

## MELHORAMENTO GENÉTICO DE ARROZ IRRIGADO NA EMBRAPA CLIMA TEMPERADO: 4. Cultura de Anteras – 1996/97 e 97/98

Magalhães Jr. A.M. de; Torres, A.L.; Fagundes, P.R.R.; Franco, D.F.; Peters, J.A.; Tavares, L.P. da S.; Gonçalves, A.N.; Silva, M.P.; Lannes, S.D. Embrapa Clima Temperado. Cx. Postal 403, Cep.: 96001-970, Pelotas, RS, Brasil

A importância econômica, social e alimentar do arroz irrigado, na região sul do Brasil, estimula a busca de novas cultivares mais produtivas e com características agronômicas que atendam as exigências do mercado consumidor. Técnicas modernas de apoio aos programas de melhoramento, como a cultura de tecidos vegetais, estão sendo cada vez mais utilizadas nas diversas instituições de pesquisas. Dentro destas, encontra-se a cultura de anteras, a qual é, atualmente, a técnica mais simples para obtenção de haplóides em arroz. As anteras possuem grãos de pólen, os quais contém somente a metade do patrimônio genético da espécie (n cromossomos). Tal conjunto cromossômico pode duplicar-se espontaneamente durante o cultivo "in vitro", ou através do uso de produtos químicos, dando origem a plantas totalmente homozigotas (duplo-haplóides), sem passar pelo processo de endogamia normal. O uso de duplo-haplóides em um programa de melhoramento genético facilita a análise genética e elimina as complexidades do estado heterozigoto, permitindo assim, uma diminuição em cerca de 5 a 6 anos, no tempo necessário para o desenvolvimento de linhas puras. O Programa de Melhoramento Genético de Arroz Irrigado da Embrapa Clima Temperado tem procurado utilizar esta metodologia como técnica rotineira, visando processar em larga escala um grande número de híbridos, oriundos de cruzamentos controlados, buscando assim, obter um maior número de plantas diplóides homozigotas. Contudo, a implementação desta técnica como ferramenta de trabalho tem sido lenta, principalmente porque a resposta é altamente dependente da fisiologia dos genótipos utilizados, bem como porque a eficiência, a nível mundial, entre o número de anteras inoculadas e o número de plantas verdes aclimatizadas, é muito baixa (entre 1 e 4%). O arroz do tipo japonica tem uma maior resposta que o tipo indica. Neste sentido, a primeira estratégia a ser adotada é de utilizar nos cruzamentos orientados, genótipos que melhor respondam a cultura "in vitro" de tecidos, bem como limitar o número de linhas processadas por ano, e assim, aumentar-se o número de anteras por linha, a fim de que se tenha um número suficiente de duplo-haplóides representativos dos cruzamentos.

Em 1996/97 foram coletados 15 híbridos em geração F1, para serem processados via cultura "in vitro" de anteras imaturas: TF 582; TF 857; TF 588; TF 590; TF 592; TF 593; TF 594; TF 602; TF 604; TF 605; TF 606; TF 607; TF 609; CL 515; CL 516. A metodologia utilizada para a coleta, desinfestação e cultivo dos tecidos foi conforme Magalhães Jr. A.M. et al. (1995). Testou-se dois meios de cultura, que se diferenciaram entre si pelos reguladores de crescimento utilizados: NL 1 - contendo sais NL + 2 mg/l de 2,4-D + 0,07 mg/l de picloram + 0,5 mg/l de cinetina; e NL 2 - contendo sais NL + 2 mg/l de ANA + 0,5 mg/l de cinetina. Os resultados de indução de calos são apresentados na Tabela 1. Observou-se respostas similares de eficiência do meio NL 1 (13,9%) quando em comparação com o meio NL 2 (12,9%). Verificou-se ainda, que os híbridos que melhor responderam ao cultivo "in vitro" apresentavam alguma carga genética de arroz do tipo japonica (TEXMONT / TF 496; MAYBELLE / TF 575; MAYBELLE / TF 529; MAYBELLE / TF 496; MAYBELLE / TP530; KATY / TF 534; KATY / TF 529).

Tabela 1 - Resposta dos híbridos F1 de arroz irrigado à androgênese em relação aos distintos meios de cultivos - 1996/97. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

| GENÓ-TIPOS | CRUZAMENTO                   | MÉIO DE INDUÇÃO DE CALOS   |                      |                |                     |                      |                |
|------------|------------------------------|----------------------------|----------------------|----------------|---------------------|----------------------|----------------|
|            |                              | N1 (NL + 2,4-D + PC + KIN) |                      |                | N2 (NL + ANA + KIN) |                      |                |
|            |                              | Nº anteras inocul.         | Nº de calos formados | Eficiência (%) | Nº anteras inocul.  | Nº de calos formados | Eficiência (%) |
| TF 582     | TEXMONT / TF 496             | 1000                       | 252                  | 25,2           | 1000                | 350                  | 35,0           |
| TF 587     | MAYBELLE / TF 575            | 1750                       | 865                  | 49,4           | 1750                | 788                  | 45,0           |
| TF 588     | MAYBELLE / TF 529            | 1000                       | 435                  | 43,0           | 500                 | 112                  | 22,4           |
| TF 590     | MAYBELLE / TF 496            | 1750                       | 939                  | 53,7           | 1500                | 600                  | 40,0           |
| TF 592     | MAYBELLB / TF 530            | 1000                       | 189                  | 18,9           | 500                 | 12                   | 2,4            |
| TF 593     | KATTY / TF 534               | 750                        | 51                   | 6,8            | 750                 | 8                    | 1,1            |
| TF 594     | KATTY / TF 529               | 750                        | 0                    | 0,0            | 1250                | 595                  | 47,6           |
| TF 602     | CL SEL. 447-B-B / TF 534     | 750                        | 0                    | 0,0            | 750                 | 0                    | 0,0            |
| TF 604     | TF 534 / TF 231-13-IM-8B-6-2 | 1000                       | 0                    | 0,0            | 1000                | 0                    | 0,0            |
| TF 605     | TF 575 / CL SEL. 447-B-B     | 500                        | 0                    | 0,0            | 500                 | 0                    | 0,0            |
| TF 606     | TF 575 / BRS CHU             | 750                        | 0                    | 0,0            | 750                 | 0                    | 0,0            |
| TF 607     | CL SEL. 447-B-B / TF 575     | 500                        | 0                    | 0,0            | 500                 | 0                    | 0,0            |
| TF 609     | TF 388-4-1-1 / BRS TAIM      | 750                        | 49                   | 6,5            | 750                 | 0                    | 0,0            |
| CL 515     | CL 212-7-1-1 / BRS TAIM      | 500                        | 0                    | 0,0            | 500                 | 0                    | 0,0            |
| CL 516     | CL SEL. 727 / BRS TAIM       | 750                        | 38                   | 5,1            | 500                 | 0                    | 0,0            |
| Média      |                              |                            |                      | 13,9           |                     |                      | 12,9           |

Em 1997/98, foram coletados 15 híbridos em geração F1 (Tabela 2) para serem processados via cultura "in vitro" de anteras imaturas: CL 521; CL 522; CL 523; CL 524; CL 525; TF 630; TF 637; TF 639; TF 640; TF 641; TF 642; TF 643; TF 634; TF 635; TF 636. A exemplo do ano agrícola anterior, testou-se dois meios de cultura, que se diferenciaram entre si pelos reguladores de crescimento utilizados: NL 1 - contendo sais NL + 2 mg/l de 2,4-D (sem adição de 0,07 mg/l de picloram) + 0,5 mg/l de cinetina; e NL 2 - contendo sais NL + 2 mg/l de ANA + 0,5 mg/l de cinetina. Os resultados de indução de calos, que merecem destaque, foram obtidos com os seguintes genótipos: BRS BOJURU/ IR 65600-1-2-3; KATTY/TF535; TF 231-13-IM-8B-6-2/TF535; TEXMONT/TF 535 e BRS BOJURU/ IR 65600-7-2-5-2. Verificou-se ainda, que os híbridos que melhor responderam ao cultivo "in vitro" também apresentavam alguma carga genética de arroz do tipo japonica. Estes resultados confirmam aqueles encontrados em anos anteriores, bem como os da literatura. O material regenerado foi aclimatado, em casa de vegetação para produção de sementes e posterior avaliação de campo. Conduz-se, atualmente, cerca de 100 linhas homozigotas a campo de forma a observar o comportamento agronômico das mesmas, tais como rendimento de grãos, altura de plantas, perfilhamento, pilosidade de folha e de grão, tipo de grão, reação a fatores bióticos e abióticos, bem como estabilidade genotípica. Os trabalhos têm demonstrado, ao longo destes anos, que a grande maioria das plantas regeneradas do cultivo de anteras F1, são originárias de divisões celulares dos micrósporos (grãos de pólen imaturos), sendo 100% homozigotas, com características morfológicas completamente uniformes dentro das linhas. Nenhuma segregação foi observada após o estabelecimento da homozigose dos genótipos.

Tabela 2 - Resposta dos híbridos F1 de arroz irrigado à androgênese em relação aos distintos meios de cultivo - 1997/98. Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS

| GENÓ-TIPOS | CRUZAMENTO                       | MEIO DE INDUÇÃO DE CALOS |                      |                     |                      |                    |                |
|------------|----------------------------------|--------------------------|----------------------|---------------------|----------------------|--------------------|----------------|
|            |                                  | N1 (NL + 2,4-D + KIN)    |                      | N2 (NL + ANA + KIN) |                      | Nº anteras inocul. | Eficiência (%) |
|            |                                  | Nº anteras inocul.       | Nº de calos formados | Nº anteras inocul.  | Nº de calos formados |                    |                |
| CL 523     | BR IRGA 410 / IR 65600-1-2-3     | 1800                     | 0                    | 0.0                 | 1200                 | 24                 | 1.3            |
| CL 524     | BRS AGRISUL / IR 65598-112-2     | 1200                     | 0                    | 0.0                 | 1500                 | 0                  | 0.0            |
| CL 525     | BRS AGRISUL / IR 59682-132-1-1-2 | 600                      | 0                    | 0.0                 | 1500                 | 0                  | 0.0            |
| TF 639     | BRS BOJURU / IR 65600-1-2-3      | 300                      | 61                   | 20.3                | 1200                 | 331                | 27.6           |
| TF 640     | BRS BOJURU / IR 65598-112-2      | 1500                     | 138                  | 9.2                 | 1200                 | 94                 | 7.8            |
| TF 634     | TEXMONT / TF 535                 | 600                      | 89                   | 14.8                | 600                  | 133                | 22.2           |
| TF 635     | TEXMONT / TF 575                 | 900                      | 24                   | 2.7                 | 1200                 | 0                  | 0.0            |
| TF 636     | KATY / TF 535                    | 1200                     | 256                  | 22.1                | 900                  | 230                | 25.6           |
| CL 521     | CL 120-1-5-1 / TEXMONT           | 1500                     | 52                   | 3.5                 | 900                  | 64                 | 7.1            |
| TF 641     | BRS BOJURU / IR 65600-7-2-5-2    | 1200                     | 352                  | 29.3                | 1500                 | 458                | 30.5           |
| TF 642     | TP 241-1-9-1 / IR 59682-132-1-2  | 2700                     | 0                    | 0.0                 | 2100                 | 0                  | 0.0            |
| TF 643     | TP 241-1-9-1 / IR 59682-132-1-2  | 2700                     | 0                    | 0.0                 | 2400                 | 0                  | 0.0            |
| TF 627     | TF 539 / CNA 0553                | 300                      | 0                    | 0.0                 | 600                  | 0                  | 0.0            |
| TF 637     | TF 531-13-LM-SB-6-2 / TF 535     | 2100                     | 742                  | 35.3                | 900                  | 388                | 43.1           |
| TF 630     | TF 534 / CNA 0553                | 2100                     | 0                    | 0.0                 | 900                  | 0                  | 0.0            |
| media      |                                  |                          |                      | 9.14                |                      |                    | 11.01          |

LENTINI, Z.; MARTINEZ, C.P.; SANINT, L.R.; RAMIRES, A.; REYES, P. 1993. Anther culture of recalcitrant rice genotypes and cost/benefit implications in varietal development. Sixth Ann. Meeting of the Rockefeller Foundation Int. Program of Rice Biotech. Feb. 1-5. 1993. Chiang Mai, Thailand. p.92.

MAGALHÃES Jr., A.M. de ; TERRES, A.L.; FAGUNDES, P.R.R.; AVOZANI, O.A.; ABIB, F.R.; ANDRADE, L.B. Melhoramento genético de arroz irrigado na Embrapa/CPACT: V Cultura "in vitro" de anteras imaturas. In: REUNIÃO DA CULTURA DO ARROZ IRRIGADO, 21. Porto Alegre, 1995. Anais... Porto Alegre, IRGA.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.*, 15:473-97, 1962.