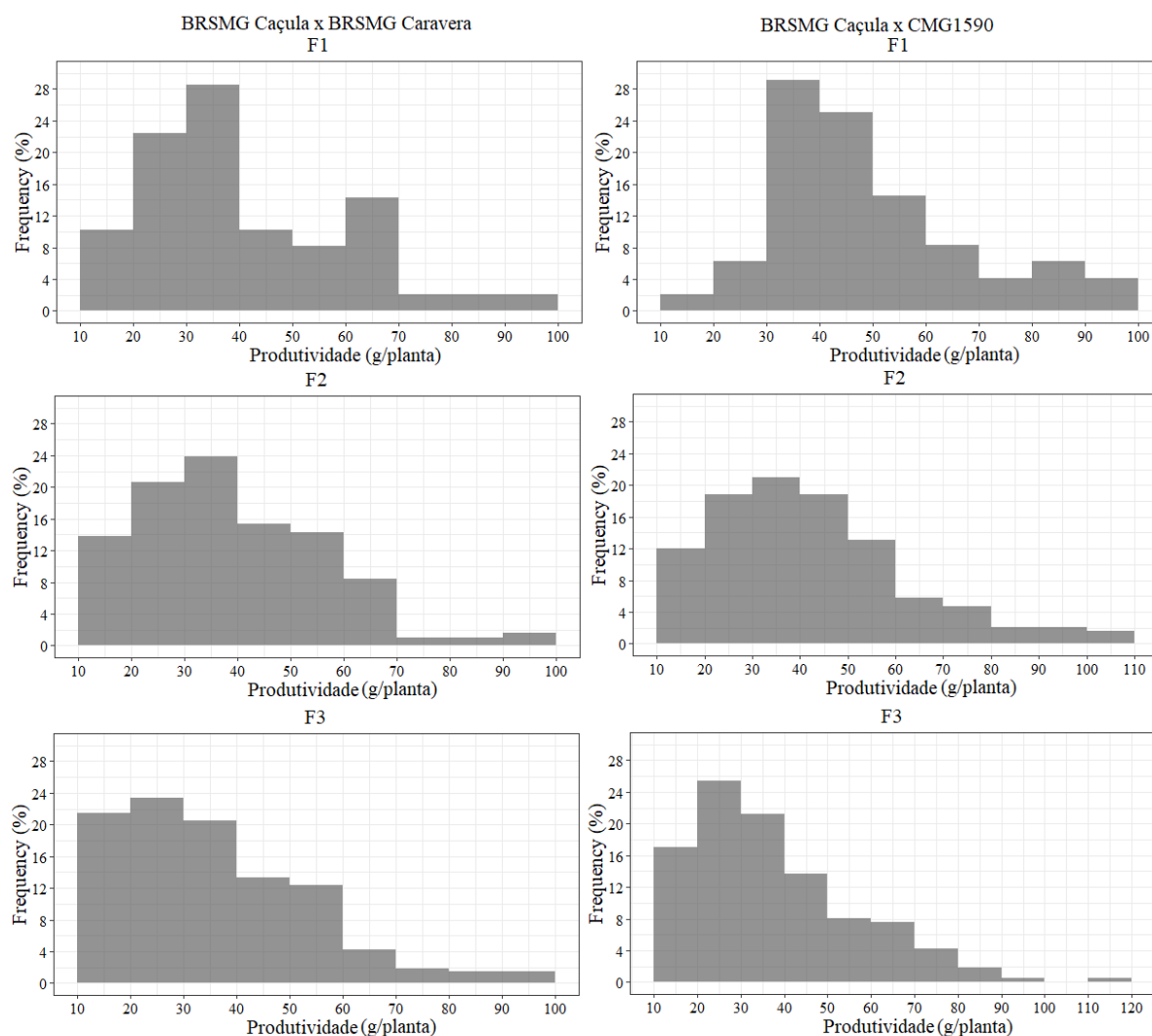
avaliadas quanto ao caráter número de dias para florescimento, pode-se observar que a população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera apresentaram plantas mais precoces.

Figura 1 - Distribuição de frequência das plantas avaliadas quanto ao número de dias para o florescimento nas três gerações (F₁, F₂ e F₃) das duas populações, BRSMG Caçula x BRSMG Caravera e BRSMG Caçula x CMG1590.



Fonte: Do autor (2021).

Figura 2 - Distribuição de frequência das plantas avaliadas quanto a produtividade de grãos (g/planta) nas três gerações (F₁, F₂ e F₃) das duas populações, BRSMG Caçula x BRSMG Caravera e BRSMG Caçula x CMG1590.



Fonte: Do autor (2021).

Assim como na geração F₁, toda variabilidade observada entre as plantas P₁ e P₂ de cada população, também são exclusivamente devido a fatores ambientais. Sendo assim, uma vez que a herdabilidade expressa a razão da variância genética à variação fenotípica total, essa só foi possível ser calculada para as gerações F₂ e F₃ (TABELA 2). Comparativamente, a população oriunda do cruzamento entre BRSMG Caçula x CMG1590 apresentou maiores estimativas para ambos os caracteres avaliados. Além disso, exceto para número de dias para florescimento na população BRSMG Caçula x CMG1590, as herdabilidades observadas na F₂ foram superiores às observadas na F₃, indicando maior variabilidade genética nessa geração.

Tabela 2 – Estimativas da variância fenotípica (σ^2) nas gerações (P₁, P₂, F₁, F₂ e F₃), variância ambiental (σ_A^2) na média das populações e herdabilidade (h^2) nas gerações F₂ e F₃ quanto aos caracteres número de dias para florescimento e produtividade de grãos (g/planta) das populações em estudo.

Parâmetros	Número de dias para o florescimento	
	BRSMG Caçula x BRSMG Caravera	BRSMG Caçula x CMG1590
σ_{P1}^2	5,16	7,39
σ_{P2}^2	8,71	3,23
σ_{F1}^2	2,54	3,67
σ_{F2}^2	12,21	11,66
σ_{F3}^2	11,08	15,14
σ_A^2	5,47	4,76
h_{F2}^2	55,20	59,15
h_{F3}^2	50,65	68,55
Parâmetros	Produtividade de grãos	
	BRSMG Caçula x BRSMG Caravera	BRSMG Caçula x CMG1590
σ_{P1}^2	171,02	280,45
σ_{P2}^2	241,51	182,85
σ_{F1}^2	358,82	357,98
σ_{F2}^2	329,33	430,71
σ_{F3}^2	285,17	415,68
σ_A^2	257,12	273,76
h_{F2}^2	21,93	36,44
h_{F3}^2	9,84	34,14

Fonte: Do autor (2021).

A fim de obter a predição das populações em estudo, obteve-se a média de todas as linhagens na geração F_∞ com base na estimativa de $m+a'$ proposto inicialmente por Vencovsky (1987) (TABELA 3). Pode-se inferir a princípio que a população que possivelmente irá originar linhagens com menor média para o caráter número dias de florescimento, ou seja, linhagens mais precoces, será BRSMG Caçula x BRSMG Caravera. Embora nessa população a estimativa de d infira em uma menor variância genética na geração F_∞ para o caráter avaliado em comparação à população BRSMG Caçula x CMG1590, uma vez que representa um menor número de locos heterozigóticos, ela não foi concordante com a heterose observada na geração F₁.

Quanto a produtividade de grãos, ainda que tenha sido obtida menor estimativa na média das linhagens resultantes da população BRSMG Caçula x CMG1590, essa apresentou maior média geral. Esse fato está associado a maior heterose observada em F₁, condizente com a

estimativa d do número de locos em heterozigose, vislumbrando ainda em maior variância entre as linhagens obtidas na geração F_{∞} .

Tabela 3 - Média do número de dias para o florescimento e produtividade de grãos (g/planta) com seus respectivos erros padrão, para os genitores (P_1 e P_2) e gerações F_1 e F_2 de cada população avaliada e as estimativas dos componentes de média ($m + a'$ e d).

	Número de dias para o florescimento	
	BRSMG Caçula x BRSMG Caravera	BRSMG Caçula x CMG1590
$\bar{P}_1$	81,1 (0,472)	81,5 (0,487)
$\bar{P}_2$	84,2 (0,472)	90,6 (0,487)
$\bar{F}_1$	83,7 (0,472)	86,7 (0,487)
$\bar{F}_2$	82,8 (0,228)	85,8 (0,241)
$\bar{F}_3$	82,5 (0,215)	84,8 (0,226)
Média geral	82,8	85,9
Heterose	1,06	0,65
$m + a'$	82,10	84,0
d	0,66	2,00

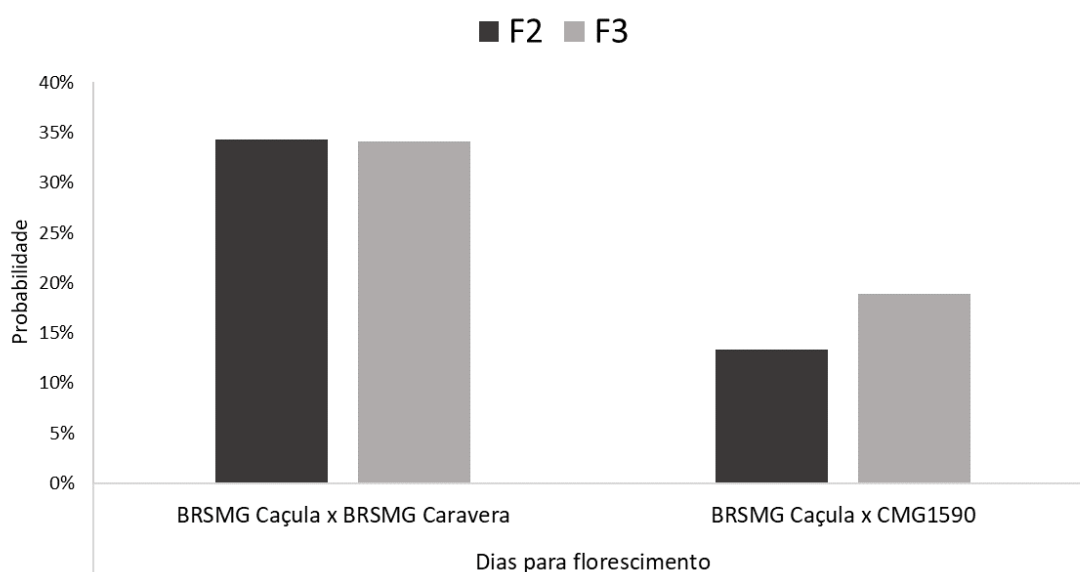
	Produtividade de grãos	
	BRSMG Caçula x BRSMG Caravera	BRSMG Caçula x CMG1590
$\bar{P}_1$	31,6 (2,53)	32,0 (2,59)
$\bar{P}_2$	35,0 (2,47)	36,6 (2,82)
$\bar{F}_1$	40,8 (2,47)	44,0 (2,82)
$\bar{F}_2$	39,7 (1,26)	41,2 (1,41)
$\bar{F}_3$	36,9 (1,2)	36,2 (1,32)
Média geral	36,8	38,0
Heterose	5,80	9,70
$m + a'$	34,10	31,20
d	5,60	10,00

Fonte: Do autor (2021).

Com a finalidade de aferir com maior precisão a predição das populações, foi obtido a probabilidade de cada população em originar linhagens que superem a cultivar BRSMG Caçula quanto ao caráter precocidade de florescimento. Para isso, foi utilizado a metodologia proposta por Jinks e Pooni (1976), baseado nas propriedades de uma distribuição normal padronizada. Novamente a população originada do cruzamento entre BRSMG Caçula x BRSMG Caravera apresentaram maiores probabilidades de seleção de linhagens precoces, estimados com base em ambas as gerações F_2 e F_3 (FIGURA 3), resultados condizentes com a estimativa de $m+a'$.

Quanto ao caráter produtividade de grãos, detectou-se uma maior influência de componentes não aditivos no caráter, indicando que, em ambas as gerações F₂ e F₃ além da contribuição dos locos já fixados, também conterà a contribuição dos locos em heterozigose (*d*) (ABREU; RAMALHO; SANTOS, 2012). Nesse caso, a metodologia de Jinks e Pooni (1976) não se torna aplicável.

Figura 3 - Probabilidade (%) de obter linhagens superiores a cultivar BRSMG Caçula quanto a precocidade de florescimento em arroz de terras altas avaliados em duas populações.



Fonte: Do autor (2021).

Objetivando comparar as estimativas de predição das populações, com o desempenho observado a nível de campo, foram avaliadas progênies precoces F_{2:4} e F_{2:5} de cada uma das populações avaliadas. Os resumos das análises de variância individuais das avaliações por ambiente e geração são apresentados na Tabelas 1 do Apêndice A. De modo geral, os experimentos apresentaram precisão de moderada a muito alta (RESENDE; DUARTE, 2007) com valores variando de 0,66 a 0,91. No entanto, pode-se observar também valores nulos de acurácias, tais estimativas são atribuídas a variabilidades genéticas não significativas ($p > 0,05$) entre os genótipos.

Na análise conjunta constatou-se diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as duas populações e entre os genótipos dentro de cada uma das populações, tanto para número de dias para florescimento quanto para produtividade de grãos (TABELA 4). Embora o efeito de ambiente e geração tenha sido significativo ($p \leq 0,05$) para ambos os caracteres, o efeito da interação ambientes x populações foi não significativa ($p > 0,05$) para o número de dias para florescimento, indicando para esse caráter uma maior estabilidade das populações frente as

diferenças ambientais. A interação ambientes x genótipos/população foi significativa ($p \leq 0,05$) na população BRSMG Caçula x CMG1590 quanto ao número de dias para florescimento e significativa ($p \leq 0,05$) na população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera para produtividade de grãos. Esse resultado indica um desempenho não coincidente entre os genótipos ao longo dos diferentes ambientes e gerações.

A população obtida pelo cruzamento BRSMG Caçula x CMG1590 apresentou, para ambos os caracteres, valores superiores quanto ao componente de variância genética na média de genótipos. Embora as estimativas pontuais de herdabilidade também indiquem uma maior variabilidade genética nessa população, os intervalos de confiança se sobrepuseram em ambos os casos.

Os dados médios observados quanto ao número de dias para florescimento na população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera foi inferior. Sendo assim, visando a seleção de plantas para redução do ciclo em dias, a população se mostra mais promissora, corroborando com as estimativas de $m+a'$ e Jinks e Pooni (1976).

Tabela 4 - Resumo da análise de variância conjunta obtida para os caracteres número de dias para florescimento e produtividade de grãos (ton.ha^{-1}) em progênies precoces $F_{2:4}$ e $F_{2:5}$ oriundas da população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera (Pop₁) e BRSMG Caçula x CMG1590 (Pop₂) avaliadas em dois locais.

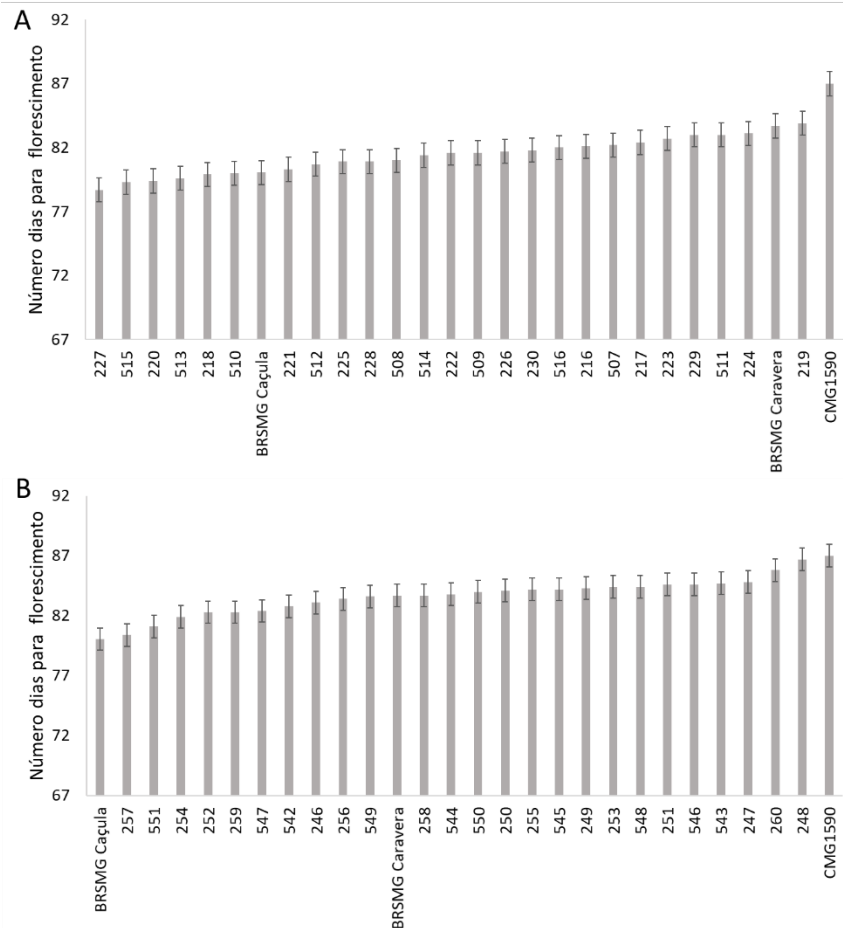
FV	Nº de Dias para o florescimento		Produtividade de grãos	
	GL	QM	GL	QM
Rep/Amb	6	40,50**	6	1,02
Ambiente (A)	2	4505,20**	2	128,10**
População	1	628,90**	1	4,61*
Genótipo/Pop	54	24,80**	54	2,41**
G/Pop₁	27	21,86*	27	2,10*
G/Pop₂	27	28,07*	27	3,45**
A x População	2	17,00	2	3,46**
A x G/Pop	108	11,10*	108	1,23*
A x G/Pop₁	54	11,86	54	1,29*
A x G/Pop₂	54	14,21**	54	0,59
Erro	330	8,00	284	1,00
Média Pop₁	81,50		3,38	
Média Pop₂	83,73		3,46	
σ^2_{g1}	1,11		0,61	
σ^2_{g2}	1,54		1,47	
h^2_1	0,46 (0,31 – 0,75)		0,58 (0,20 – 0,71)	
h^2_2	0,49 (0,46 – 0,81)		0,83 (0,68 – 0,88)	

**, *: significativo, respectivamente, a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F. σ^2_p : variância genética entre genótipos/população i ; h^2_i : herdabilidade no sentido amplo na média dos genótipos/população i , com seus respectivos limites inferior e superior. Fonte: Do autor (2021).

Enquanto na população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera é possível observar progênies que floresceram antes da cultivar BRSMG Caçula, considerada uma cultivar de ciclo super precoce para cultivo em sistema de sequeiro no Brasil (SOARES *et al.*, 2013), isso não foi verificado para a população BRSMG Caçula x CMG1590 (FIGURA 4). Dessa forma, é possível inferir que o primeiro cruzamento se mostra mais satisfatório à seleção de progênies precoces, como apresentado anteriormente pela metodologia de Jinks e Pooni (1976).

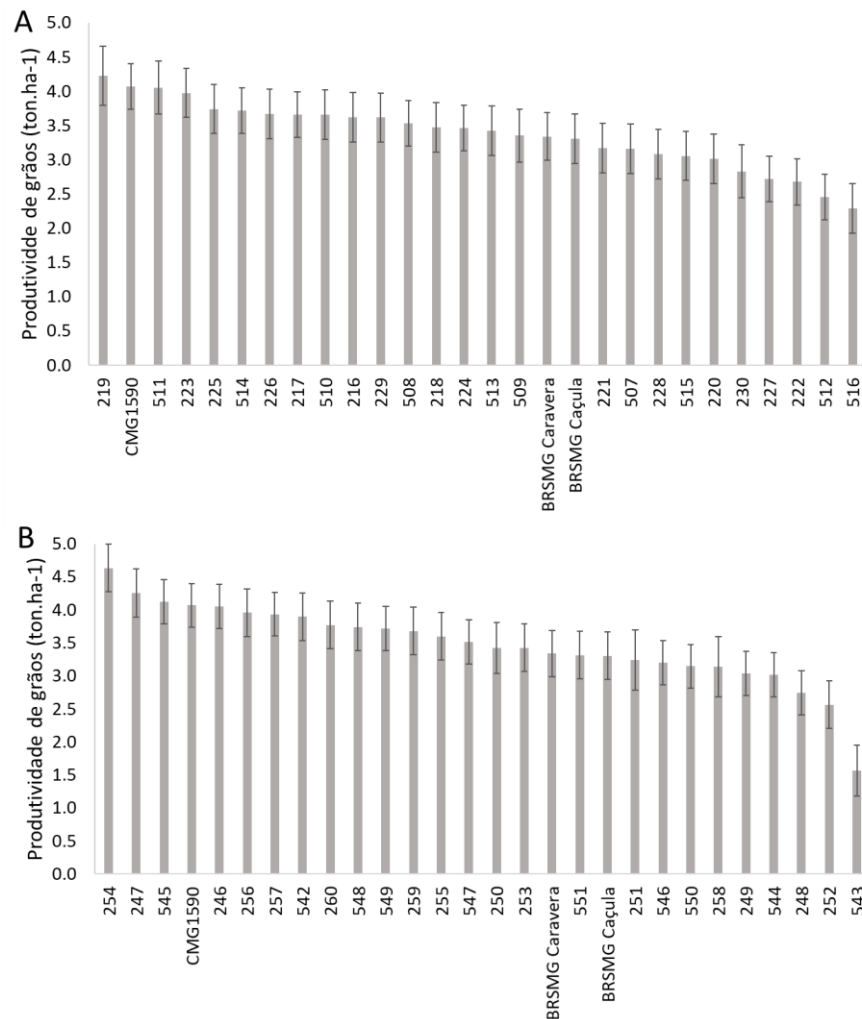
Quanto a produtividade de grãos, o genitor CMG1590 apresentou maiores estimativas. Em ambas as populações foi possível observar progênies que superassem o seu desempenho, tendo sido encontradas em maior número na população BRSMG Caçula x CMG1590.

Figura 4 - Média do número de dias para florescimento observada nas progênies precoces $F_{2:4}$ e $F_{2:5}$ obtidas do cruzamento (A) BRSMG Caçula x BRSMG Caravera e (B) BRSMG Caçula x CMG1590. As barras de erro indicam $\pm$ erro padrão.



Fonte: Do autor (2021).

Figura 5 - Média da produtividade de grãos (ton.ha^{-1}) observada nas progênie precoces $F_{2:4}$ e $F_{2:5}$ obtidas do cruzamento (A) BRSMG Caçula x BRSMG Caravera e (B) BRSMG Caçula x CMG1590. As barras de erro indicam $\pm$ erro padrão.



Fonte: Do autor (2021).

4 DISCUSSÃO

A condução de populações que associem grande variabilidade e bom desempenho para um caráter em estudo é premissa básica em programas de melhoramento. O sucesso na seleção de plantas, visando o desenvolvimento de cultivares superiores aquelas já existentes, só é possível se houver uma grande variação na população base quanto as características desejáveis (BAJAJ, 1994). A hibridação é um dos principais mecanismos de ampliação dessa variabilidade, sendo a escolha dos genitores de suma importância ao melhorista. Além de ser valiosa na transferência de genes não identificados, a hibridização pode ser uma ferramenta importante na modificação e melhoramento de características poligênicas, como o ciclo da cultura e produtividade de grãos (WAARA; GLIMELIUS, 1995).

A fase do florescimento nas plantas é uma profunda transição entre os estágios de desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, sendo controlados por fatores genéticos endógenos e sinais ambientais (HORI; MATSUBARA; YANO, 2016). O tempo para início do estágio reprodutivo nas culturas agrícolas é um fator de grande importância para a produção de grãos. Essa, demanda maior atenção quando se pretende produzir fora das épocas tradicionais de cultivo para uma dada espécie, uma vez que está diretamente relacionada com o comprimento do ciclo das plantas. Cultivares de arroz mais precoces, além de permitirem uma estratégia vantajosa aos produtores visando enfrentar condições climáticas adversas, ainda permitem o plantio alternativo desse cereal como segunda safra, otimizando o sistema de produção agrícola (SOARES *et al.*, 2005; SOARES *et al.*, 2013).

Em arroz, a duração do ciclo da cultura está diretamente relacionada a duração da fase vegetativa (VERGARA; CHANG, 1985). Streck *et al.* (2006), avaliando a duração do ciclo de desenvolvimento em cultivares de arroz, observaram uma relação linear positiva entre o tempo total do ciclo e o da fase vegetativa, avaliada entre o período desde a emergência até a fase reprodutiva R2, fase fenológica de emborrachamento. Ou seja, a cultivar será tão mais precoce quanto menor for a duração da fase vegetativa.

O ciclo de desenvolvimento do arroz de terras altas varia de 90 a 155 dias, sendo que a maior parte da variação entre cultivares ocorre na fase vegetativa (GUIMARÃES; FAGERIA; BARBOSA FILHO, 2002; HEINEMANN *et al.*, 2008). Uma vez que não há muita variabilidade entre as cultivares comerciais de arroz de terras altas durante o período de florescimento à maturação fisiológica (estádios R2 a R9), a obtenção de cultivares precoces em programas de melhoramento é baseado na seleção de genótipos com menor número de dias corridos da semeadura ou emergência ao início da fase de emissão da panícula (R3). Além disso, o alongamento do período de enchimento de grãos é primordial para maximização do rendimento em plantas de arroz (STRECK *et al.*, 2006).

Visando obter populações promissoras para a extração de genótipos de arroz com ciclo reduzido, foi realizada a hibridação entre diferentes linhagens elites. No presente estudo, selecionou-se como um dos genitores a cultivar BRSMG Caçula, por ser um genótipo que se destaca pelo florescimento prematuro, sendo caracterizada como uma planta de ciclo super precoce, além de ser insensível ao fotoperíodo (SOARES *et al.*, 2013).

Uma vez que a produtividade de grãos ainda se caracteriza como o caráter agrônômico de maior importância na agricultura, as populações avaliadas foram obtidas pelo cruzamento da cultivar BRSMG Caçula com dois diferentes genitores selecionados quanto ao alto rendimento, BRSMG Caravera (SOARES *et al.*, 2008) e CMG1590. Sendo assim, originou-se

duas populações distintas, BRSMG Caçula x BRSMG Caravera e BRSMG Caçula x CMG1590.

As gerações F_1 , F_2 e F_3 de cada cruzamento foram avaliadas quanto ao número de dias decorridos da semeadura ao florescimento e produtividade de grãos/planta. O efeito das gerações foi significativo para ambas as populações e ambos os caracteres avaliados, evidenciando a existência de variabilidade. As plantas F_1 obtidas por cruzamentos biparentais são compostas por plantas heterozigóticas para todos os locos em que os pais diferem, sendo essas homogêneas geneticamente entre si. Sendo assim, toda a variação nessa geração ocorre devido ao efeito ambiental, explicando a menor variabilidade observada quando comparada as demais gerações (RAMALHO *et al.*, 2012). A amplitude das médias fenotípicas observadas a nível de indivíduo para ambas as populações praticamente não se alterou entre as gerações F_2 e F_3 . Nesse caso, a variabilidade observada pode ser de duas origens, variação devido ao ambiente e variação devido às diferenças genéticas.

Uma vez que a variância observada entre plantas do P_1 , P_2 e F_1 ocorre somente devido ao efeito do ambiente, a média entre essas pode nos dar uma estimativa da variância ambiental (RAMALHO *et al.*, 2012). Essa, por sua vez, não apresentou grandes diferenças entre as populações avaliadas e para ambos os caracteres em estudo.

Os componentes genéticos das populações alteram com diferentes níveis de endogamia. A máxima segregação genotípica é observada na geração F_2 , no qual a heterozigose é a maior, sendo reduzida em 50% com o avanço da geração F_3 . Esse mesmo raciocínio pode ser extrapolado para mais locos segregantes sob distribuição independente (WRICKE; WEBER, 1986; BERNARDO, 2010). Uma vez que a geração F_3 é mais homogênea, uma maior proporção de combinações genotípicas diferentes pode ser encontrada na F_2 , resultando em maior variabilidade genética (AHMAD *et al.*, 2017).

Como esperado, na maioria dos casos pôde-se observar entre as plantas da geração F_2 uma maior magnitude de variância genética quando comparado à geração F_3 , exceto para o caráter número de dias para florescimento da população oriunda do cruzamento BRSMG Caçula x CMG1590. Quanto maior o número de locos segregante, mais difícil é a representação de todos os genótipos esperados nas gerações F_2 e F_3 (PEREIRA, 2018). Logo, considerando que o número de dias para início do florescimento é uma característica complexa poligênica, controlada por muitos locos de característica quantitativa (QTLs) (HORI; MATSUBARA; YANO, 2016) o tamanho populacional avaliado pode ter interferido nas estimativas, decorrendo, nesse caso, em problemas de amostragem.

A herdabilidade é um parâmetro que mede a importância relativa da hereditariedade de um determinado caráter, definida como a razão da variância genética pela variância fenotípica dos indivíduos da população. É um conceito importante na genética quantitativa pois estima as contribuições relativas dos fatores genéticos e não genéticos para a variância fenotípica total (NYQUIST; BAKER, 1991; RASHID *et al.*, 2017). Para o caráter número de dias para florescimento, as herdabilidades estimadas para as gerações F_2 e F_3 foram de alta magnitude para ambas as populações. A população BRSMG Caçula x CMG1590 apresentou maiores herdabilidades, sendo que, na geração F_3 , essas estimativas foram mais discrepantes. Esse fato se deve a menor variação de efeito ambiental nessa população, associada a maior variabilidade genética observada na geração F_3 , como já citado anteriormente.

Para o caráter produtividade de grãos, as herdabilidades observadas foram de menor magnitude. A produtividade é resultante do somatório de todas as características das plantas como arquitetura da planta, capacidade de perfilhamento, número de panículas, número de grãos por panículas entre outras (FAGERIA, 2007). Com isso, muitos genes estão envolvidos no controle do caráter, sendo fortemente influenciado pelo ambiente. Uma vez que a variância ambiental não é tão divergente entre as populações avaliadas, pode-se associar, novamente, a maior magnitude das estimativas observadas na população BRSMG Caçula x CMG1590 devido a maior variância de efeitos genéticos.

A variabilidade genética é pré-requisito para a seleção bem-sucedida de genótipos superiores em populações segregantes. Uma forma de ampliar a variabilidade é por meio da hibridação, sendo que, a magnitude do potencial de recombinação depende da diversidade genética dos genitores envolvidos (SAVITHA; USHAKUMARI, 2015). Quanto mais contrastante os genitores para determinado caráter, maior será o número de locos segregando na descendência e, conseqüentemente, maior será a variabilidade genética presente na população. Por exemplo, considerando uma distribuição independente segregando para 10 locos diferentes, na geração F_2 o número de genótipos possíveis de encontrar será de 3^{10} , totalizando quase 59 mil. No entanto, caso esse número dobre, poderemos encontrar 3^{20} combinações genotípicas diferentes, totalizando quase 3,5 milhões. Com o dobro do número de locos segregantes, o número de genótipos diferentes aumentou em quase 60 mil vezes.

Como observado na Tabela 3, os pais envolvidos na população BRSMG Caçula x CMG1590 foram mais contrastantes para o caráter número de dias para florescimento vislumbrando às maiores estimativas de variabilidade e herdabilidade encontradas nessa população. Todavia, uma população é dita superior quando além da alta variabilidade acoplada, também apresenta média superior para o caráter desejado. Visando reduzir o ciclo das plantas

de arroz no campo, é desejável uma população que apresente ciclo vegetativo reduzido, ou seja, menor média para o número de dias corridos do plantio ao florescimento. Nesse caso, o cruzamento BRSMG Caçula x BRSMG Caravera teve melhor desempenho. Quanto a produtividade, não foi possível observar um contraste marcante entre os genitores para nenhuma das populações avaliadas, embora a população BRSMG Caçula x CMG1590 apresente, em média, uma produtividade de grãos um pouco maior quando comparada a outra população.

A utilização de métodos que predizem o potencial de uma determinada população, reduzindo ônus e tempo em populações pouco promissoras, é uma ferramenta de grande importância dentro dos programas de melhoramento (ABREU; RAMALHO; SANTOS, 2002). Visando prever o comportamento das populações estudadas, foram obtidos os componentes de média baseado nas gerações F_2 e F_3 . As estimativas de $m + a'$ proposto inicialmente por Vencovsky (1987), leva em consideração os locos já fixados em ambos os genitores, ou seja, depende do seu desempenho *per se* (ROCHA *et al.*, 2015). Novamente, BRSMG Caçula x BRSMG Caravera obtiveram o melhor desempenho visando a precocidade de florescimento em arroz. Além disso, a população também se mostrou superior na obtenção de linhagens em F_∞ com maior média para produtividade de grãos. Sendo a utilização da média parental para predição baseada nas interações aditivas entre alelos (PIMENTAL *et al.*, 2013), esse resultado indica, á princípio, uma maior ocorrência de locos com alelos favoráveis nessa população para a redução do número de dias para florescimento e aumento no rendimento de grãos.

A superioridade da população depende não só da média como da variabilidade oriunda dos cruzamentos (RAMALHO *et al.*, 2012). Objetivando ter uma perspectiva quanto a variabilidade presente nas linhagens na geração F_∞ oriunda de cada uma das populações, foi estimado a contribuição dos locos em heterozigose (d). Essa, por sua vez, será tão maior quanto mais locos contrastantes forem observados entre os genitores. A população BRSMG Caçula x CMG1590 obteve os maiores valores pra d , ou seja, maiores estimativas de variância genética em F_∞ , para ambos os caracteres. Esse fato é condizente com as maiores estimativas de variabilidade genética observadas previamente.

As estimativas de d apresentam relação direta com a heterose, ou vigor híbrido, definida quando os descendentes apresentam melhor desempenho em relação a média dos pais (RAMALHO *et al.*, 2012). A heterose é desejável na obtenção de híbridos. Nesse caso, um genitor contém alelos diferentes e favoráveis que estão em falta no outro, e, com isso, o híbrido concentrará mais alelos favoráveis que ambos os pais envolvidos (FU; DOONER 2002; BIRCHLER *et al.*, 2010). A heterose é mais pronunciada quanto mais divergente geneticamente

forem as linhagens envolvidas. Ao contrário do que se esperava a partir das estimativas de d e variabilidade genética previamente citadas, a população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera apresentou maior heterose pro caráter número de dias para florescimento. Todavia, uma vez que as estimativas de d e heterose tem relação direta com os locos em heterozigose e, ambos apresentaram valores positivos para ambas as populações, a obtenção de híbridos visando obter plantas precoces não é interessante. A heterose é máxima na geração F_1 , o qual vai se dissipando com as gerações de endogamia. Sendo assim, a obtenção de linhagens em ambas as populações é a melhor estratégia para obtenção de cultivares de arroz de ciclo curto.

Estudando a heterose com o objetivo de incrementar o rendimento de grãos, essa se mostrou favorável em ambos os casos, sendo ainda melhor na população BRSMG Caçula x CMG1590. Nesse caso, a obtenção de híbridos tem maior vantagem em relação às linhagens. A produção de híbridos em arroz visando aumento de produtividade já é uma realidade. Na China, maior produtora mundial de arroz, os híbridos representam cerca de 60% do total de arroz cultivado (JONES, 1926; VIRMANI; AQUINO; KHUSH, 1982; ZHOU *et al.*, 2012). Já no Brasil, é possível encontrar junto ao Registro Nacional de Cultivares (RNC) híbridos desenvolvidos para as condições do país, embora mais comumente encontrado para o sistema inundado. De 1998 a 2012, das 254 cultivares registradas para arroz, nove foram do tipo híbrido (WANDER; ASSUNÇÃO, 2014). Em 2007, foi lançado o primeiro híbrido de arroz de terras altas para o Mercosul, denominado ECCO. SOARES *et al.* (2010), avaliaram os componentes de produção e produtividade de grãos desse híbrido em comparação com três cultivares convencionais de arroz de terras altas registrados para as condições brasileiras. Os autores observaram no híbrido um rendimento 39,95% superior em relação a melhor cultivar convencional testada.

Outra maneira de escolher uma população com base no desempenho de suas progênes é baseado na metodologia proposta inicialmente por Jinks e Pooni (1976) em estudo realizado com milho. Ainda assim, na literatura é possível encontrar o uso desse procedimento para diversas espécies autógamas como feijão (ROCHA, *et al.*, 2015; PAULA *et al.*, 2019), trigo (PIMENTEL *et al.*, 2013), soja (RIBEIRO; TOLEDO; RAMALHO, 2009) e arroz (SANTOS *et al.*, 2001, SANTOS *et al.*, 2002). Baseado nas propriedades de uma distribuição normal padronizada é possível prever a probabilidade de produzir linhagens em F_∞ que se mostram superiores aos pais ou a determinado padrão.

Visando selecionar a população superior na obtenção de linhagens precoces, o desempenho médio da cultivar BRSMG Caçula quanto ao número de dias para florescimento, foi utilizado como padrão nas estimativas de Jinks e Pooni (1976). No caso, 80 dias para início

do florescimento a partir da data de semeadura. A população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera apresentou probabilidades baseadas nas gerações F_2 e F_3 , respectivamente, 2,6 e 1,8 vezes maiores de encontrar linhagens que superem o genitor BRSMG Caçula quando comparada com a população BRSMG Caçula x CMG1590. Essas estimativas foram concordantes com aquela baseado em $m+a'$. Embora ambas as metodologias utilizem a média na obtenção das estimativas, Jinks e Pooni (1976) considera também a variância observada nas gerações em análise.

Uma das limitações da metodologia de Jinks e Pooni (1976) é a aplicação em função da ação de genes de efeito predominantemente aditivos. Uma vez que foi observada a presença marcante de efeitos gênicos não aditivos para o caráter produtividade, a metodologia não foi aplicada. Todavia, Santos, Soares e Ramalho (2001) estudando 23 populações segregantes de arroz de terras altas, aplicaram a metodologia de Jinks e Pooni (1976) para o caráter produtividade de grãos. Os autores observaram uma correlação negativa entre as estimativas da ordenada Z e a média de produção de grãos/planta de cada população, concluindo que a própria média populacional é um bom indicativo na seleção de materiais superiores. Além disso, os mesmos autores em trabalho publicado posteriormente (SANTOS, SOARES E RAMALHO, 2002), avaliaram a produtividade de grãos de progênies oriundas das duas melhores e das duas piores populações obtidas pelo método de Jinks e Pooni (1976), em dois ambientes e durante dois anos. As populações com alta performance originaram 70% das progênies superiores, e, embora a interação com os locais e anos possam ter influência nos 30% restante, os autores confirmaram a hipótese de que as melhores progênies são oriundas das melhores populações e que a metodologia de Jinks e Pooni (1976) foi uma alternativa eficiente na seleção precoce dessas populações.

Progênies $F_{2:4}$ e $F_{2:5}$, de cada população, selecionadas fenotipicamente na geração F_2 para precocidade, foram avaliadas em experimento de campo quanto ao número de dias para florescimento e produtividade de grãos. Os genótipos foram testados durante duas gerações e em dois locais diferentes, sendo o efeito de ambiente uma combinação entre local e geração. Desse modo, além das diferentes características edafoclimáticas associadas ao local, ainda ocorre a interferência das diferentes condições climatológicas de cada ano agrícola. Sendo assim, a significância da fonte de variação ambiente, na análise conjunta, já era esperada. O tempo para início do florescimento em plantas é mediado pelo fotoperíodo e temperatura, além dos fatores intrínsecos a cada genótipo (BUCKLER *et al.*, 2009). Todavia, devido ao processo de seleção e adaptação das cultivares de arroz, essas estão se tornando gradualmente insensíveis

ao fotoperíodo. Dessa forma, o maior ciclo observado nos genótipos na safra 2019/2020 pode ser associado, entre outros fatores, às diferenças nas temperaturas dos diferentes anos.

Embora um mesmo genitor tenha sido utilizado no cruzamento para obtenção das duas populações, foi observada existência de variação tanto entre a média das populações como nos genótipos dentro de cada população, para ambos os caracteres avaliados. Esse resultado indica a possibilidade de seleção de uma população promissora em detrimento da outra, bem como de genótipos superiores. As populações não tiveram comportamento coincidente nos diferentes ambientes avaliados para o caráter produtividade de grãos, onde observou-se um efeito significativo da interação populações x ambientes.

Para ambos os caracteres também houve presença de interação entre os genótipos/população x ambientes. Desmembrando essa interação, pode-se observar um comportamento inverso entre os genótipos/população para os dois caracteres. Enquanto os genótipos oriundos da população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera manteve seu comportamento coincidente frente aos diferentes ambientes avaliados quanto ao número de dias para florescimento, os genótipos da população BRSMG Caçula x CMG1590 tiveram mesmo comportamento para o caráter produtividade de grãos. O efeito da interação genótipos x ambientes vem sendo largamente discutido entre os melhoristas de plantas ao longo dos anos (HILL, 1975; VIA; LANDE, 1985; HOLLS, 1995; KANG, 2002; CROSSA, 2012; VAN EEUWIJK, BUSTOS-KORTS; MALOSETTI, 2016; YANG, 2020). A presença de interação implica que o comportamento dos genótipos depende, de certa forma, do ambiente específico que foram avaliados (HILL, 1975). Sendo assim, a avaliação dos genótipos em um maior número de ambientes e safras diferentes é uma estratégia do melhorista para seleção e recomendação de cultivares com maior precisão. Todavia, como o objetivo principal do trabalho é a seleção de população, o efeito da interação nos genótipos/população se torna menos relevante.

A população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera gerou progênes com menor média quanto ao número de dias para florescimento, em concordância com o previsto pelos métodos de $m + a'$ e Jinks e Pooni (1976). Quanto a produtividade de grãos, ambas as populações apresentaram médias muito próximas, indicando, a princípio, um comportamento similar entre elas. Quanto ao método de estimação da variabilidade baseado nas estimativas de d , essa também foi concordante com o encontrado nas progênes $F_{2:4}$ e $F_{2:5}$.

A variância genética é essencial quando se exerce a seleção em uma característica, visto que a resposta à seleção será proporcional à variância genética aditiva presente na população (BÜRGER, 1999). O cruzamento BRSMG Caçula x CMG1590 obteve os maiores valores de

variância genética entre genótipos. Embora seja tendencioso afirmar que essa também apresentou maiores estimativas pontuais de herdabilidade para ambos os caracteres avaliados, pode-se observar uma sobreposição dos intervalos de confiança, permitindo inferir que as herdabilidades possam ser iguais. Porém, uma menor amplitude no intervalo de confianças para a população BRSMG Caçula x CMG1590 pode indicar uma melhor precisão na obtenção dessas estimativas.

A autofecundação sucessiva leva a homozigose e obtenção de linhagens. Todavia, a variabilidade genética presente nessas avançadas gerações de homozigose, ocorre devido a presença de diferentes genótipos homozigotos. Sendo assim, a função do melhorista é justamente a capacidade de selecionar indivíduos superiores dentro de uma população de plantas geneticamente diferentes. Por sua vez, essas linhagens obtidas a partir de cruzamentos biparentais serão consideradas superiores quando o desempenho dessas transcender o desempenho do melhor genitor.

O genitor BRSMG Caçula foi selecionado devido a seu ciclo reduzido de desenvolvimento, variando de um total de 100 a 110 dias (SOARES *et al.*, 2013), com número de dias da sementeira ao florescimento pleno de cerca de 80 dias. Embora tenha contribuído com metade dos alelos na população BRSMG Caçula x CMG1590, não foi possível observar nenhuma progênie que superasse seu desempenho quanto ao número de dias para florescimento. Quando se observa a população BRSMG Caçula x Caravera, os resultados se mostram promissores. Seis progênies se destacaram quanto o número de dias da sementeira ao florescimento variando de 78,5 a 80 dias, média inferior quando comparada a BRSMG Caçula de quase 81 dias. Embora essa diferença não seja tão marcante, é importante considerar outros caracteres. Dentre as seis progênies selecionadas, três se destacam ainda quanto a superioridade na produtividade de grãos em relação ao genitor super precoce BRSMG Caçula, e ainda, quanto ao genitor BRSMG Caravera (SOARES *et al.*, 2008), cultivar selecionada quanto ao desempenho produtivo. As progênies 510, 218 e 513 apresentaram, respectivamente, superioridade quanto a produtividade de grãos de 9,6%, 4,9% e 3,5% em comparação com a cultivar BRSMG Caçula e 8,7%, 4,0% e 2,6% em relação ao genitor produtivo, BRSMG Caravera. Embora dentre as progênies selecionadas quanto a precocidade algumas tenham apresentado produtividade de grãos inferior aos genitores, essas apresentaram valores variando de 2,7 a 3,1 ton.ha⁻¹, valor superior em relação à média nacional de produtividade de grãos em arroz de terras altas de 2,4 ton.ha⁻¹, observado na última safra 2020/2021 (CONAB, 2021).

Dentre os três genitores utilizados nos cruzamentos, CMG1590 se destacou como o mais produtivo, com média de 4,0 ton.ha⁻¹. Essa linhagem elite, oriunda do Ensaio de VCU,

está atualmente em processo de registro para posterior lançamento de uma nova cultivar de arroz de terras altas de alto rendimento para o Estado de Minas Gerais.

Embora na população BRSMG Caçula x CMG1590 não seja possível selecionar progênies que associem tanto precocidade quanto produtividade, algumas progênies se destacaram quanto ao rendimento de grãos. Três progênies, 254, 247 e 545, apresentaram maiores produtividades em relação ao CMG1590, sendo respectivamente, 12,2%, 4,4% e 1,27% superior. Na população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera também é possível observar uma progênie, 219, que supera em 3,7% a produtividade de grãos do melhor genitor, CMG1590.

A redução do ciclo das plantas de arroz ocorre baseada na redução da fase vegetativa. Esse fator pode refletir na redução da área foliar e, conseqüentemente, menor acumulação de reservas que serão translocados durante a fase de enchimento de grãos, podendo afetar a produtividade (STRECK, *et al.*, 2006). Todavia, os programas de melhoramento têm utilizado de tecnologias e ciclos constantes de seleção, que permitiram ao longo dos anos associar ganho de rendimento mesmo com a redução na fase de emergência-floração (LOPES *et al.*, 2005; STRECK, *et al.*, 2006). A população BRSMG Caçula x Caravera, se mostrou favorável na obtenção de progênies de ciclo precoce com boa produtividade de grãos, podendo essas serem utilizadas na obtenção de linhagens pra futuro lançamento de cultivares ou, ainda, utilizadas como genitores na obtenção de populações segregantes precoces e produtivas. Além disso, os métodos utilizados se mostraram eficientes na predição precoce do potencial genético das populações avaliadas.

5 CONCLUSÃO

Houve concordância entre as metodologias apresentadas, $m+a'$ e de Jinks e Pooni (1976) para a seleção de populações mais precoces, com destaque para a superioridade do cruzamento BRSMG Caçula x BRSMG Caravera.

O cruzamento BRSMG Caçula x CMG1590 embora origine plantas mais tardias, apresentou maiores estimativas de variabilidade genética utilizando diferentes parâmetros. Além disso, obteve maiores estimativas de heterose visando a produtividade de grãos.

As progênies avaliadas em gerações avançadas de endogamia foram condizentes com a predição do potencial das populações segregantes, no qual a população BRSMG Caçula x BRSMG Caravera originou progênies com menor número de dias da semeadura ao florescimento. Além disso, foi possível observar potenciais linhagens que associem precocidade no ciclo de desenvolvimento com alto rendimento de grãos.

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

REFERÊNCIAS

- ABREU, A. F. B.; RAMALHO, M. A. P.; SANTOS, J. B. D. Prediction of seed-yield potential of common bean populations. **Genetics and Molecular Biology**, 2002, 25.3: 323-327.
- AHMAD, M. *et al.* Response to selection and decline in variability, heritability and genetic advance from F2 to F3 generation of tomato (*Solanum lycopersicum*). **Int. J. Plant. Res.**, 2017, 7.1: 1-4.
- ALLARD, R.W. **Principles of plant breeding**. New York, John Wiley, 1960. 473p
- ALLARD, R. W.; HANSCH, P. E. Some parameters of population variability and their implications in plant breeding. In: **Advances in Agronomy**. Academic Press, 1964. p. 281-325.
- ARF, O. *et al.* Crop rotation, green manure and nitrogen fertilizers in upland rice under no-tillage. **Pesquisa Agropecuária Tropical**, 2018, 48.2: 153-162.
- BAENZIGER, P. S.; PETERSON, C. J. **Genetic variation: Its origin and use for breeding self-pollinated species**. 1992.
- BAJAJ, Y. P. S. Somatic hybridization—a rich source of genetic variability. In: **Somatic Hybridization in crop improvement I**. Springer, Berlin, Heidelberg, 1994. p. 3-32.
- BERNARDO, R. **Breeding for quantitative traits in plants**. 2 Ed. Woodbury: Stemma Press. 2010. 400p.
- BIRCHLER, J. A. *et al.* Heterosis. **The Plant Cell**, 2010, 22.7: 2105-2112.
- BUCKLER, E. S. *et al.* The genetic architecture of maize flowering time. **Science**, 2009, 325.5941: 714-718.
- BÜRGER, R. Evolution of genetic variability and the advantage of sex and recombination in changing environments. **Genetics**, 1999, 153.2: 1055-1069.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: Décimo segundo levantamento, setembro 2020 – safra 2019/2020**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 16 de março 2021.
- CONAB. COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento de safra brasileiro – grãos: sétimo levantamento, abril 2021 – safra 2020/2021**. Brasília: Companhia Nacional de Abastecimento. 2021. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 04 de maio de 2021.
- CROSSA, J. (2012). From genotype x environment interaction to gene x environment interaction. **Current Genomics**, 13(3), 225-244.

CRUZ, C. D., 1958- **Programa GENES: biometria**/ Cosme Damião Cruz. – Viçosa: Ed. UFV, 2006. 382 p.

FAGERIA, N. K. Dry matter yield and shoot nutrient concentrations of upland rice, common bean, corn, and soybean grown in rotation on an Oxisol. **Communications in soil science and plant analysis**, 2004, 35.7-8: 961-974.

FAGERIA, N. K. Yield physiology of rice. **Journal of plant nutrition**, 2007, 30.6: 843-879.
FALCONER, D. S.; MACKAY, T. F. C. **Introduction to quantitative genetics**. Essex. UK: Longman Group, 1996.

FAO – FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS STATISTICS. **Statistics Database**. Disponível em: <<http://www.faostat.fao.org/faostat>> Acesso em: 15 de março 2021.

FU, H.; DOONER, H. K. Intraspecific violation of genetic colinearity and its implications in maize. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2002, 99.14: 9573-9578.
GUIMARÃES, C. M.; FAGERIA, N. K.; BARBOSA FILHO, M. P. Como a planta de arroz se desenvolve. **Informações Agrônomicas**, Piracicaba, 2002, 13.99: 12.

HEINEMANN, A. B. *et al.* **Caracteres morfológicos do crescimento e desenvolvimento de quatro cultivares de arroz de terras altas**. Embrapa Arroz e Feijão, 2008.
HILL, J. Genotype-environment interaction—a challenge for plant breeding. **The Journal of Agricultural Science**, 1975, 85.3: 477-493.

HOHLS, T. (1995). Analysis of genotype-environment interactions. **South African Journal of Science**, 1995, 91.3: 121-124.

HORI, K.; MATSUBARA, K.; YANO, M. Genetic control of flowering time in rice: integration of Mendelian genetics and genomics. **Theoretical and applied genetics**, 2016, 129.12: 2241-2252.

JINKS, J. L.; POONI, H. S. Predicting the properties of recombinant inbred lines derived by single seed descent. **Heredity**, 1976, 36.2: 253-266.

JONES, J.W. Hybrid Vigor in Rice 1. **Agronomy Journal**, 1926, 18.5: 423-428.

KANG, M. S. 15 Genotype–Environment Interaction: Progress and Prospects. **Quantitative genetics, genomics, and plant breeding**, 2002, 219.

KNAPP, S. J.; STROUP, W. W.; ROSS, W. M. Exact confidence intervals for heritability on a progeny mean basis 1. **Crop Science**, 1985, 25.1: 192-194.

KONDO, M.; MURTY, M. V. R.; ARAGONES, D. V. Characteristics of root growth and water uptake from soil in upland rice and maize under water stress. **Soil Science and Plant Nutrition**, 2000, 46.3: 721-732.

LOPES, S.I.G. *et al.* Avaliação do ganho genético do programa de melhoramento do IRGA no período de 1961 a 2004. In: **Congresso Brasileiro de Arroz Irrigado** 2005. p. 67-69.

MARTINS, F. B. *et al.* Classificação climática de Köppen e de Thornthwaite para Minas Gerais: cenário atual e projeções futuras. **Revista Brasileira de Climatologia**, 2018, 1.

NASCENTE, A.; STONE, L. F. Cover crops as affecting soil chemical and physical properties and development of upland rice and soybean cultivated in rotation. **Rice Science**, 2018, 25.6: 340-349.

NYQUIST, W. E.; BAKER, R. J. Estimation of heritability and prediction of selection response in plant populations. **Critical reviews in plant sciences**, 1991, 10.3: 235-322.
O'TOOLE, J. C.; MOYA, T. B. Water deficits and yield in upland rice. **Field Crops Research**, 1981, 4: 247-259.

OLIVEIRA, L. D. *et al.* Alternative procedures for parent choice in a breeding program for the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Brazilian Journal of Genetics**, 1996, 19.4: 611-615.

PAULA, R. G. de *et al.* Selecting common bean breeding populations via mixed models. **Bioscience Journal**, 2019, 35.2.

PEREIRA, L. A. **Estratégias de condução de populações segregantes utilizando o método BULK/F₂ ou S₀**. 2018. 118 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2018.

PIMENTEL, A. J. B. *et al.* Comparação de métodos de seleção de genitores e populações segregantes aplicados ao melhoramento de trigo. **Bragantia**, 2013, 72.2: 113-121.

PRASAD, R.; SHIVAY, Y. S.; KUMAR, D. Current status, challenges, and opportunities in rice production. In: **Rice production worldwide**. Springer, Cham, 2017. p. 1-32.

R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2019. URL <https://www.R-project.org/>.

RAMALHO, M.A.P. *et al.* **Aplicações da Genética Quantitativa no Melhoramento de Plantas Autógamas**. Ed. UFLA, 2012. 522 p.

RASHID, M. *et al.* Genetic variability analysis for various yield attributing traits in rice genotypes. **Journal of the Bangladesh Agricultural University**, 2017, 15.1: 15-19.

RESENDE, M. D. V.; DUARTE, J. B. Precisão e controle de qualidade em experimentos de avaliação de cultivares. **Embrapa Florestas-Artigo em periódico indexado (ALICE)**, 2007.

RIBEIRO, A. S.; TOLEDO, J. F. F.; RAMALHO, M. A. P. Selection strategies of segregant soybean populations for resistance to Asian rust. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2009, 44.11: 1452-1459.

ROCHA, G. S. D. *et al.* Estratégias de predição e efeitos de ambientes na avaliação de populações segregantes de feijão. **Revista Ceres**, 2015, 62.5: 438-445.

SANTOS, P. G.; SOARES, A. A.; RAMALHO, M. A. P. Performance of upland rice families selected from segregant populations. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 2002, 2.2.

SANTOS, P. G.; SOARES, A. A.; RAMALHO, M. A. P. Predição do potencial genético de populações segregantes de arroz de terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2001, 36.4: 659-670.

SAVITHA, P.; USHAKUMARI, S. Genetic variability studies in F₃ and F₄ segregating generations for yield and its components in rice (*Oryza sativa* L.). **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, 2015, 10-14.

SIQUEIRA, W. J.; FONSECA, M. I. S.; SONDHAL, M. R. Regeneração de plantas híbridas entre *Lycopersicon esculentum* e *L. peruvianum* a partir de calos com dois anos de cultura in vitro. **Bragantia**, 1988, 47.1: 1-8.

SOARES, A. A. *et al.* BRSMG Caçula: very early upland rice cultivar for Minas Gerais. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 2013, 13.3: 208-211.

SOARES, A. A. *et al.* BRSMG Caravera: cultivar de arroz para terras altas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, 2008, 43.7: 937-940.

SOARES, A. A. *et al.* BRSMG Conai: cultivar de arroz superprecoce para terras altas. **Revista Ceres**, 2005, 52.303: 721-727.

SOARES, E. R. *et al.* Componentes de produção e produtividade de arroz híbrido de sequeiro comparado a três cultivares convencionais. **Acta Agronômica**, 2010, 59.4: 435-441.

STONE, L. F.; SILVEIRA, P. D. Efeitos do sistema de preparo e da rotação de culturas na porosidade e densidade do solo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, 2001, 25.2: 395-401.

STRECK, N. A. *et al.* Duração do ciclo de desenvolvimento de cultivares de arroz em função da emissão de folhas no colmo principal. **Ciência Rural**, 2006, 36.4: 1086-1093.

VAN EEUWIJK, F. A.; BUSTOS-KORTS, D. V.; MALOSETTI, M. What should students in plant breeding know about the statistical aspects of genotype x environment interactions?. **Crop Science**, 2016, 56.5: 2119-2140.

VENCOVSKY, R. Herança quantitativa. In: **Paterniani E., Viegas G.P.** (Ed), Melhoramento e produção de milho, Campinas, 1987, p. 137-209.

VERGARA, B. S.; CHANG, T. T. **The flowering response of the rice plant to photoperiod: a review of the literature.** 1985.

VIA, S.; LANDE, R. Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. **Evolution**, 1985, 39.3: 505-522.

VIRMANI, S.; AQUINO, R. C.; KHUSH, G. S. Heterosis breeding in rice (*Oryza sativa* L.). **Theoretical and Applied Genetics**, 1982, 63.4: 373-380.

WAARA, S.; GLIMELIUS, K. The potential of somatic hybridization in crop breeding. **Euphytica**, 1995, 85.1: 217-233.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L. A. de. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, 2008, 38.4: 1184-1192.

WANDER, A. E.; ASSUNÇÃO, P. E. V. Estrutura de mercado do setor de sementes de arroz no Brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, 2014, 31.1: 145-162.

WRICKE, G.; WEBER, W. E. **Quantitative genetics and selection in plant breeding**. New York: Walter de Gruyter, 1986. 406p.

YANG, R. C. Testing for nonlinear genotype× environment interactions. **Crop Science**, 2020, 60.6: 3127-3140.

ZHOU, G et al. Genetic composition of yield heterosis in an elite rice hybrid. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 2012, 109.39: 15847-15852.

APÊNDICE A

Tabela 1 - Resumo das análises de variância individuais e acurácias obtidas para os caracteres dias para florescimento e produtividade de grãos (ton.ha^{-1}) na avaliação de progênies $F_{2:4}$ e $F_{2:5}$ oriunda das populações BRSMG Caçula x BRSMG Caravera e BRSMG Caçula x CMG1590.

Número de dias para florescimento						
FV	GL ₁	QM ₁	GL ₂	QM ₂	GL ₃	QM ₃
Repetição	1	205,93**	1	108,48*	1	348,60
População	2	49,65**	2	24,60**	2	47,40**
Genótipo/Pop	54	13,60**	54	13,05**	54	20,31
G/pop1	27	14,47**	27	10,84*	27	20,35
G/pop2	27	12,57**	27	15,31**	27	20,19
Erro	110	2,33	110	5,77	110	15,79
Média	79,10		80,18		88,56	
Acurácia	0,91		0,75		0	
Produtividade de grãos						
FV	GL ₁	QM ₁	GL ₂	QM ₂	GL ₃	QM ₃
Repetição	2	34,43	2	27,14*	2	11,25
População	1	1,80**	1	1,72**	1	0,05**
Genótipo/Pop	54	1,72	54	1,27**	54	1,84*
G/pop1	27	3,06**	27	1,07**	27	1,92*
G/pop2	27	1,80	27	1,52**	27	2,12**
Erro	78	1,49	105	0,36	101	1,29
Média	4,51		5,21		3,16	
Acurácia	0		0,84		0,66	

**, *: significativo, respectivamente, a 1% e 5% de probabilidade pelo teste F. QM₁ e QM₂: progênies $F_{2:4}$ avaliadas, respectivamente, em Lavras/MG e Lambari/MG (2018/2019); QM₃: progênies $F_{2:5}$ avaliadas em Lavras/MG (2019/2020).

Fonte: Do autor (2021).