

REGENERAÇÃO *IN VITRO* DE ARROZ IRRIGADO VIA ORGANOGÊNESE DIRETA A PARTIR DA REGIÃO MERISTEMÁTICA DE ÁPICES CAULINARES

Tavares, L.F. da S.¹; Magalhães Jr., A.M. de²; Peters, J.A.¹ ¹UFPEL-FAEM, Campus universitário, Cx. Postal 354, Cep.: 96001-970, Pelotas-RS. ²EMBRAPA-Clima Temperado, Cx. Postal 406, Cep.: 96001-970, Pelotas-RS.

A biotecnologia, através da cultura de células e tecidos, é uma ferramenta com potencial de utilização em programas de melhoramento genético. Entre algumas de suas aplicações fundamentais, encontra-se o uso de plantas geneticamente modificadas. A regeneração de plantas é um requisito básico para a produção de transgênicos, visto que após a introdução de um determinado gene, é indispensável que a célula ou tecido regenere plantas férteis. Protocolos de regeneração são específicos para cada espécie, e algumas vezes, para determinadas cultivares desta espécie. Este experimento teve como objetivo avaliar o efeito do regulador de crescimento benzilaminopurina (BAP) e dois substratos para germinação das sementes, água e meio MS, visando a maximização da regeneração de plantas de arroz, cultivar BRS Chuí, através da regeneração direta de brotos, via organogênese.

Como material botânico, utilizou-se sementes da cultivar de arroz irrigado, BRS-Chuí, obtidas na Embrapa Clima Temperado, que foram germinadas para obter-se o explante inicial, região meristemática de ápices caulinares, com aproximadamente 0,3 a 0,5 cm de comprimento. As sementes descascadas foram desinfestadas com álcool 70%, durante 3 minutos, e após imersas em hipoclorito de sódio 40% (produto comercial), por um período de 40 minutos, seguido por 3 lavagens em água destilada esterilizada. Utilizou-se, ainda, como agente desinfestante, solução de cloreto de mercúrio 0,6% durante um minuto, seguido por 4 lavagens em água destilada esterilizada. As sementes, foram inoculadas em frascos com algodão embebido em água ou meio de cultura (saís e vitaminas de MS complementado com mio-inositol 100 mg.l⁻¹, sacarose 10 g.l⁻¹ e 2,0 mg.l⁻¹ ANA-ácido naftalenoacético) e mantidas no escuro, a temperatura de 28° ± 1°C, por 3 a 4 dias. Decorrido este prazo, as sementes foram seccionadas, o coleoptile eliminado e foram retirados os explantes.

O meio de cultura adotado para regeneração de gemas foi o meio básico MS, complementado com mio-inositol 100 mg.l⁻¹, ágar 7 g.l⁻¹ e sacarose 30 g.l⁻¹. Para enraizamento, foi utilizado o meio básico MS acrescido de 60 g.l⁻¹ sacarose, 100 mg.l⁻¹ mio-inositol e 7,0 g.l⁻¹ ágar. Os meios de cultura tiveram seu pH ajustado para 5,8 antes da autoclavagem, realizada durante 20 minutos, a 120°C e 1,5 atm de pressão.

Meios de cultura:

MS + 1,0 mg/l BAP

MS + 2,0 mg/l BAP

MS + 4,0 mg/l BAP

MS + 8,0 mg/l BAP

O experimento foi conduzido em câmara de crescimento sob densidade de fluxo de 31,41 w.m⁻², temperatura de 25° ± 1°C durante o período de luz (16 horas) e 23° ± 1°C durante o escuro.

Após a regeneração dos explantes, os brotos obtidos foram transferidos para meio de enraizamento, quando foi realizado uma multiplicação do material. As plantas com um sistema radicular bem desenvolvido foram aclimatadas inicialmente em tubos de ensaio contendo água destilada e posteriormente plantadas em vasos, em casa de vegetação.

O experimento foi desenvolvido em um esquema fatorial (2 x 4), com o substrato para germinação das sementes composto por dois níveis e o meio de cultura utilizado, com quatro níveis. Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente casualizado, com 6 repetições (frascos) e 3 explantes/frasco, totalizando 30 explantes/tratamento.

Conforme observado na Tabela 1, a germinação ocorrida em meio de cultura proporcionou uma regeneração mais eficiente, devido ao melhor desenvolvimento das plântulas e a maior firmeza dos coleóptilos. Com isto, os explantes retirados a partir deste substrato apresentaram danos menores, obtendo-se explantes mais íntegros. O tratamento contendo $8,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP, demonstrou a melhor regeneração em ambos os substratos, enquanto aquele com $1,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP, apresentou a menor taxa.

Tabela 1- Porcentagem de regeneração de explantes da região meristemática de ápices caulinares de arroz irrigado cv. BR5 Chulí, Pelotas, RS 1998

Tratamentos ¹	n° explantes inoculados	n° explante regenerado	Regeneração (%)
1 A	51	23	45,09 ab
2 A	47	23	48,93 a
3 A	50	24	48,00 a
4 A	47	30	63,82 a
1 B	47	2	4,25 c
2 B	45	4	8,88 c
3 B	45	3	6,66 c
4 B	41	8	19,51 bc
Cv (%)			131,92
Prob.>F			0,00001

¹Tratamentos: 1- MS + $1,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP; 2- MS + $2,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP; 3- MS + $4,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP; 4- MS + $8,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP. A- sementes germinadas em meio de cultura; B- sementes germinadas em água.

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

Tabela 2- Número final de brotações por explante regenerado e eficiência final do processo de regeneração de explantes da região meristemática de ápices caulinares de arroz irrigado cv. BR5 Chulí, Pelotas, RS 1998

Tratamentos ¹	N° total de gemas	n° brotos/explante	Eficiência
1 A	313	16,62 ab	6,13
2 A	294	19,96 ab	6,25
3 A	252	12,95 b	5,04
4 A	471	18,18 ab	10,02
Média			6,86
1 B	167	24,95 ab	2,16
2 B	117	16,50 ab	1,56
3 B	242	32,59 a	3,72
4 B	165	19,29 ab	2,70
Média			2,53
Cv (%)		31,30	
Prob.>F		0,03268	

¹Tratamentos: 1- MS + $1,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP; 2- MS + $2,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP; 3- MS + $4,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP; 4- MS + $8,0 \text{ mg.l}^{-1}$ BAP. A- sementes germinadas em meio de cultura; B- sementes germinadas em água.

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de significância de 5%.

O número médio de brotações/explante não demonstrou diferenças estatísticas entre os tratamentos, quando analisados os substratos, água e meio de cultura, isoladamente (dados não apresentados). Ao considerarmos juntos, os substratos para germinação das sementes e os meios de cultura utilizados, verificamos um maior número de brotos ($32,59$ e $24,95$) nos tratamentos em que as sementes foram germinadas em água (Tabela 2).

Apesar do maior número de brotações obtidas quando as sementes foram germinadas em água, considerou-se como melhor substrato, o meio de cultura, devido a maior eficiência final do processo, $6,86$ deste, contra $2,53$ para o substrato água, em média (Tabela 2).