

VARIAÇÃO SOMACLONAL NA CULTIVAR DE ARROZ IAC-47 PARA RESISTÊNCIA PARCIAL À BRUSONE

LEILA G. ARAÚJO, ANNE S. PRABHU & ADELSON B. FREIRE

Centro Nacional de Pesquisa de Arroz e Feijão (CNPAF-EMBRAPA), Caixa Postal 179, 74001-970 Goiânia, GO. E-mail: prabhu@cnpaf.embrapa.br

(Aceito para publicação em 17/03/97)

ARAÚJO, L.G.; PRABHU, A.S. & FREIRE, A.B. Variação somaclonal na cultivar de arroz IAC-47 para resistência parcial à brusone. Fitopatologia brasileira 22:125-130. 1997.

RESUMO

A variação somaclonal em arroz para resistência à brusone foi investigada nas gerações R2, R3, e R4 das plantas regeneradas (R1) derivadas de panículas imaturas da cultivar suscetível IAC-47. A reação de brusone nas folhas foi avaliada nas populações R2 e linhas R3 através de inoculações artificiais com a raça virulenta IB-1 de *Pyricularia grisea*, sob condições controladas em casa de vegetação. As plantas da população R2 segregaram para resistência completa e para diversos graus de suscetibilidade. A resistência parcial das plantas R2 que apresentaram reação moderadamente suscetível foi determinada nas linhas R3. Foi observada entre as linhas R3 uma variação altamente significativa para resistência parcial. Também a variação somaclonal foi

avaliada em um total de 300 plantas R2 e em 160 linhas R3 nas condições de campo durante 1993-94 e 1994-95, respectivamente. Enquanto todas as plantas foram altamente suscetíveis na geração R2, duas linhas R3 apresentaram reação moderadamente suscetível à brusone nas folhas. As linhas R4 derivadas dessas duas linhas R3 segregaram para resistência parcial quando foram inoculadas com a raça virulenta IB-1. Foram identificadas nove e quatro linhas R4 provenientes das linhas R3 de ciclo médio e precoce, respectivamente, com alto grau de resistência parcial.

Palavras-chave: Cultura de tecidos, *Pyricularia grisea*, somaclones.

ABSTRACT

Somaclonal variation for partial resistance to blast in rice cultivar IAC-47

Somaclonal variation for resistance to rice blast was investigated in the R2, R3 and R4 progenies of regenerated plants (R1) derived from immature panicles of the susceptible rice cultivar IAC-47. Leaf blast reaction was assessed in the R2 plant population and R3 lines by challenging with a virulent race IB-1 of *Pyricularia grisea*, under controlled conditions in the greenhouse. The R2 plant population segregated to complete resistance and different degrees of susceptibility. The partial resistance of the R2 plants showing a moderately susceptible reaction was determined in R3 lines. A highly significant variation for partial resistance was ob-

served among R3 lines. Also, somaclonal variation was studied in 300 R2 plants and 160 R3 lines derived from individual R2 plants, under field conditions during the 1993-94 and 1994-95 rice growing seasons, respectively. While all plants were highly susceptible in the R2 generation, two R3 lines showed a moderately susceptible leaf blast reaction. The R4 lines derived from these two R3 lines segregated for partial resistance when inoculated with the virulent race IB-1. Nine medium maturing and four early maturing R4 lines with a high degree of partial resistance were identified.

INTRODUÇÃO

A cultivar de arroz de sequeiro IAC-47 ocupou a maior parte da área plantada na região Centro-Oeste por mais de uma década após seu lançamento em 1973, no Estado de São Paulo. Substituiu a cultivar IAC 1246 devido a melhoria nas características agrônômicas como resistência ao acamamento, tolerância à seca, alto potencial de produtividade e resistência à mancha estreita. Produtividade de 5,6 t/ha de

arroz foi obtida em experimento realizado com irrigação suplementar (Stone *et al.*, 1979). Os prejuízos causados por brusone, ou seja *Pyricularia grisea* (Cooke) Saccardo (Syn. *P. oryzae* Cav.), são significativos e geralmente limitam a produtividade. O percentual de perda estimada em IAC-47 devido à brusone nas condições experimentais foi 0,83 por um percento de aumento de brusone nas panículas (Prabhu *et al.*, 1989).

O melhoramento para resistência à brusone de uma cultivar de arroz de sequeiro bem adaptada às condições de solo e clima, como IAC-47, tem grande importância, porque a experiência tem demonstrado que os cruzamentos desta cultivar com genótipos doadores de resistência à brusone provenientes de arroz irrigado, resultaram na maioria dos casos, em características indesejáveis como mancha de grãos (Prabhu & Ferreira, 1991).

A variabilidade genética observada entre plantas regeneradas de cultura de tecidos é conhecida como variação somaclonal (Larkin & Scowcroft, 1981) e tem sido registrada em diversos cereais, inclusive arroz. Algumas características morfológicas e agrônomicas como coloração da arista do grão e apículo, altura, perfilhamento, tipo de planta, floração, peso de grãos e rendimento, obtidas por variação somaclonal, demonstraram ser herdáveis em arroz e a maioria das características são controladas por um ou poucos genes (Zong-Xiu *et al.*, 1983; Mandal & Bandyopadhyay, 1996). Muitas características quantitativas como tolerância a salinidade, toxidez de alumínio e tolerância a herbicida tem base celular (Adkins *et al.*, 1990).

A resistência às doenças é uma das características mais importantes encontrada na variação somaclonal em diversas culturas, inclusive arroz (Xie *et al.*, 1990; Mandal *et al.*, 1995). A observação geral é que a célula ou tecido de uma planta suscetível gera, em cultura, "in vitro" variações nas plantas regeneradas, exibindo respostas que variam de suscetíveis a níveis de resistência consistentemente maiores que as da planta original (Shepherd, 1990). A base genética, de modo geral, não foi separada das fontes potencialmente não genéticas da variação, mas a resistência é geralmente estável através de um número de ciclos vegetativos, nos casos de resistência às doenças, obtidos por variação somaclonal.

Um estudo anterior com variação somaclonal para resistência à brusone em arroz mostrou comportamento dos somaclones semelhante aos dos genótipos doadores sob condições de alta pressão de infecção no campo na Colômbia (Pachón, 1989). Por outro lado Bouharmont *et al.* (1991) obtiveram linhas R2 resistentes à brusone provenientes da cultura de calos obtida a partir de embriões maduros, nos testes realizados em Togo. Estudos recentes têm mostrado que a resistência proveniente da cultivar Newbonnet não foi tão alta quanto a da cultivar Katy, utilizada como padrão de resistência à brusone (Rush *et al.*, 1992). As discrepâncias nos resultados obtidos por diferentes investigadores podem ser atribuídas pelos genótipos utilizados, condições de teste e pressão de doença, sob os quais os somaclones foram avaliados.

Existem dois tipos de resistência à *P. grisea*. A resistência completa é controlada por um ou mais genes maiores mas não efetivos contra todas as raças do patógeno (Ou, 1979). Por outro lado a resistência parcial, caracterizada por tipo de infecção suscetível e baixa severidade de doença, tem sido considerada estável e quantitativa baseada em genes menores cujos efeitos são pequenos. (Parlevliet & Ommeren, 1975) A obtenção de variação genética no germoplasma para resistência parcial à brusone é importante no melhoramento genético do arroz de sequeiro. Na literatura consultada não

há referência quanto a indução de variação para resistência parcial nas plantas, através da cultura de células.

O presente trabalho teve como objetivo estudar a variação somaclonal nas plantas regeneradas a partir de calos obtidos de panículas imaturas para resistência à brusone, nas gerações iniciais da cultivar IAC-47.

MATERIAL E MÉTODOS

Indução de calos e regeneração de plantas

Os calos da cultivar IAC-47 foram iniciados utilizando-se como explantes panículas imaturas de 1 a 4 cm de comprimento com espiguetas de coloração branca ou levemente amarela. As bainhas, contendo panículas imaturas, foram coletadas de plantas cultivadas em vasos com 6 kg de solo, em casa de vegetação. Foram desinfestadas com 30% de uma solução comercial, contendo 1% de hipoclorito de sódio (NaOCl) durante 40 a 60 minutos. As panículas imaturas foram colocadas em placas contendo o meio MS com macro, micronutrientes e vitaminas (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com 30 g/l de sacarose, 50 mg/l de caseína hidrolisada e 4.0 mg/l de 2,4-D (Xie *et al.*, 1990) e incubado no escuro, por um período de 25 a 30 dias. A regeneração de plantas foi feita no meio MS suplementado com 0,5 mg/l de ANA e 3.0 mg/l de cinetina. As culturas foram mantidas em sala de crescimento a uma temperatura de 26°C com fotoperíodo de 16 horas e uma intensidade luminosa de 75 $\mu\text{E.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$. A cada 30 dias fez-se a repicagem para meios de igual composição anterior até obtenção de plântulas verdes.

A nomenclatura proposta por Yurkova *et al.* (1982) foi utilizada sendo R1 regenerantes primários, R2, R3 e R4, a primeira, segunda e terceira progênesis autofecundadas.

O transplante das plântulas R1 do meio de cultura para vasos se fez, quando estas apresentavam tamanho entre 10 a 15 cm de comprimento e com uma a duas folhas abertas. O solo (6 kg) em vasos foi adubado com 2,5 g de NPK (4-30-16) e 0,25g de FTE-BR12 por vaso. As plantas foram mantidas em casa de vegetação até a maturidade.

Determinação da resistência à brusone nas plantas R2 e resistência parcial nas linhas R3, em casa de vegetação

O experimento foi conduzido em bandejas medindo 30x10x15 cm contendo 6 kg de solo adubado com 5 g de NPK (4-30-16), 1 g de sulfato de zinco e 2 g de sulfato de amônio por ocasião do plantio. Foi feita uma adubação de cobertura, 20 dias após a semeadura com 2 g de sulfato de amônio. A população R2 foi representada por sementes colhidas de 50 plantas R1, cinco de cada, 200 plantas foram mantidas, tendo-se também o mesmo número de plantas não regeneradas para avaliação de brusone. Cada bandeja continha 10 sulcos com 10 plantas por sulco. Aos 22 dias de idade as 200 plantas R2 em duas bandejas com 100 plantas por bandeja foram inoculadas com suspensão de esporos em água com a raça IB-1 (isolado monospórico T1 proveniente da cultivar Tetep coletado em Goiânia, em 1990), numa concentração de 3×10^5 esporos/ml, utilizando-se um pulverizador Devilbiss Nº 15 ligado a um compressor com pressão padronizada a 0.001 Kg/cm². Após a inoculação, as plantas foram incubadas em câmara úmida por 24 horas, sendo pos-

teriormente transferidas para casa de vegetação com temperatura variando entre 25 e 29° C. As avaliações de brusone nas folhas foram feitas sete a nove dias após inoculação, utilizando o número de lesões elípticas e esporulativas no perfilho principal de cada planta e a escala visual de notas de 0 a 9, modificada por Leung *et al.* (1988), onde: 0=ausência de doença; 1=reação hipersensitiva ou lesões necróticas de coloração marrom; 3=poucas lesões pequenas, esporulativas com bordo de coloração marrom; 5=várias lesões elípticas, esporulativas, frequentemente coalescendo; 7=muitas lesões elípticas e esporulativas, tendo-se aproximadamente 50% da área foliar afetada; 9=muitas lesões coalescendo, causando morte parcial ou total das plantas. As plantas R2 selecionadas que apresentaram notas 3 e 7 foram transplantadas para vasos de 6 kg e mantidas até amadurecimento para colheita das sementes R3. Foram inoculadas 57 linhas R3 com dez plantas por linha e 60 plantas não regeneradas em três repetições, utilizando a mesma metodologia das plântulas R2.

A distribuição da frequência de plantas de acordo com número de lesões e notas visuais foi estudada em R2.

O índice de resistência parcial (IRP) foi calculado em R3 de acordo com Zadoks (1972), utilizando a seguinte fórmula:

$$IRP = 1 - \frac{SD(RG)}{RD(NRG)}, \text{ onde:}$$

SD(RG) = Severidade de brusone na planta regenerada

SD(NRG) = Severidade de brusone na planta não regenerada

O valor de IRP da linha varia de 0 a 1: 0<IRP<1. Quando IRP=0, a planta em teste não apresenta resistência parcial como as plantas não regeneradas e quando IRP=1, a planta apresenta resistência completa. Foi feita análise de variância entre os grupos e entre as linhas R3, dentro de cada grupo, utilizando-se os valores de IRP.

Variação somaclonal em condições de campo

As sementes regeneradas (R2) e não regeneradas foram semeadas em parcelas que consistiram de dez linhas de 1m de comprimento espaçadas de 0.4 m entre linhas que foram repetidas por três vezes em 1993/94. A população R2 foi representada por sementes colhidas de três plantas R1, 110 de cada totalizando 330. Foram mantidas 300 plantas, com dez plantas por metro. Uma bordadura infestante com mistura de cultivares suscetíveis foi estabelecida em cada bloco 30 dias antes do plantio para induzir a epidemia de

brusone. A brusone nas folhas foi avaliada utilizando-se a escala visual de notas descrita anteriormente.

Cerca de 160 linhas R3, obtidas de plantas R2, foram avaliadas em duas repetições, em 1994/95. As parcelas consistiam de 2 m de comprimento. A cultivar IAC-47 não regenerada foi intercalada a cada dez linhas de somaclones R3. A brusone nas folhas foi avaliada em R3, através da escala visual de notas.

Dois linhas R3, uma com 13 plantas R3 (grupo médio) e outra com 20 plantas (grupo precoce), totalizando 33 plantas que apresentaram nota 3, no campo, foram avaliadas também quanto ao número de panículas por planta e número de grãos por panícula. O número de panículas por planta foi avaliado em cada planta R3 e o número de grãos por panícula foi calculado a partir da média do número de grãos de duas panículas por planta. Nas plantas não regeneradas estas características foram avaliadas em dez plantas.

Determinação, em casa de vegetação, da resistência parcial de duas linhas R3 que apresentaram nota 3 no campo

As linhas derivadas das 33 plantas, dos dois grupos selecionados em R3, foram semeadas em bandejas, em três repetições. Este plantio foi feito em duas épocas, e a inoculação seguiu a metodologia descrita anteriormente. Na primeira época, as observações foram feitas utilizando-se a escala visual de notas e na segunda época foi utilizado o parâmetro de número de lesões suscetíveis por planta devido às diferenças de pressão da doença. Foi feita a correlação entre notas visuais e número de lesões por planta. O valor de IRP foi calculado, seguindo a mesma fórmula do primeiro experimento. Foi feita a análise de variância entre grupos e entre as linhas R4, dentro de cada grupo, utilizando-se os valores de IRP.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Determinação da resistência à brusone nas plantas R2 e resistência parcial nas linhas R3, em casa de vegetação

Os resultados das avaliações de brusone com a raça IB-1 de *P. grisea* das populações R2 e R3 são apresentados na Tabela 1. A nota média de brusone nas folhas das plantas R2 regeneradas foi significativamente menor que na testemunha. As plantas R3 derivadas de plantas R2 com nota 3 apresentaram significativamente menor nota média que a testemunha, por outro lado, as linhas R3 selecionadas de

TABELA 1 - Nota média de brusone nas folhas em condições artificiais de inoculação com raça IB-1 de *Pyricularia grisea* e coeficiente de variação nas populações R2 e R3 da cultivar IAC-47.

Identificação	Número total de plantas ¹	Nota média	Coefficiente de de variação (%)
Não regenerado (Tes. IAC-47, 1993/94)	100	4,00	39,0
Regenerado (R2)	100	2,78** ²	92,0
Não regenerado (Tes. IAC-47, 1994/95)	78	5,30	24,5
Regenerado - nota 3 (R3)	1064	4,80**	40,6
Regenerado - nota 7 (R3)	389	6,50**	20,0

¹ Número total de plantas avaliadas em duas e três repetições nas gerações R2 e R3, respectivamente.

² As médias seguidas por asteriscos diferem significativamente da testemunha não regenerada (IAC-47) em cada um dos anos, pelo teste t, no nível de probabilidade P<0,01.

plantas R2 com nota 7 mostraram nota média maior comparadas à testemunha. O coeficiente de variação em ambas as gerações foi mais alto que nas testemunhas, indicando alta variabilidade genética. A seleção de plantas com nota 3, na geração R2, manteve coeficiente de variação superior que as com nota 7, mostrando maior potencial para obtenção de plantas com resistência parcial.

A distribuição das plantas R2 em relação a notas de brusone e número de lesões suscetíveis e esporulativas por planta em inoculações artificiais com raça IB-1 são ilustradas na Figura 1. Alta porcentagem de plantas resistentes indicadas pelas notas 0 e 1 foi encontrada somente nas plantas regeneradas (Figura 1A). Todas as plantas não regeneradas mostraram reação suscetível variando de 3 a 7, sendo maior a porcentagem de plantas com nota 3, indicando suscetibilidade moderada. A distribuição das plantas regeneradas foi mais ampla variando de 0 a 9, inclinándose mais para o lado da resistência completa (0 e 1). Resultados semelhantes foram obtidos nas avaliações de brusone, utilizando número de lesões por planta como parâmetro. Entre 200 plantas regeneradas avaliadas 56% apresentaram reação resistente sem nenhuma lesão.

As linhas R3 provenientes de 39 plantas R2 individuais com nota 3 e 18 com nota 7 foram avaliadas para brusone nas folhas utilizando a raça IB-1. Todas as linhas R3 provenientes de plantas R2 com nota 7 mostraram reação altamente suscetível, entretanto, para as linhas provenientes de plantas R2 com nota 3, houve variação altamente significativa entre linhas R3 para resistência parcial. Entre 39 linhas R3, nove mostraram IRP=0, indicando ausência de

resistência parcial. As 30 linhas restantes (Figura 2) apresentaram grau de resistência parcial variável entre 0.01 a 0.38. Somente a linha de nº 3 diferiu significativamente de 14 linhas quanto ao nível de resistência parcial para raça IB-1 (Figura 2).

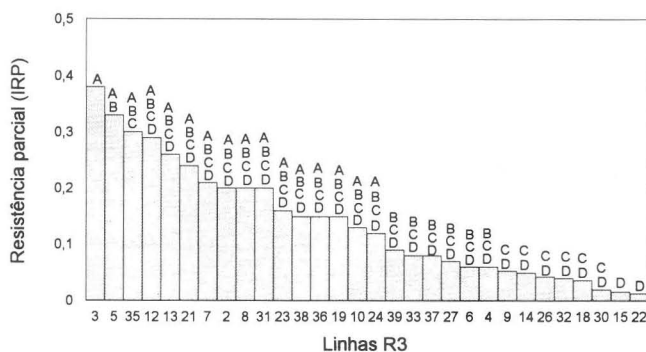


FIG. 2 - Somaclones de IAC-47 com resistência parcial proveniente de plantas R2 que apresentaram nota 3, em casa de vegetação. (IRP: índice de resistência parcial). Os números na abscissa indicam o número de cada linha. As médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste REGWQ. (As nove linhas que apresentaram valores de IRP=0 não foram incluídas na figura).

Estes resultados mostraram variações qualitativa e quantitativa nas plantas R2 para resistência à brusone. A determinação da resistência à brusone nas plantas R2 que apresentaram nota 3, feita através da inoculação com raça virulenta na geração R3, indicou que as plantas R2 foram a principal fonte da variação entre as linhas R3. No entanto a porcentagem de plantas com nota 3 foi relativamente menor comparado às resistentes, indicando possíveis mutações gênicas para resistência completa (Evans & Sharp, 1983). A base genética, de modo geral, não foi separada das fontes potencialmente não genética da variação, mas a resistência é geralmente estável através de um número de ciclos vegetativos, no caso de resistência às doenças obtidas através da variação somaclonal (Shepherd, 1990) e necessita ser estudada nas gerações seguintes. A população R2 estudada foi suficientemente grande para identificação de linhas R3 com resistência parcial.

Variação somaclonal em condições de campo

Todas as plantas regeneradas (R2) e não regeneradas apresentaram reação altamente suscetíveis indicada pela nota 7 (Tabela 2). As linhas R3 mostraram diferentes graus de suscetibilidade variando de 3 a 9, sendo maior as reações altamente suscetível (7 a 9). Somente duas linhas R3 uma de ciclo tardio e outra precoce apresentaram reação moderadamente suscetível nas folhas com nota 3.

Os resultados das avaliações do número de panículas por planta e número de grãos por panícula nas duas linhas R3 que apresentaram nota 3, no campo, são ilustrados na Figura 3. A variação para número de panículas por planta na geração R3 foi maior que nas plantas não regeneradas. Alta porcentagem de plantas com número de panículas por planta maior ou igual a 7 foi observada somente nas plantas rege-

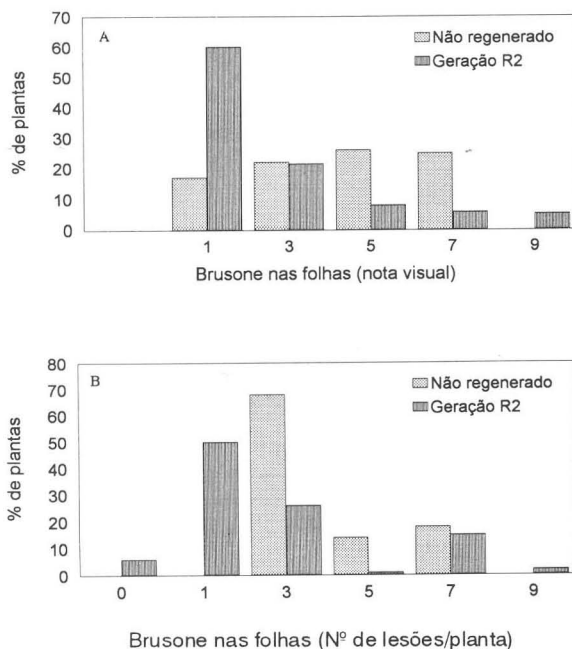


FIG. 1 - Frequência de plantas com diferentes graus de resistência à brusone nas folhas, A = nota e B = número de lesões por planta na cultivar IAC-47 em relação à raça IB-1, na geração R2, em casa de vegetação (Os valores do número de lesões por planta indicam o centro da classe).

TABELA 2 - Comportamento das plantas R2 e linhas R3 de IAC-47 em condições de campo em relação a brusone nas folhas.

Identificação	Porcentagem de plantas/linhas*			
	3**	5	7	9
Não regenerado (Tes. IAC-47, 1993-94)	-	-	100	-
Regenerado (R2)	-	-	100	-
Não regenerado (Tes. IAC-47, 1994-95)	-	-	100	-
Regenerado (R3)	1,2	3,8	40,6	54,4

* As porcentagens de plantas ou linhas que apresentaram reações classificadas como 3, 5, 7 e 9 foram baseadas em 100 plantas R2 e em 160 linhas R3 em duas repetições.

** Escala visual de notas.

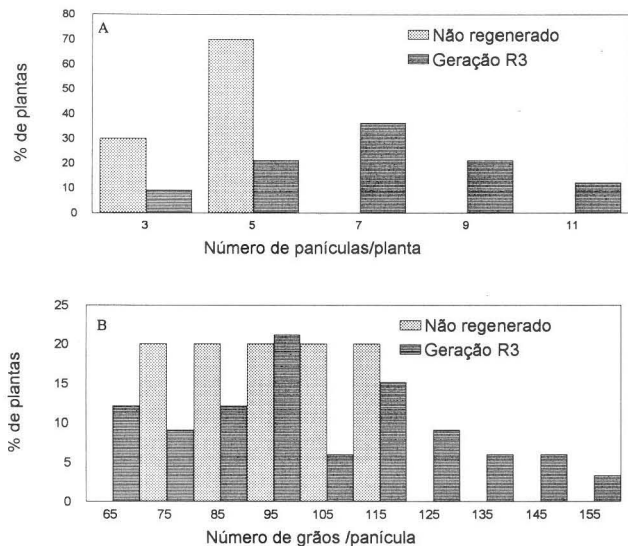


FIG. 3 - Distribuição das duas linhas R3 da cultivar IAC-47 em relação ao A = número de panículas por planta e B = número de grãos por panícula, no campo. Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey.

neradas. As comparações das plantas R3 com as não regeneradas mostraram a superioridade das plantas regeneradas quanto ao número de grãos por panícula. Cerca de 24,4% das plantas R3 mostraram maior número de grãos por panícula variando de 125 a 155.

Estes resultados sugerem que algumas das linhas R3 com resistência parcial, combinado com maior número de panículas por planta e maior número de grãos por panícula, poderia ter grande valor para o melhoramento genético. Outras características não consideradas neste trabalho como altura, qualidade e tipo de grão não foram alteradas. Futuros trabalhos requerem avaliação de somaclones que apresentaram resistência parcial para rendimento e qualidade de grãos.

Determinação, em casa de vegetação, da resistência parcial de duas linhas R3 que apresentaram nota 3 no campo

Os resultados do grau de resistência parcial das linhas R4 provenientes de uma linha R3 com ciclo médio e outra

linha R3 com ciclo precoce inoculadas com raça IB-1 em casa de vegetação são apresentados nas Figuras 4 e 5, respectivamente. Entre 13 linhas R4 proveniente da linha R3 de ciclo médio somente a linha de nº 3 diferiu significativamente quanto ao grau de resistência parcial de quatro linhas, considerando nota visual e número de lesões por planta (Figura 4). Nas linhas de ciclo precoce entre 20, somente uma apresentou resistência parcial significativamente maior do que sete linhas (Figura 5).

Os efeitos de genes epistáticos foram eliminados através da inoculação artificial para avaliação da resistência parcial. As duas linhas R3 que apresentaram nota 3 no campo

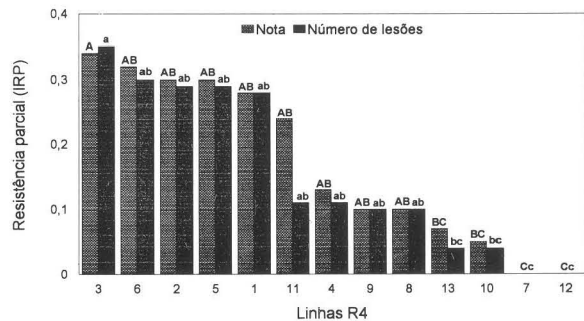


FIG. 4 - Grau de resistência parcial de somaclones R4 proveniente de uma linha de IAC-47, de ciclo médio que apresentou nota 3 no campo (resultados de teste em casa de vegetação). Os números na abscissa indicam o número de cada linha. Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey; letras maiúsculas para comparação quanto a notas visuais e letras minúsculas para comparação quanto ao número de lesões.

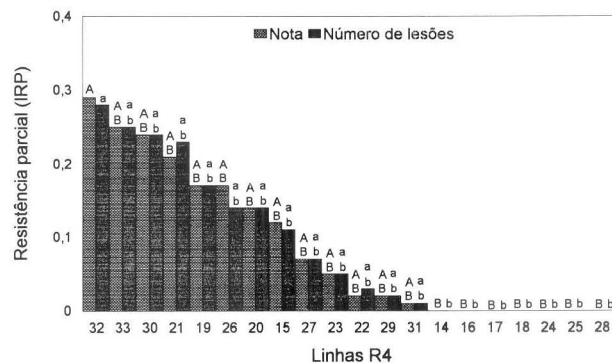


FIG. 5 - Grau de resistência parcial de somaclones R4 proveniente de uma linha de IAC-47, de ciclo precoce que apresentou nota 3 no campo (resultados de teste em casa de vegetação). Os números na abscissa indicam o número de cada linha. Médias seguidas da mesma letra, não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Tukey; letras maiúsculas para comparação quanto a notas visuais e letras minúsculas para comparação quanto ao número de lesões.

mostraram variação contínua de resistência parcial nas linhas R4 quando foram inoculadas com uma raça virulenta. As correlações entre notas visuais e número de lesões das plantas provenientes da linha tardia e precoce foram $r=0,92$ ($P<0,01$) e $r=0,99$ ($P<0,01$), respectivamente, indicando que a pressão da doença foi uniforme e adequada para determinação da resistência parcial. As linhas identificadas com alto grau de resistência parcial tem potencial quanto à sua durabilidade. Em geral as linhas R4 são fixadas e possivelmente com pouca ou nenhuma segregação. (Evans et al., 1984). Os resultados obtidos demonstraram o potencial do uso da cultura de tecidos na obtenção de somaclones com resistência parcial à brusone, provenientes de cultivar suscetível.

AGRADECIMENTOS

À CAPES pela bolsa de estudo concedida ao primeiro autor durante o curso, de pós-graduação em biologia, na Universidade Federal de Goiás, e ao CNPq pela bolsa de desenvolvimento regional.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADKINS, S.W.; SHIRAIISHI, T.; McCOMB, J.A.; RATANOPOL, S.; KUPKANCHANAKUL, T.; ARMSTRONG, L.J. & SCHULTZ, A.L. Somaclonal variation in rice submergence tolerance and other agronomic characters. *Physiol. Plant.* 80: 647-654. 1990.
- BOUHARMONT, J; DEKEYSER, A; SINT JAN, V.V. & DOGBE, Y.S. Application of somaclonal variation and in vitro selection to rice improvement. In: Rice genetics II. Manila, IRRI. 1991. p. 271-277.
- EVANS, D.A. & SHARP, W.R. Single gene mutation in tomato plants regenerated from tissue culture. *Science* 221: 949-951. 1983.
- EVANS, D.A.; SHARP, W.R. & MEDINA-FILHO, H.P. Somaclonal and gametoclonal variation. *American J. Bot.* 71:759-774. 1984.
- LARKIN, P.J. & SCOWCROFT, W.R. Somaclonal variation a novel source of variability from cell cultures for plant improvement. *Theor. Appl. Genet.* 60: 197-214. 1981.
- LEUNG, H.; BORROMEO, E.S.; BERNARDO, M.A. & NOTTENGHEN, J.L. Genetic analysis of virulence in the rice blast fungus *Magnaporthe griseae*. *Phytopathology* 78:1227-1233. 1988.
- MANDAL, A.B.; ANSARI, M.M.; SHARMA, T.V.R.S. & BANDYOPADHYAY, A.K. Somaclonal variation for disease resistance in indica rice. *Rice Biotechnology Quarterly*. 23:8-9.1995
- MANDAL, A.B.; BANDYOPADHYAY, A.K. Altered grain quality traits in Pokkali somaclones. *Rice Biotechnology Quarterly*. 27:21-22.1996.
- MURASHIGE, T. & SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays tobacco tissue culture. *Physiol. Plant.* 15: 473-479. 1962.
- OU, S.H. Breeding rice for resistance to blast a critical review. In: Proceedings of the rice blast workshop. Manila, IRRI. 1979. p.43-63, 81-137.
- PACHÓN, J.G. Evaluación del uso potencial de la variación somaclonal en el mejoramiento de algunos caracteres de importancia económica en el arroz (*Oryza sativa* L.). Bogotá, Facultad de Ciencias. 1989. 94p. Tese Graduação.
- PARLEVLIET, J.E. & OMMEREN, V.A. Partial resistance of barley to leaf rust *Puccinia hordei*. II. Relationship between field trials, microplot tests and latent period. *Euphytica* 24: 223-303. 1975.
- PRABHU, A.S.; FARIA, J.C. & ZIMMERMANN, F.J.P. Comparative yield loss estimates due to blast in some upland rice cultivars. *Fitopatol. bras.* 14: 227-232. 1989.
- PRABHU, A.S. & FERREIRA, R.P. Avaliação e seleção no melhoramento de arroz irrigado visando resistência à brusone e mancha parda. In: Reunión Sobre Mejoramiento de Arroz en el Cono Sur, 1989. Goiânia, Go. Montevideo: IICA. Trabajos. p.75-85.
- RUSH, M.C.; SEILHAN, K.P.; LINScombe, S.D.; OARD, J. & XIE, Q.J. Use of somaclonal variation for improved disease resistance in rice. In: 84th Annual Research Report of the Rice Research Station, Louisiana. 1992. Reports. p. 349-360.
- SHEPHERD, S.L.K. Seleção in vitro. In: Torres, A.C. & Caldas, L.S. Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas. Brasília, ABCTP/EMBRAPA-CNPq. 1990. p. 269-309.
- STONE, L.F.; OLIVEIRA, E.B. & STEINMETZ, S. Deficiência hídrica e resposta de cultivares de arroz de sequeiro ao nitrogênio. *Pesq. agrop. bras.* 14: 295-301. 1979.
- XIE, Q.J.; RUSH, M.C. & CAO, J. Somaclonal variation for a disease resistance in rice (*Oryza sativa* L.) In: Grayson, B.T.; Green, M.B. & Copping, L.G. Pest management on rice. London, Elsevier Applied Science. 1990. p. 491-509.
- YURKOVA, G.N.; LEVENKO, B.A. & NOVOZHILLOV, P.V. Plant regeneration in wheat tissue culture. *Biochem. Physiol. Pflanzen.* 177: 337-344. 1982.
- ZADOKS, J.C. Reflections on disease resistance in annual crops. In: Bingham, R.T.; Hoff, R.J. & McDonald, G.I. Biology of rust resistance in forest trees. Washington, U.S. Dep. Agric. For. Serv. Misc. Pub. 1221. 1972. p.43-63.
- ZONG-XIU, S.; CHENG-ZHANG, Z.; KANGE-LE, Z.; XIU-FANG, Q. & YA-PING, F. Somaclonal genetics of rice, *Oryza sativa* L. *Theor. Appl. Genet.* 63: 67-73. 1983.