

ARROZ HIBRIDO<sup>1</sup>Elcio Perpétuo Guimarães<sup>2</sup>

## INTRODUÇÃO

É sabido, desde os experimentos de Beachell et al. (1938), que o arroz possui baixa taxa natural de fecundação cruzada. Essa característica fez com que os programas convencionais de melhoramento explorassem os métodos recomendados para espécies autógamas, concentrando-se na produção de linhas puras como produto final do trabalho. Entretanto, desde 1926, com Jones, a literatura relata, para o arroz, a existência do fenômeno do vigor híbrido ou heterose.

No Japão, levantamento para avaliar o progresso feito pelos programas de melhoramento de arroz, baseado no lançamento de novas cultivares mais produtivas que os padrões comerciais, demonstrou que tem havido decréscimo nos ganhos em produtividade. Kariya (1966) mostrou que novas cultivares do grupo Norin, no período de 1931-41, aumentaram em 6,8% a

-----  
<sup>1</sup> Palestra apresentada na III RENAPA, realizada no período de 16 a 20 de fevereiro de 1987, no CNPAF-EMBRAPA, em Goiânia, GO.

<sup>2</sup> Pesquisador EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, 74000 Goiânia, Goiás.

produtividade média; e que no período 1962-65 esse aumento foi de apenas 2,1%. Esse exemplo vem demonstrar a queda na eficiência dos programas de melhoramento para cultivares do grupo Norin.

Com a descoberta da macho-esterilidade genético-citoplasmática em arroz (Sampath & Mohanty 1954, Weeratne 1954) a exploração comercial do fenômeno da heterose passou a ser alternativa ao aumento da produtividade, uma vez que heterose para produção de grãos existe e está amplamente relatada na literatura. Valores variando de 1,9 a 368,6% são relatados por Virmani et al. (1981) na revisão que fizeram sobre o assunto.

O primeiro citoplasma macho estéril usado comercialmente para produção de arroz híbrido foi proveniente de uma planta achada numa população de arroz selvagem (*O. sativa* L. f. *spontanea*) (Lin & Yuan 1980). As linhagens obtidas em 1970 com esse citoplasma permitiram à China produzir híbridos comerciais de arroz. Em 1976, a China plantou 150.000 hectares de arroz híbrido e em 10 anos alcançou os 8,8 milhões de hectares.

Embora hoje existam boas perspectivas para o uso de híbridos como alternativa para o aumento da produtividade, poucos são os países que estão fazendo pesquisas para explorar esse potencial. O Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAP), em convênio com o Institut de Recherches Agronomiques Tropicales et de Cultures Vivrières (IRAT), vem

desenvolvendo um programa de pesquisa em arroz híbrido com o objetivo de criar uma metodologia que permita ao Brasil produzir híbridos comerciais de arroz.

### **Desenvolvimento de Linhas Parentais**

A metodologia usada na produção de sementes híbridas é conhecida como "THREE LINE BREEDING" ou melhoramento pelo uso de três linhas. O processo está baseado nas linhas macho-estéril (A), mantedora (B) e restauradora (R).

A multiplicação das linhas A, citoplasmas macho-estéreis, requer a participação das linhas de manutenção. Linhas A e B são levadas a campo e plantadas na proporção de 2B:4A, de modo a permitir a polinização das linhas A pelo pólen das linhas B. Uma vez que plantas da linha B não possuem genes para restauração da fertilidade, a esterilidade é mantida, e as sementes colhidas nas plantas A produzem plantas do tipo macho-estéril. As sementes colhidas nas plantas B, produto da autofecundação, são usadas como multiplicação das linhas B. Para as linhas R o processo é semelhante à multiplicação de sementes não-híbridas.

A primeira linha citoplasma macho-estéril desenvolvida em arroz é de autoria de Shinjyo & Omura (1966); entretanto, o primeiro citoplasma macho-estéril que causou impacto no programa de produção de arroz híbrido foi o designado "WILD ABORTIVE" ou WA (Lin & Yuan 1980). Virmani & Edwards (1983)

relataram que, até 1981, 19 fontes de citoplasma macho estéril existiam em arroz; entretanto, 4 delas eram mais comumente usadas: WA (citoplasma de *O. sativa* L. f. spontanea), BT (citoplasma de Chinsurah Boro II), GAM (citoplasma de Gambiaca) e O-Shan-Tao-Bai.

Para que possam ser usadas de modo eficiente nos programas de melhoramento, as linhas macho-estéreis devem possuir as seguintes características: estáveis para a esterilidade do pólen, fácil manutenção, fácil restauração da fertilidade, e não carregar consigo efeitos negativos de ligação com outras características agrônômicas (Virmani & Wan 1986).

Um fator importante no sistema de macho-esterilidade é o conhecimento do mecanismo que leva à esterilização. Baseado nesse mecanismo as linhas foram classificadas no sistema esporofítico, em que o aborto dos grãos de pólen é determinado pelo genótipo do esporófito  $2n$  (é o caso dos sistemas WA e GAM); e no sistema gametofítico, em que é o genótipo do grão de pólen ( $n$ ) que determina a sua viabilidade (sistema BT). A restauração da fertilidade é controlada por dois pares de genes para o citoplasma WA e um par de gene para o citoplasma BT (Zebeing 1986).

O uso da macho-esterilidade para o desenvolvimento de híbridos só é possível quando acompanhado da identificação ou desenvolvimento de linhas capazes de restaurar a fertilidade. Em arroz de sequeiro, no programa desenvolvido no CNPAF, não

foram identificadas cultivares com genes para restauração da fertilidade do citoplasma, tendo-se que recorrer à restauração presente em cultivares de arroz irrigado, como a METICA 1.

O estudo e a identificação de novos citoplasmas e linhas macho-estéreis é de grande relevância dentro do programa de híbridos, uma vez que é sabido a limitada diversidade genética presente nas linhas macho-estéreis usadas atualmente. Na China, o tipo WA é responsável por 90% dos citoplasmas do arroz híbrido cultivado (Lin & Yuan 1980).

Até o presente, a habilidade de restauração da fertilidade em cultivares de arroz tem sido relacionada à origem do material. No grupo Indica, a capacidade de restauração tem sido mais frequente entre cultivares tardias que precoces, talvez devido ao fato de que as cultivares de ciclo longo possam ser mais primitivas, portanto mais próximas ao arroz selvagem (Virmani & Edwards 1983).

Para o desenvolvimento das linhas B e R, a existência de um programa convencional de desenvolvimento de linhagens, paralelo ao de híbridos, é essencial, pois é desse programa que são extraídas as linhas elites para cruzamentos-teste com as melhores linhas macho-estéreis. O resultado desses cruzamentos indica a capacidade das linhas em manter a esterilidade (B) ou restaurar a fertilidade (R). Caso o cruzamento teste apresente 95-100% de pólen estéril, o doador pode ser considerado como possível mantedor, sendo usado em programa de produção de novas linhas B. Caso o cruzamento

teste apresente 80% ou mais de espiguetas férteis, o doador pode ser considerado como possível restaurador, devendo para isso ser reconfirmado e purificado geneticamente.

Com o desenvolvimento de linhas A, B e R o passo seguinte é o estudo da capacidade de combinação dessas linhas e do potencial para produção de híbridos.

### **Emprego de Produtos Químicos para Emasculação em Arroz**

O desenvolvimento de um programa de arroz híbrido pode ser concebido baseado em duas linhas distintas. A primeira utiliza o processo conhecido como "melhoramento em três linhas", anteriormente descrito, e a segunda, o da emasculação química, que aparece como sistema alternativo para a produção de sementes híbridas.

Neste item serão abordados aspectos relacionados a emasculação química, que induz artificialmente a macho esterilidade sem causar danos à parte feminina. Sua grande vantagem é a de possibilitar a utilização de qualquer cultivar como progenitor feminino.

Para que a emasculação química seja eficiente, o gameticida precisa possuir as seguintes propriedades: a) ser seletivo, para induzir somente esterilidade masculina sem afetar o funcionamento do restante da planta, principalmente a fertilidade feminina; b) ser sistêmico ou suficientemente

persistente de modo tal que a esterilização englobe perfilhos mais precoces e mais tardios; c) ser estável, para ter a capacidade de transpor condições adversas de clima; d) causar o mínimo possível de efeitos colaterais no desenvolvimento da planta; e) ser seguro aos seres humanos e animais, bem como de fácil obtenção, uso simples e econômico (Virmani & Edwards 1983).

O conhecimento de que estresses ambientais, tais como alta e baixa temperatura e deficiência hídrica, podem causar esterilidade nos órgãos femininos, vem demonstrar a diferença em sensibilidade existente entre os órgãos reprodutivos feminino e masculino, e o potencial para a descoberta de produtos químicos que afetem os órgãos masculinos sem atingirem os femininos.

Baseado nesse conhecimento, inúmeros produtos químicos têm sido testados visando induzir macho-esterilidade em arroz. O ETHREL e o RH 531, conhecidos como eficientes gameticidas, foram testados em arroz, entretanto não foram efetivos o suficiente para serem adotados em escala comercial. Na China, dois produtos conhecidos como MG 1 (zinco arsenato de metila -  $\text{CH}_3\text{AsO}_3\text{Zn}$ ) e MG 2 (sódio arsenato de metila -  $\text{CH}_3\text{AsO}_3\text{Na}_2$ ) são usados comercialmente e têm-se mostrado efetivo (Shao & Hu 1986). Embora produtos existam, a maior restrição para o uso do gameticida químico em larga escala reside na especificidade dos produtos no que diz respeito à concentração, época de aplicação e método de aplicação. Na China apenas 10.000 ha são

plantados com sementes híbridas obtidas com gameticidas.

### Tecnologia Chinesa para Produção de Sementes Híbridas

A técnica para produção de sementes híbridas de arroz começou em 1973 na província de Hunan, China, com produtividades médias inferiores a 100 kg/ha. Com a padronização e o aprimoramento da técnica, em 1985 a média de produtividade estava ao redor de 1,5 t/ha, com alguns produtores mais experientes alcançando produtividades de até 5,4 t/ha.

O processo chinês de produção de sementes híbridas utiliza a macho-esterilidade genético-citoplasmática, que requer três etapas fundamentais: 1) multiplicação das linhas de citoplasma macho-estéril (A), 2) multiplicação das linhas de manutenção (B) e de restauração (R), e 3) produção das sementes híbridas (A x R).

A produção de sementes híbridas é feita pela combinação das linhas R com A. Várias proporções são encontradas no plantio de R e A, entretanto, recomenda-se, para as condições chinesas, uma relação de 6 a 8 A : 1 a 2 R, sendo as sementes híbridas colhidas nas plantas A.

A seguir serão descritas algumas precauções que são tomadas, na China, para que a produtividade de sementes híbridas seja elevada. Tais precauções são também válidas para



qualquer outro programa que adote semelhante metodologia.

#### 1. Sincronização da floração

O ponto fundamental para o aumento da produção de sementes híbridas está na sincronização da floração das linhas polinizadoras (R) com a das linhas receptoras de pólen (A). A data de plantio do progenitor mais precoce precisa ser cuidadosamente ajustada à do progenitor mais tardio, o que pode ser feito baseado na idade das folhas (número e estágio de desenvolvimento). Alguns produtores de semente preferem plantar os progenitores masculinos em duas ou três datas diferentes, como alternativa para assegurar a coincidência de floração.

#### 2. Corte das folhas e aplicação de ácido giberélico

As folhas-bandeiras dos progenitores femininos são os principais obstáculos à livre circulação do pólen e consequente polinização cruzada. Com o objetivo de aumentar a movimentação do pólen, as folhas-bandeiras dos progenitores femininos são totalmente removidas e as dos masculinos reduzidas em 2/3 de seus tamanhos. Essa operação é feita no estágio de emissão das panículas. O corte das folhas do progenitor feminino, além de facilitar maior circulação do pólen, faz com que o florescimento ocorra mais cedo todos os dias, aumentando com isso a percentagem de sementes formadas. Todo o processo de corte das folhas-bandeiras requer 25 homens-dia/ha e aumenta a produção de sementes em 42,9%, comparados a produção sem corte das folhas. Ainda visando facilitar a polinização, os produtores de semente aplicam, uma ou duas vezes, no início do

florescimento, após o corte das folhas-bandeiras, 20 ppm de ácido giberélico, o que causa melhor exsereção das panículas.

### 3. Polinização suplementar

Para que a polinização seja a máxima possível os campos de produção de semente são plantados, preferencialmente, perpendiculares a direção dos ventos predominantes na época da floração. Complementar a ação do vento, nos dias calmos, a intervalos de 20 a 30 minutos, durante a floração, é passado sobre o campo uma corda com o objetivo de movimentar as panículas e aumentar a dispersão do pólen. O emprego dessa técnica requer de 5 a 15 homens dia/ha.

### 4. Isolamento dos campos

As regras para isolamento dos campos de produção de sementes das linhas A, B, R e híbridas visam evitar qualquer possível contaminação do material. O isolamento pode ser feito usando-se o tempo, o espaço ou ambos. Usando-se o fator tempo, é requerido que a floração de materiais plantados próximos floresçam no mínimo 21 dias antes ou depois do material de que se deseja colher sementes. A distância requerida é de 100 m entre campos; normalmente combinam-se os dois fatores e ao redor do campo de sementes planta-se como bordadura linhas do polinizador, linhas R.

### 5. Reguladores de crescimento

Com o objetivo de ajustar a floração dos progenitores masculinos e femininos, pode-se aplicar nitrogênio no

progenitor mais precoce e fosfato desidrogenado de potássio no mais tardio; com isso consegue-se um ajuste de 4 a 5 dias.

### Programa para Produção de Arroz Híbrido no CNPAF

O sucesso em melhorar e produzir comercialmente o arroz híbrido na China vem servindo como fator de estímulo ao desenvolvimento de programas semelhantes em diversos países; entretanto, a metodologia chinesa de produção de sementes híbridas, descrita na sessão anterior, inviabiliza sua utilização em países como o Brasil, uma vez que requer mão-de-obra abundante e não disponível em nossas condições.

É essencial para o desenvolvimento de um programa de produção de arroz híbrido que haja baixo custo e alta eficiência na produção de sementes. Melhoramento das características florais do arroz, para facilitar a fecundação cruzada, é um passo essencial para o sucesso do trabalho.

O CNPAF em cooperação com o IRAT vem desenvolvendo um programa de produção de linhas A, B e R com características que facilitem a produção de sementes híbridas, evitando a utilização intensiva de mão-de-obra.

O projeto, em andamento no CNPAF desde 1983, visa introduzir características de alogamia da espécie selvagem O. longistaminata em linhagens de arroz cultivado e a utilização da macho-esterilidade genético-citoplasmática.

## 1. Características florais que auxiliam a polinização cruzada

A taxa de polinização natural em cultivares de arroz normalmente é inferior a 1%, como mencionado anteriormente. Em plantas macho-estéreis essa taxa varia entre 3 e 70%; entretanto, ainda encontra-se em níveis insuficientes para produção eficiente de sementes híbridas sem polinização complementar.

As características que mais influenciam a taxa de polinização cruzada em plantas macho-estéreis são: tamanho do estigma, capacidade do estigma permanecer fora das espiguetas após a antese, tamanho das anteras, duração da abertura das flores e exserção das panículas.

Dentre as características mencionadas algumas facilitam a dispersão do pólen, como maior número de grãos de pólen por antera e a melhor exserção das panículas; outras facilitam a recepção dos grãos de pólen, como maior tempo de exposição, tamanho dos estigmas e maior duração de abertura das flores.

## 2. Obtenção de linhas A e B com grande estigma

O cruzamento interespecífico O. sativa/O. longistaminata foi realizado em 1981, pelo IRAT, na França, e os primeiros híbridos foram obtidos através de cultura de tecidos. O primeiro retrocruzamento, para O. sativa (BC1-sativa), produziu uma pequena percentagem de plantas férteis com grande estigma, mas com alta intensidade de degrana. Plantas férteis e com

grande estigma foram autofecundadas e as melhores plantas selecionadas e novamente retrocruzadas para Q. sativa (BC2-sativa). As plantas provenientes do referido retrocruzamento ainda apresentaram elevada taxa de esterilidade; alta intensidade de degrana e segregaram para tamanho de estigma. Deste ponto em diante duas alternativas foram usadas:

a) seleção genealógica a partir da geração  $F_2$  do BC2-sativa foi levada a efeito visando a obtenção de linhagens com grande estigma. Atualmente o programa possui linhagens em  $F_5$  com baixa intensidade de degrana e grande estigma. Da geração  $F_3$  em diante, cada linha foi progressivamente macho-esterilizada com o citoplasma WA. Nesse processo linhas A e B serão obtidas concomitantemente.

b) uma segunda alternativa envolveu a obtenção de plantas de um terceiro retrocruzamento para Q. sativa (BC3-sativa). O fato marcante desse retrocruzamento foi que quase todas as plantas obtidas foram perfeitamente férteis, oposto aos resultados anteriores; entretanto, a degrana ainda estava em nível alto, principalmente nas plantas com grande estigma. As melhores plantas BC3-sativa foram autofecundadas e a seleção genealógica foi levada a efeito. Também para essa alternativa, a partir de  $F_3$  as linhas foram macho-esterilizadas com os citoplasmas Boro II e/ou WA.

Um programa de melhoramento de arroz híbrido requer, além da identificação das linhas de restauração, grande número de linhas A e B com grande estigma; portanto, se faz necessário a

execução de um programa como o descrito, uma vez que é necessário a transferência, ao mesmo tempo, do carácter grande estigma e macho-esterilidade ao maior número possível de linhas de manutenção.

No actual estágio de desenvolvimento do programa CNPAF/IRAT espera-se obter os primeiros pares de linhas A e B, com grande estigma e macho-esterilidade, para testes na safra agrícola 1987/88. Com esses resultados espera-se demonstrar a viabilidade do uso de sementes híbridas em arroz no Brasil, especialmente para condições em que a produtividade está estável ou evoluindo lentamente com o emprego de cultivares provenientes de programas convencionais de melhoramento.

#### AGRADECIMENTOS

Aos colegas James Taillebois, Orlando Peixoto de Moraes e Beatriz da Silveira Pinheiro, pelas experiências e sugestões na apresentação desta palestra.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BEACHELL, H.M.; ADAIR, C.R.; JORDAN, N.E.; DAVIS, L.L. & JONES, J.W. Extent of natural crossing in rice. J. Amer. Soc. Agron., 30:743-53, 1938.
- CHAUDHARY, R.C.; VIRMANI, S.S. & KHUSH, G.S. Patterns of pollen abortion in some cytoplasmic male sterile lines of rice. Oryza, 18:140-2, 1981.
- DE, Y.Z. Agronomic management of F<sub>1</sub> rice hybrids compared to non-hybrid varieties. Trabalho apresentado no International Symposium on Hybrid Rice. Changsha, Hunan, China. 1986. (no prelo).
- GUITING, H.; TE, A.; XIGANG, Z.; TRAVERS, S.L.; XIUFANG, L. & HERDT, R.W. The economics of hybrid rice production in China. Manila, IRRI, 1984. 14p. (IRPS, 101).
- JONES, J.W. Hybrid vigor in rice. J. Am. Soc. Agron., 18:423-428, 1926.
- KARIYA, K. Rice varieties, present and future. Agr. Asia, 66:84-93, 1966.

- KIM, C.H. & RUTGER, J.N. Heterosis in rice. Trabalho apresentado no International Symposium on Hybrid Rice. Changsha, China, 1986. (no prelo).
- LIN, S.C. & YUAN, L.P. Hybrid rice breeding in China. In: INTERNATIONAL RICE RESEARCH INSTITUTE, Los Baños, Filipinas. Innovative approaches to rice breeding. Los Baños, 1980. p.35-51.
- SAMPATH, S. & MOHANTY, H.K. Cytology of semi-sterile rice hybrid. Curr. Sci., 23:182-183, 1954.
- SHAO, K. & HU, D.W. Chemical emasculation in hybrid rice. Trabalho apresentado no International Symposium on Hybrid Rice. Changsha, Hunan, China, 1986. (no prelo).
- SHIJUE, X. & BIHU, L. Managing hybrid seed production. Trabalho apresentado no International Symposium on Hybrid Rice, Changsha, Hunan, China, 1986. (no prelo).
- SHINJYO, C. & OMURA, T. Cytoplasmic male sterility in cultivated rice, Oryza sativa L. I. Fertilities of F<sub>1</sub>, F<sub>2</sub> and offsprings obtained from their natural reciprocal backcrosses and segregation of completely male sterile plants. Jap. J. Breed., 16(Suppl. 1):179-80, 1966.



TAILLEBOIS, J. & GUIMARAES, E.P. Outcrossing mechanisms and determining outcrossing rate in rice. Trabalho apresentado no International Symposium on Hybrid Rice, Changsha, Hunan, China, 1986. (no prelo).

TAILLEBOIS, J. & GUIMARAES, E.P. Obtention de lignees femelles permettant une production economique de semences hybrides. Agronomie Tropicale, 1987. (no prelo).

VIRMANI, S.S. & WAN, B. Development and use of diverse cytoplasmic male sterile lines in hybrid rice breeding. Trabalho apresentado no International Symposium on Hybrid Rice, Changsha, Hunan, China, 1986. (no prelo).

VIRMANI, S.S.; CHAUDHARY, R.C.; & KHUSH, G.S. Current outlook on hybrid rice. Orzyza, 18:67-84, 1981.

VIRMANI, S.S. & EDWARDS, I.B. Current status and future prospects for breeding hybrid rice and wheat. Advances in Agronomy, 36:145-214, 1983.

WEERARATNE, H. Hybridization technique in rice. Trop. Agri., 110:93-97, 1954.

ZEBEING, L. Current status of research in rice male sterile cytoplasm and fertility restoration. Trabalho apresentado no International Symposium on Hybrid Rice, Changsha, Hunan, China, 1986. (No prelo).