



ANAIS
2022

Aloisio Alcantara Vilarinho
Organizador

Comissão Organizadora da XXXIII Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada

33ª Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada
Passo Fundo, 02 e 03 de agosto de 2022

ANAIS

Aloisio Alcantara Vilarinho
Organizador

Passo Fundo, RS
2023

Capa e diagramação
Aloisio Alcantara Vilarinho

Logo da capa
DZ Gráfica

Organização dos originais
Aloisio Alcantara Vilarinho

Publicação digital (2023)
PDF

1ª edição
PDF

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei no 9.610).

CIP – Dados Internacionais de Catalogação na Publicação

R444a Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada (33. : 2022 : Passo Fundo, RS)
Anais da XXXIII Reunião Nacional de Pesquisa de Cevada [Recurso eletrônico] /
Aloisio Alcantara Vilarinho, organizador. - Passo Fundo : Acervus, 2023.
6 MB ; PDF.

ISBN: 978-65-81266-67-7.

1. Cevada - Cultivo - Congressos. 2. Cultivos agrícolas. 3. Melhoramento genético.
I. Vilarinho, Aloisio Alcantara, org. II. EMBRAPA Trigo. III. Título.

CDU: 633.16

Catálogo: Bibliotecária Jucelei Rodrigues Domingues – CRB 10/1569

Observação:

A Comissão organizadora do XXXIII Congresso Nacional de Pesquisa de Cevada exime-se de qualquer garantia, seja expressa ou implícita, quanto ao uso destas informações técnicas. Destaca que não assume responsabilidade por perdas ou danos, incluindo-se, mas não se limitando, a tempo e dinheiro, decorrentes do emprego das mesmas, uma vez que muitas causas não controladas em agricultura podem influenciar no desempenho das tecnologias indicadas.

Comissão Organizadora

Presidente

Adriana Favaretto

Membros

Aloisio Alcantara Vilarinho

Noemir Antoniazzi

Promoção

Embrapa

Agrária

Ambev

Produção de linhagens duplo-haploides de cevada (DHC-2021) com perfil voltado para malte (cervejeira)

Sandra Maria Mansur Scagliusi¹ e Aloísio Alcântara Vilarinho²

¹Bióloga, Dra. em Ciências Biológicas, Pesquisador A, Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS; ²Engenheiro Agrônomo, Dr. em Genética, Pesquisador A, Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

Resumo – A produção de plantas duplo-haploides é metodologia largamente utilizada para acelerar programas de melhoramento e produzir novas cultivares. Esse processo é fortemente dependente do genótipo, afetando a resposta do número de linhagens produzidas. O objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta à androgênese de diferentes genótipos de cevada, originados do programa de melhoramento da Embrapa Trigo. Doze cruzamentos foram utilizados para o cultivo das anteras, resultando na obtenção de 333 linhagens homozigotas. Em avaliação prévia, feita na fase vegetativa, os cruzamentos mais responsivos foram: “BRS Kolinda x BRS Kalibre” e “BRS Itanema/Anag 01//BRS Korbel/Planet x Planet 37”, produzindo 4,43 e 3,14 plantas verdes por espiga, respectivamente. No entanto, após eliminação das plantas haploides, o cruzamento “Anag01 x PFC 2017037” se destacou também. Os genótipos mais responsivos ao processo da androgênese podem ser usados nos próximos ciclos para otimizar a produção de novas linhagens dentro dos programas de melhoramento.

Termos para indexação: *Hordeum vulgare* L., cultura de anteras, haploidização.

Introdução

A crescente demanda do mercado mundial de cevada e malte exige que programas de melhoramento genético sejam cada vez mais eficientes. No entanto, a criação e desenvolvimento de novas cultivares é um processo longo e complexo envolvendo diversas áreas do conhecimento. Utilizando-se de técnicas biotecnológicas, este processo pode ser acelerado/reduzido consideravelmente. A haploidização, via cultura de anteras ou micrósporos (androgênese), possibilita a obtenção de plantas inteiramente homozigotas em um único ciclo de produção de plantas. Outra vantagem significativa da adoção desta prática, é o aumento da eficiência de seleção, reduzindo o número de indivíduos necessários para a observação da característica em estudo (Islam e Tuteja, 2012; Hale et al., 2022). Além disso, a logística simplificada envolvida nas operações leva a economias de custos significativos a longo prazo, já que elimina a necessidade de manejar muitos ciclos de autofecundação (Jumbo, 2010; Hale et al., 2022). Essa metodologia, no entanto, tem uma forte limitação ligada ao genótipo, variando

sua resposta, de acordo com a genética dos parentais utilizados como plantas doadoras das anteras (Seguí-Simarro, 2010; Dwivedi et al., 2015; Ohnoutkova et al., 2019). O objetivo deste trabalho foi avaliar genótipos de cevada do programa de melhoramento genético da Embrapa Trigo, em resposta ao processo da androgênese.

Material e métodos

Doze genótipos de cevada, originados dos blocos de cruzamento foram avaliados: a) BRS Kolinda x BRS Kalibre; b) BRS Kalibre x BRS Farewell; c) BRS Kalibre x BRS Kolinda; d) BRS Kalibre x PFC 2018135; e) BRS Kalibre x PFC 2018144; f) Anag 01 x BRS Farewell; g) Planet x BRS Farewell; h) BRS Itanema/Anag 01//BRS Korbelt/Planet x Planet; i) Planet/BRS Cauê x Danielle; j) PFC 2017014 x BRS Cryst e k) PFC 2017017 x KWS Irina. Os ensaios foram assim conduzidos: a) plantio das plantas doadoras (F1), em ambiente com condições controladas, (câmaras de crescimento - Conviron) para que fossem mantidas livres de patógenos e pragas; b) coleta das espigas durante a fase Zadoks Z41 (Zadoks et al., 1974); c) pré-tratamento das espigas para indução da rota esporofítica dos micrósporos (submissão das espigas ao frio e escuro, durante 7-10 dias); d) plaqueamento das anteras em meio de cultura de indução “FHGA” (Kasha et al., 2001), com algumas modificações; e) incubação das placas por 21 dias no escuro à 23°C; f) transferência das plântulas para meio específico para enraizamento (Eudes et al., 2003); g) transferência das plantas para vermiculita, com período de uma semana para aclimação das plantas; h) seleção visual das plantas duplo-haploides espontâneas; i) tratamento das plantas haploides restantes com colchicina, j) colheita das sementes e k) avaliação final do rendimento de plantas por genótipo.

Resultados e discussão

Os genótipos de cevada avaliados no ciclo DHC-2021 apresentaram variados níveis de resposta frente ao processo da androgênese. A eficiência do processo é majoritariamente determinada pelo número de plantas verdes obtido por espiga plaqueada em meio de cultura (plantas verdes/espiga). Essa avaliação geralmente é feita em dois períodos distintos ao longo do processo: a) após a finalização da transferência de todas as plântulas obtidas *in vitro* para a vermiculita (análise prévia) e b) ao final do ciclo, quando a colheita das sementes é totalmente concluída (análise final), resultando em médias bem inferiores às da análise prévia. As avaliações preliminares são comumente feitas sobre o total de plantas verdes regeneradas e transferidas para a vermiculita, obtendo-se as médias para cada genótipo

avaliado. A segunda avaliação é, no entanto, feita após a exclusão de todas as plantas haploides (que não tiveram seu genoma duplicado) e após as perdas ocorridas durante o tratamento com colchicina para duplicação dos cromossomos (Han et al., 2021). Esse duplo sistema de avaliação é muitas vezes necessário, uma vez que, outros fatores, menos determinantes que o genótipo, também interferem no processo da haploidização, sendo esses, a capacidade de regeneração *in vitro* e a duplicação cromossômica (Pérez et al., 2019). Assim, durante a primeira avaliação, podemos conhecer os genótipos que responderam ao gatilho da androgênese, determinado pelo pré-tratamento das espigas (desvio da rota gametofítica), com formação de calos, embriões e plântulas. A segunda avaliação permitirá conhecer aqueles genótipos que além de responder ao processo da androgênese, também responderam aos fenômenos da totipotência e da duplicação cromossômica, podendo ser essa última característica induzida artificialmente. Nesse estudo, as respostas mais positivas (número de plantas verdes/espiga) foram preliminarmente observadas em “BRS Kolinda x BRS Kalibre” e “BRS Itanema/Anag 01//BRS Korbel/Planet x Planet 37”, produzindo médias de 4,43 e 3,14 plantas verdes por espiga, respectivamente. Na avaliação final, o mesmo cruzamento (BRS Kolinda x Kalibre) manteve a primeira posição, porém “Anag01 x PFC2017037” foi o segundo genótipo mais produtivo.

Considerações finais

Os genótipos mais responsivos ao processo da androgênese podem ser considerados para uso nos próximos ciclos de hibridização, visando otimizar a produção de novas linhagens dentro dos programas de melhoramento.

Referências

DWIVEDI, S. L.; BRITT, A. B.; TRIPATHI, L.; SHARMA, S.; UPADHYAYA, H. D.; ORTIZ, R. Haploids: constraints and opportunities in plant breeding. *Biotechnology Advances*, v. 33, p. 812–829, 2015.

EUDES, F.; ACHARYA, S.; LAROCHE, A.; SELINGER, L. B.; CHENG, K. J. A novel method to induce direct somatic embryogenesis, secondary embryogenesis, and regeneration of fertile green cereal plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, v. 73: 147–157, 2003.

HALE, B.; FERRIE, A. M. R.; CHELLAMMA, S.; SAMUEL, J. P.; PHILLIPS, G. C. Androgenesis-based doubled haploidy: Past, Present, and Future Perspectives. *Frontiers in Plant Science*, v. 12, p. 1-15, 2022.

HAN, Y.; BROUGHTON, S.; LIU, L.; ZHANG, X. Q.; ZENG, J.; HE, X.; LI, C. Highly efficient and genotype-independent barley gene editing based on anther culture. *Plant Communications*, v. 2, p. 1-23, 2021.

ISLAM, S. S; TUTEJA, N. Enhancement of androgenesis by abiotic stress and other pretreatments in major crop species. *Plant Science*, v. 182, p. 134-144, 2012.

JUMBO, M. B. Comparison of conventional, modified single seed descent, and doubled haploid breeding methods for maize inbred line development using GEM breeding crosses. Delaware: University of Delaware, 2010.

KASHA, J. K.; SIMION, E.; ORO, R.; YAO, Q. A.; HU, T. C.; CARLSON, A.R. An improved *in vitro* technique for isolated microspore culture of barley. *Euphytica*, v. 120, p. 379–385, 2001.

OHNOUTKOVA, L.; VLCKO, T.; AYALEW, M. Barley anther culture. In: Harwood W.A., editor. *Barley: Methods and Protocols*. *Methods in Molecular Biology*. Humana Press; New York, v. 1900, p. 37–52, 2019.

PÉREZ-PÉREZ, Y.; EL-TANTAWY, A. A.; SOLÍS, M. T.; RISUEÑO, M. C.; TESTILLANO, P. S. Stress-induced microspore embryogenesis requires endogenous auxin synthesis and polar transport in barley. *Frontiers in Plant Science*, v. 10, p. 1-16, 2019.

SEGUÍ-SIMARRO, J. M. Androgenesis revisited. *Botanical Review*, v. 76, p. 377–404, 2010.

ZADOKS, J. C.; CHANG, T. T.; KONZAK, C. F. A decimal code for the growth stages of cereals. *Weed Research*, v. 14, p. 415–421, 1974.