

AMPLIAÇÃO DA BASE GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE ARROZ IRRIGADO POR CRUZAMENTO INTERESPECÍFICO COM A ESPÉCIE SILVESTRE *Oryza glumaepatula* E ANÁLISE DE AB-QTL

Pesquisa parcialmente financiada com recursos do CNPq

Claudio Brondani¹, Márcio Elias Ferreira² e Paulo Hideo Nakano Rangel¹

¹ Eng° Agr° Dr. Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179. CEP 75375-000, Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: brondani@cnpaf.embrapa.br; phrangel@cnpaf.embrapa.br

² Eng/ Agr° Ph.D. Universidade Católica de Brasília, SGAN 916 Módulo B. CEP 70790-160 Brasília, DF.

A estagnação dos patamares de produtividade de arroz no Brasil vem sendo observada desde o final da década de 1980, quando culminou o processo de substituição das cultivares tradicionais pelas variedades modernas. A principal causa apontada para a estagnação é a estreita base genética existente nas variedades elite cultivadas no Brasil e em vários países do mundo, resultado do melhoramento genético intensivo que reduziu o "pool" gênico utilizado. Uma das maneiras mais efetivas para se aumentar a variabilidade genética em populações de melhoramento de arroz é através de cruzamentos com germoplasma exótico, tais como as variedades locais (ou *land races*), o arroz vermelho e espécies silvestres do gênero *Oryza*. A variabilidade genética em plantas autógamas cultivadas, como é o caso do arroz, é apenas uma fração daquela encontrada na natureza. Contudo, os genes das espécies silvestres podem repor esta diversidade, diminuindo os riscos de vulnerabilidade ao ataque de insetos e doenças, e possibilitar, dentre outras alternativas, a seleção para aumento do potencial produtivo das linhagens.

Oryza glumaepatula, utilizada como fonte doadora de genes neste trabalho, ocorre em diversas regiões do Brasil. Esta espécie possui o genoma AA, como a espécie cultivada *O. sativa*. A estratégia de AB-QTLs (*Advanced Backcross QTL analysis*, Tanksley, S.D. e Nelson, J.C. Theor. Appl. Genet. v.92, p.191-203. 1996) foi utilizada na transferência de genes de *O. glumaepatula* para *O. sativa*. Esta metodologia consiste de um cruzamento inicial, seguido de dois a quatro retrocruzamentos em direção ao parental recorrente, e posteriormente, utilizando-se marcadores moleculares, procede-se a seleção genética. No final do processo, são obtidas linhagens quase isogênicas (NILs, *Near-Isogenic Lines*), possuindo a inserção de fragmentos de interesse provenientes do parental doador, e que podem ser responsáveis pelo fenótipo melhorado. Xiao *et al.* (Genetics v.150, p.899-909. 1998) detectaram 12 QTLs (*Quantitative Trait Loci*) de importância agrônômica na geração retrocruzamento 2 de *O. sativa* x *O. rufipogon*, encontrando alelos provenientes do parental silvestre que não diminuíram o valor fenotípico para as demais características medidas, inclusive para o caráter produção.

Uma planta de *O. glumaepatula* RS-16, coletada em uma população proveniente da Região Amazônica, foi utilizada nos cruzamentos com a linhagem elite *O. sativa* BG90-2. Quatro plantas F₁ verdadeiras, confirmadas por marcadores RAPD e SSR, foram retrocruzadas com BG90-2. Um total de 256 plantas RC1F₁ com características fenotípicas favoráveis foram retrocruzadas novamente com BG90-2. Destas, 96 progênes RC2F₁ foram selecionadas e utilizadas para a análise de QTLs e autofecundadas para produzir sementes RC2F₂.

As 96 famílias RC2F₂, os dois parentais e a cultivar comercial BR-IRGA 409 (controle) foram avaliadas à campo no delineamento experimental de blocos ao acaso com 3 repetições. O experimento foi conduzido na Embrapa Arroz e Feijão (Santo Antônio de Goiás-GO, local 1) e na Estação Experimental de Formoso (Formoso do Araguaia-TO, local 2). A parcela foi formada por três linhas de 3,0 m de comprimento com 20 plantas/linha. As linhas de bordadura foram plantadas com BG90-2 e a linha central de cada parcela com as famílias RC2F₂, onde foram coletados os dados. Oito plantas RC2F₂ por parcela foram examinadas para as características: dias até o florescimento (DTF); altura de plantas (PHT); número de perfilhos (TNR); número de panículas (PNR); comprimento de panículas (PLH); espiguetas por panícula (SPP); percentagem de grãos cheios por panículas (PGF). Em cinco plantas foram coletados os seguintes dados: peso de 100 grãos

(HGW); produção por planta (GYP); número de grãos cheios por panícula (FGP) e produção por panícula (GYPa).

Na análise de QTLs inicialmente construiu-se um mapa de ligação com 157 marcadores moleculares (150 marcadores SSR e 7 STS), usando uma população segregante de 93 plantas RC1F₁ do cruzamento *O. sativa* BG90-2 x *O. glumaepatula* RS-16. Utilizou-se o programa Mapmaker versão 2.0 para Macintosh, utilizando como parâmetros um LOD score de 5,0 e uma fração de recombinação máxima $q=0,25$. Os marcadores mapeados foram também utilizados para genotipar as 96 plantas RC2F₂, estimar o percentual de contribuição de cada parental em cada família RC2F₂ e efetuar a análise de QTLs utilizando as análises de "single-point" (limite de significância estatística de $P<0,002$) e "interval mapping" (LOD score mínimo de 3,0).

O percentual do genoma de *O. glumaepatula* em 96 plantas RC2F₁ variou de 0% a 26%, com uma média de 6,3%. As análises de QTLs utilizando "single-point" e "interval mapping" produziram resultados muito semelhantes. O maior número de caracteres identificados em um cromossomo pela análise "single-point" foi de 9 caracteres para o cromossomo 4 no local 1, e 7 caracteres para os cromossomos 3 e 5 no local 2. Incluindo-se todas as características analisadas, foram identificados 70 QTLs no local 1 e 66 QTLs no local 2, sendo que 18 QTLs foram comuns aos dois locais. Dos caracteres relacionados com o caráter "produção", os efeitos alélicos positivos sempre foram provenientes do parental BG90-2, exceto para os caracteres número de panículas e número de perfilhos, que foram as características associadas ao parental silvestre. Estas características são diretamente relacionadas à produção de grãos, uma vez que potencialmente cada perfilho poderá produzir uma nova panícula. Na análise por "interval mapping", o número máximo de caracteres associados foi de 8 para o cromossomo 7 no local 1, e 7 para o cromossomo 5 no local 2. Ao todo, foram identificados 41 QTLs no local 1, 36 QTLs no local 2, sendo 20 QTLs comuns aos dois locais. Foram encontradas famílias RC2F₂ transgressivas, ou seja, com médias superiores à média do parental cultivado BG90-2, em todos os caracteres, provavelmente devido ao efeito favorável de genes presentes no fragmento genômico inserido de *O. glumaepatula*, ou ao efeito de heterose em locos específicos deste fragmento.

Foram identificadas 13 famílias que produziram maior número de panículas que o parental BG90-2. A vantagem da utilização dos marcadores moleculares identificados pela análise de QTLs é a de que se pode acelerar a conversão em linhagens úteis nas outras regiões genômicas relacionadas a caracteres ligados à produção e que, contudo, apresentam alelos desfavoráveis de *O. glumaepatula* para estes caracteres. A família RC2F₂ 84 mostrou um aumento de 145,8% no aumento do número de panículas por planta em relação a BG90-2, e possui um percentual estimado de 12,6% do genoma de *O. glumaepatula*. A Figura 1 mostra um exemplo de conversão que está sendo conduzido através da seleção assistida por marcadores na família RC2F₂ 84, sendo indicados os locos genômicos em que devem ser mantidos os alelos favoráveis provenientes de *O. glumaepatula*, além dos locos onde devem ser reintroduzidos os alelos do parental elite BG90-2, mediante retrocruzamentos adicionais.

Os marcadores fortemente associados a mais de um caractere foram: RM1 (cromossomo 1: SPP, GYP, FGP e GYPa); RM16 (cromossomo 3: SPP, GYP, FGP, GYPa e HGW); OS15 (cromossomo 4: SPP, GYP e FGP) e RM4B (cromossomo 11: PNR, PFG, HGW, GYPa, PLH, GYP e FGP). Embora não seja possível neste momento distinguir os efeitos de pleiotropia e de ligação gênica, há um forte indicativo de que estas regiões genômicas sejam muito relacionadas a locos que controlam a produção do arroz, e podem ser o ponto inicial para projetos de mapeamento fino de QTLs. Dos 12 cromossomos do arroz, somente o 9, o 10 e o 12 não foram associados à presença de QTLs, e a causa pode ter sido o efeito similar dos dois parentais para os caracteres analisados, e que não puderam ser identificados nestes 3 cromossomos. A superioridade das 20 famílias RC2F₂ mais produtivas selecionadas está sendo estudada através do plantio (dezembro de 2000) e análise molecular da geração RC2F .

A espécie silvestre *O. glumaepatula*, com ocorrência no Brasil e já adaptada às condições de fotoperíodo e edafoclimáticas tropicais, foi utilizada com sucesso no cruzamento interespecífico com o arroz cultivado (*O. sativa*). O mapa molecular baseado neste cruzamento, além de ser o primeiro desenvolvido para o arroz no Brasil, servirá como mapa-referência para futuros cruzamentos envolvendo outras fontes de germoplasma exótico, visando a introgressão de genes favoráveis para o programa de melhoramento genético e a posterior seleção de linhagens que contenham o *background* genético da cultivar elite. Regiões específicas deste mapa continuarão sendo identificadas pela análise de QTLs e, juntamente com os grupos de ligação que tiveram menor cobertura genômica por marcadores, receberão maior atenção no sentido de aumentar a saturação com marcadores moleculares. Caso sejam identificadas NILs que possuam diferentes QTLs com efeito favorável no fenótipo para uma ou mais características, cruzamentos entre estas NILs poderão ser monitorados pelos marcadores moleculares mapeados, a fim de reunir em apenas uma NIL tais QTLs, aumentando a eficiência no processo de obtenção de novas cultivares de arroz.



Figura 1. Genótipo gráfico da família RC2F₂ 84, com indicação dos locos onde está sendo efetuada a seleção assistida por marcadores. Nos demais cromossomos desta família, não foram identificados fragmentos introgrididos de *O. glumaepatula*.

