

ARROZ HÍBRIDO NA EMBRAPA ARROZ E FEIJÃO, PRÓXIMO A REALIDADE¹

Elcio Perpétuo Guimarães e Veridiano dos Anjos Cutrim²

RESUMO

Os trabalhos para desenvolver uma metodologia que permita produzir arroz híbrido foram iniciados em 1984 na Embrapa Arroz e Feijão. A base é o método chinês, que utiliza três linhas (uma com macho-esterilidade genético-citoplasmática, uma mantenedora e outra restauradora). O objetivo deste documento é descrever essa metodologia, relatar alguns resultados e indicar as ações futuras. O método consta de um teste de restauração que possibilita identificar materiais capazes de restaurar a fertilidade das linhas macho-estéreis com citoplasma WA. Linhas mantenedoras são esterilizadas através de retrocruzamento para materiais com o citoplasma WA. A Embrapa desenvolveu sua primeira linha macho-estéril, a 046I, em 1994, e possui várias outras em fase final de avaliação. O uso do melhoramento populacional está permitindo gerar populações fontes de linhas mantenedoras e restauradoras; este ano foi completado o primeiro ciclo de seleção. Apesar desses resultados alentadores, a solução do maior problema ainda está em estágio inicial, que é a produção de sementes híbridas em escala comercial. Por isso sua pesquisa deve ser intensificada. Também faz parte dos planos futuros a utilização de ferramentas biotecnológicas para auxiliar no processo de identificação de restauradores e de combinações heteróticas. A parceria com o setor privado deve ser buscada para que esse futuro se materialize mais rapidamente.

1 INTRODUÇÃO

Este trabalho teve início em 1984, quando o CNPAF, hoje Embrapa Arroz e Feijão, associou-se ao então IRAT, hoje "Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement, Département des cultures annuelles" (CIRAD-CA), para estudar a utilização de híbridos de arroz como alternativa para obter materiais com maior tolerância à seca, para plantio no ecossistema de terras altas. Nos anos oitenta, o desenvolvimento de germoplasma de arroz com tolerância à seca estava entre as prioridades do programa da Embrapa. A busca de caminhos para resolver esse problema orientou os trabalhos com os híbridos por uns três ou quatro anos, quando os pesquisadores envolvidos no projeto chegaram à conclusão de que o maior potencial de utilização da técnica estava no ecossistema de várzeas com irrigação controlada.

¹ Trabalho apresentado na VI Reunião Nacional de Pesquisa de Arroz (VI Renapa), realizada em Goiânia, Goiás, de 9 a 13 de março de 1998.

² Pesquisadores da Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, 75375-000 Santo Antônio de Goiás-GO, Brasil. Correio eletrônico do primeiro autor: eguimara@cnpaf.embrapa.br; apoiado pelo CNPq.

Essa mudança de rumo ocorreu porque, para os agricultores que cultivam o arroz em condições de várzeas e que controlam a lâmina de água, o potencial de rendimento das cultivares disponíveis já estava apresentando sinais de que havia alcançado um platô para a característica rendimento de grãos e que outras alternativas para incremento dos rendimentos se faziam necessárias. Além disso, quando se iniciou este trabalho o nível tecnológico utilizado pelos produtores que cultivavam o arroz no ecossistema de terras altas era inferior aos que trabalhavam no ecossistema de várzeas. Também, para as condições de várzeas não havia outra alternativa agrícola que não fosse o cultivo do arroz, isso fazia com que o agricultor estivesse disposto a investir em tecnologia para obter bons resultados de seus cultivos. A premissa para pensar nos híbridos era de que uma alternativa para aumentar rendimentos como esta, com um custo mais elevado para adquirir as sementes, poderia ser absorvida mais facilmente por esse tipo de agricultor. Essas foram algumas das razões que levaram os pesquisadores a redirecionar seus trabalhos com arroz híbrido. Hoje pode-se adicionar a esses pontos os estudos que mostram a estreita base genética das cultivares utilizadas no ecossistema (Rangel et al., 1996) e os pequenos ganhos em produtividade oriundos dos programas de melhoramento genético (Breseghello, 1995; Soares, 1992).

A técnica para desenvolver o arroz híbrido é uma descoberta chinesa, que data de 1964. O primeiro híbrido comercial apareceu em 1976 (Yuan e Virmani, 1988a), entretanto, a detecção do fenômeno da heterose em arroz foi reportada por Jones (1926), meio século antes. O problema técnico para a exploração comercial de híbridos de arroz, anterior ao trabalho desenvolvido pelos chineses, residia na falta de um sistema para produção de sementes, ou seja, a ausência de componentes genéticos essenciais ao processo como a macho-esterilidade genético-citoplasmática e linhagens mantenedoras e restauradoras (Yuan e Virmani, 1988). Os chineses viabilizaram essa técnica quando descobriram na natureza, uma planta silvestre da espécie *Oryza sativa* L. f. *spontanea* com o citoplasma macho-estéril, a qual denominaram “wild abortive” ou WA (Lin e Yuan, 1980).

O arroz cultivado, segundo mostrou Beachell et al. (1938), é um planta essencialmente de autopolinização. Para pensar na utilização de híbridos deve-se buscar uma maneira de esterilizar o pólen sem afetar os órgãos reprodutores femininos. Portanto, o princípio básico dessa técnica reside em utilizar um sistema de macho-esterilidade com herança genético-citoplasmática e a presença do gene de restauração da fertilidade.

A metodologia utilizada pelos chineses, e seguida no trabalho da Embrapa, requer a participação de três linhas com funções distintas e complementares. A **linha A** é aquela que possui o citoplasma macho-estéril (produzem grãos de pólen estéreis); a **linha B**, com características agronômicas similares à linha A, tem a capacidade de polinizá-la mantendo sua esterilidade, portanto é necessária para a produção de sementes da linha A; e a **linha R**, é aquela que restaura a fertilidade da linha A e possibilita produzir as sementes híbridas que serão comercializadas aos agricultores. Cabe ressaltar que atualmente a pesquisa está enfatizando o uso do método das duas linhas, onde são utilizadas como indutores da macho-esterilidade a termo ou a foto sensibilidade genética (Lu et al., 1994), com isso elimina-se a

necessidade da linha B, além do que se abre a possibilidade de utilização de qualquer linha fértil como progenitor masculino na produção de híbridos, aumentando as chances de obtenção de híbridos heteróticos. A Tabela 1, apresentada por Yuan and Fu (1995), resume a constituição genética de cada uma dessas três linhas.

Tabela 1. Constituição genética das três linhas requeridas para a produção de híbridos de arroz.

Linha	Nomeclatura	Gene do citoplasma ¹	Gene nuclear ²	Fertilidade do pólen
A	Macho-estéril	S	rr	Estéril
B	Mantenedor	N	rr	Fértil
R	Restaurador	N ou S	RR	Fértil
A x R	Híbrido ou F ₁	S	Rr	Fértil

¹ S = citoplasma macho-estéril e N = citoplasma macho fértil

² r = gene nuclear que não restaura a fertilidade e R = gene nuclear restaurador da fertilidade

Adaptado de Yuan and Fu (1995)

As etapas seguidas e os problemas detectados para o desenvolvimento dessas três linhas são descritos na literatura (Lin e Yuan, 1980; Yuan e Virmani, 1988b). Todavia, o ponto restritivo para a utilização da técnica em países diferentes da China, é o sistema de produção de sementes, que requer muita mão-de-obra. A descrição da técnica chinesa de produção de sementes pode ser obtida na publicação preparada por Virmani e Sharma (1993). Rendimentos inferiores a 1,5 ton/ha de sementes híbridas, fazem com que o custo das sementes não apresente atrativos econômicos ao agricultor e aos produtores de sementes.

Como uma das limitantes para a adoção dos híbridos de arroz no Brasil e em outros países, é o custo das sementes, este trabalho concentra esforços na busca de alternativas que, de uma maneira ou outra, baixassem o custo de produção das sementes. Partindo dessa premissa e conhecendo a experiência francesa em trabalhar com a espécie selvagem *Oryza longistaminata* (Taillebois, 1983), buscou-se introduzir na espécie cultivada *Oryza sativa* alguns características alogâmicas da silvestre (estigma e anteras longos). O objetivo dessa estratégia foi aumentar a taxa de alogamia das linhas A desenvolvidas através deste trabalho e, conseqüentemente, diminuir as necessidades de mão-de-obra para a produção das sementes híbridas (Taillebois e Guimarães, 1988). Breseghello e Neves (1995) obtiveram resultados que indicaram um incremento na taxa de polinização cruzada nas linhas com características alogâmicas.

O objetivo deste documento é descrever a estratégia utilizada pela Embrapa para desenvolver híbridos de arroz adaptados ao ecossistema de várzeas brasileiro. Além disso, pretende-se relatar os resultados mais relevantes e indicar os planos para o futuro.

2 TESTE DE RESTAURAÇÃO

O objetivo deste teste é identificar materiais que possuam o gene de restauração da fertilidade, os quais, quando cruzados com linhas macho-estéreis, produzem acima de 85% de fertilidade (sementes híbridas). Além disso, estes devem apresentar características agrônomicas compatíveis as exigências dos agricultores. Para realizar o teste de restauração, é necessário dispor de pelo menos uma linha A, seja ela introduzida ou gerada pelo próprio trabalho.

Para facilitar as tarefas desta etapa, é importante que o trabalho de desenvolvimento dos híbridos esteja associado a um programa de melhoramento de linhas puras, pois ele será a fonte de materiais para as avaliações. Outra alternativa para obter tais materiais é que o projeto tenha um componente forte de produção de linhagens restauradoras e mantenedoras com caracteres agronomicamente desejáveis, como parte dos trabalhos de geração de híbridos.

Nos trabalhos conduzidos pela Embrapa, o teste de restauração é feito utilizando-se os melhores materiais disponíveis nos programas de melhoramento existentes no País. Para isso, utilizam-se as linhagens avançadas ou aqueles materiais que estão prontos para lançamento e que possuam genes de resistência às principais pragas e doenças da região, que tenham as qualidades requeridas pelo mercado e que sejam agronomicamente aceitos pelo setor produtivo.

A avaliação é realizada obedecendo à seguinte metodologia: três ou quatro plantas de cada linhagem são cruzadas com um testador macho-estéril (linha A) para determinar a capacidade da linhagem em restaurar a fertilidade ou manter a esterilidade. Esse testador possui citoplasma estéril WA e não apresenta gene para a restauração. A utilização de mais de uma planta para representar cada linhagem no cruzamento esta baseada em que uma linha elite pode segregar para o gene de restauração. Esta alternativa foi muito utilizada no início dos trabalhos, quando não se conhecia muito do comportamento dos materiais. Hoje prefere-se avaliar somente uma planta de cada linhagem e um maior número de linhagens, principalmente porque os materiais são reavaliadas, quando se comportam como mantenedoras (fontes para esterilização e produção de novas linhas macho-estéreis).

As sementes híbridas produzidas nesses cruzamentos são plantadas acompanhadas do progenitor macho-fértil (linhagem em teste) e da testemunha local. No início deste trabalho, a Embrapa usou como testador a linha chinesa Zhen-Shan 97A e, a partir de 1994, a linhagem O46I, desenvolvida dentro deste projeto. Quando o resultado desse cruzamento foram plantas com esterilidade entre 95 e 100%, considerou-se o progenitor masculino como um mantenedor em potencial, ou seja, não possui o gene para a restauração, embora

o citoplasma seja fértil. A condição oposta, onde se encontraram plantas com fertilidade maior que 85%, isso indicou que o progenitor masculino foi um restaurador para a linhagem macho-estéril utilizada no teste (portadora do gene de restauração).

Durante a condução dos trabalhos, esses materiais foram plantados na Estação Experimental Palmital (EEP), município de Brazabrantes, Goiás, utilizando-se dez sementes F_1 de cada uma das plantas cruzadas com as linhas Zhen-Shan 97A ou 046I. Essas plantas, nos últimos quatro anos, originaram-se de linhagens selecionadas do Ensaio de Observação de Arroz Irrigado. A metodologia utilizada constou de uma linha de 1,5 a 3,0 metros, sendo que ao lado de cada F_1 plantou-se a linhagem doadora de pólen correspondente (linhagem em teste).

Fez-se a avaliação da esterilidade observando-se o comportamento das anteras e do pólen e correlacionando com uma escala de seis graus. A definição de cada grau apresenta-se a continuação:

- “-” esterilidade máxima dos grãos de pólen, com anteras atrofiadas;
- “=” esterilidade máxima dos grãos de pólen, com anteras normais;
- “O” as anteras possuem grãos de pólen mas não os liberam para a polinização;
- “O+” as anteras possuem grãos de pólen mas liberam menos de 50% para a polinização;
- “O++” as anteras possuem grãos de pólen e liberam mais de 50% para a polinização; e
- “+” normal.

Recentemente, decidiu-se simplificar essa escala, visto que na prática somente interessam aqueles materiais que restaurem a fertilidade ou que mantenham a esterilidade, todas as classes intermediárias são descartadas. Outro componente importante nesse teste é a ratificação das observações de campo em condições de laboratório, através da análise dos grãos de pólen ao microscópio. Somente se analisa o grão de pólen daquelas plantas que apresentarem esterilidade total no campo. Isso é feito para determinar se a esterilidade é originária dos grãos de pólen ou de outro fator externo.

Os resultados obtidos com este trabalho, apresentados na Tabela 2, mostram que, no período de 1988 até 1997, foram avaliadas 1240 linhagens das quais 355 (28,6%) comportaram-se como restauradoras da fertilidade e 52 (4,2%) como mantenedoras da esterilidade para o citoplasma WA. Para efeito de comparação com outros trabalhos, no “International Rice Research Institute” (IRRI), na Filipinas, cerca de 20% das variedades e linhas avançadas avaliadas possuem o gene de restauração (Yuan e Virmani, 1988a).

Como se observa, existe uma dificuldade para identificar linhagens que mantêm a esterilidade. Somente 52 das avaliações resultaram em linhas mantenedoras, das quais 17 foram no primeiro ano, quando se buscaram no banco de germoplasma da Embrapa Arroz e Feijão materiais de diversas origens, sem preocupar-se com as características agronômi-

cas requeridas pelos agricultores. Atualmente a estratégia utilizada é a de testar todas as linhagens selecionadas dos ensaios de observação das Comissões Técnicas Regionais de Arroz (CTArroz), que devem ser os melhores materiais gerados pelos diferentes programas de melhoramento do País.

Tabela 2. Linhas restauradoras e mantenedoras identificadas pelo trabalho da Embrapa Arroz e Feijão no período 1988-97.

Ano de cruzamento-avaliação	Linhas mantenedoras		Linhas restauradoras		Total avaliado Nº
	Nº	%	Nº	%	
1988-89	17	5,3	54	16,8	321
1989-90	14	20,3	3	4,3	69
1990-91	1	2,7	21	56,7	37
1991-92	10	6,2	22	13,7	161
1992-93	3	13,6	1	4,5	22
1993-94 ¹	4	4,1	30	30,6	98
1994-95 ¹	0	0	168	67,2	250
1995-96 ¹	3	2,2	44	31,2	138
1996-97 ¹	0	0	12	8,3	144
Total	52	4,2	355	28,6	1240

¹ Linhas incluídas no Ensaio de Observação de Arroz Irrigado da CTArroz.

Os resultados obtidos com a avaliação das 1240 linhagens indicaram que mais de 67% dos materiais não foi classificado como restaurador ou mantenedor, por possuir um comportamento intermediário. Isso pode ser explicado pelos resultados encontrados por Govinda-Raj e Virmani (1988), que descreveram que a característica é oligogênica.

O maior problema para aumentar a eficiência do trabalho é a baixa presença de linhagens mantenedoras no germoplasma avaliado. Essas linhas são utilizadas como germoplasma base para a transferência das características de alogamia e do citoplasma macho-estéril, portanto, é fundamental ter um bom número delas para desenvolver novas linhas A. Além disso, como o híbrido é originário da combinação entre as linhas A e R, é

importante a presença de um número significativo de materiais mantenedores, pois sabe-se que quanto maior a distância genética entre linhas A e R, maior deve ser a heterose (Virmani, 1994).

Para tentar resolver esse problema, está sendo iniciada a estratégia de gerar linhagens mantenedoras através do cruzamento e manejo de gerações segregantes. Para isso, linhagens mantenedoras são cruzadas entre si e, nas gerações segregantes, a pressão de seleção é para características agronômicas e a ausência do gene de restauração. O mesmo processo está sendo seguido para desenvolver linhas restauradoras.

3 DESENVOLVIMENTO DE LINHAS A E B

Como mencionado anteriormente, a estratégia utilizada nos trabalhos da Embrapa Arroz e Feijão inicia suas atividades incorporando características de alogamia nas linhagens que serão submetidas à esterilização para produção de linhas macho-estéreis. Para isso, utiliza-se o vetor de alogamia desenvolvido em colaboração com o CIRAD-CA, através do cruzamento entre *Oryza longistaminata*. A. Chev. e *Oryza sativa* L. O vetor que se utiliza é a linha #2RI (032G-98-1-5-1-1-1), melhorada a partir da combinação IR13540-56-3-2 e #24Z, onde o #24Z é o vetor original.

O processo foi iniciado utilizando-se dois retrocruzamentos para a mantenedora, mas a experiência mostrou que não somente se estava perdendo tempo com o segundo retrocruzamento, mas também que as plantas F_1RC2 resultantes apresentavam uma baixa segregação para caracteres de alogamia. Esses resultados fizeram com que se alterasse a estratégia e se passasse a utilizar somente um retrocruzamento. Uma vez obtidas as plantas F_2RC1 , iniciava-se a seleção para estigma longo.

Os procedimentos experimentais seguidos iniciaram-se com o plantio da geração F_2RC1 na EEP, em condições de irrigação controlada, e a ênfase na seleção é para características de alogamia. Na geração seguinte (F_3RC1), as populações segregantes são plantadas na EEP, mas desta vez em condições de sequeiro favorecido, para aumentar a pressão de doenças. Nessa etapa, a prioridade é selecionar para características de alogamia. Esse é o momento em que se inicia a escolha de plantas agronomicamente interessantes aos objetivos do trabalho.

A geração F_4RC1 é conduzida na EEP, em condições de irrigação controlada. Como nessa fase todas as plantas já devem possuir o estigma longo, a ênfase é para os caracteres agronômicos. As melhores plantas são escolhidas para iniciar o processo de transferência do citoplasma macho-estéril. Selecionam-se entre 20 e 50 plantas F_4RC1 e suas panículas são levadas à Estação Experimental Capivara (EEC) para cruzamentos com o doador de citoplasma. No início dos trabalhos, utilizava-se a linha Zhen-Shan 97A, mas recentemente utiliza-se a 046I.

A etapa seguinte deste trabalho requer um volume significativo de cruzamentos que devem ser efetuados em cada geração. Neste trabalho, essa etapa é conduzida na casa de vegetação ou no telado na EEC. Entretanto, seria ideal que esse trabalho pudesse ser

realizado próximo ao campo experimental. Para isso, seria necessário dispor de uma estrutura mínima para executar os cruzamentos em condições protegidas (um telado) e utilizar a técnica proposta por Sarkarung (1991).

O processo requer que as flores das plantas F_1 estéreis, originárias do cruzamento entre as plantas F_4RC1 e o doador de citoplasma, sejam polinizadas pelo pólen das plantas da geração F_5RC1 : isso é considerado um retrocruzamento. Em termos genéticos, essa denominação não é correta, pois as plantas F_1 são retrocruzadas com plantas selecionadas e autofecundadas da geração F_5RC1 (ver Figura 1). Para a obtenção de linhas macho-estéreis, esse processo deve ser repetido por varias gerações (cinco ou seis). O resultado

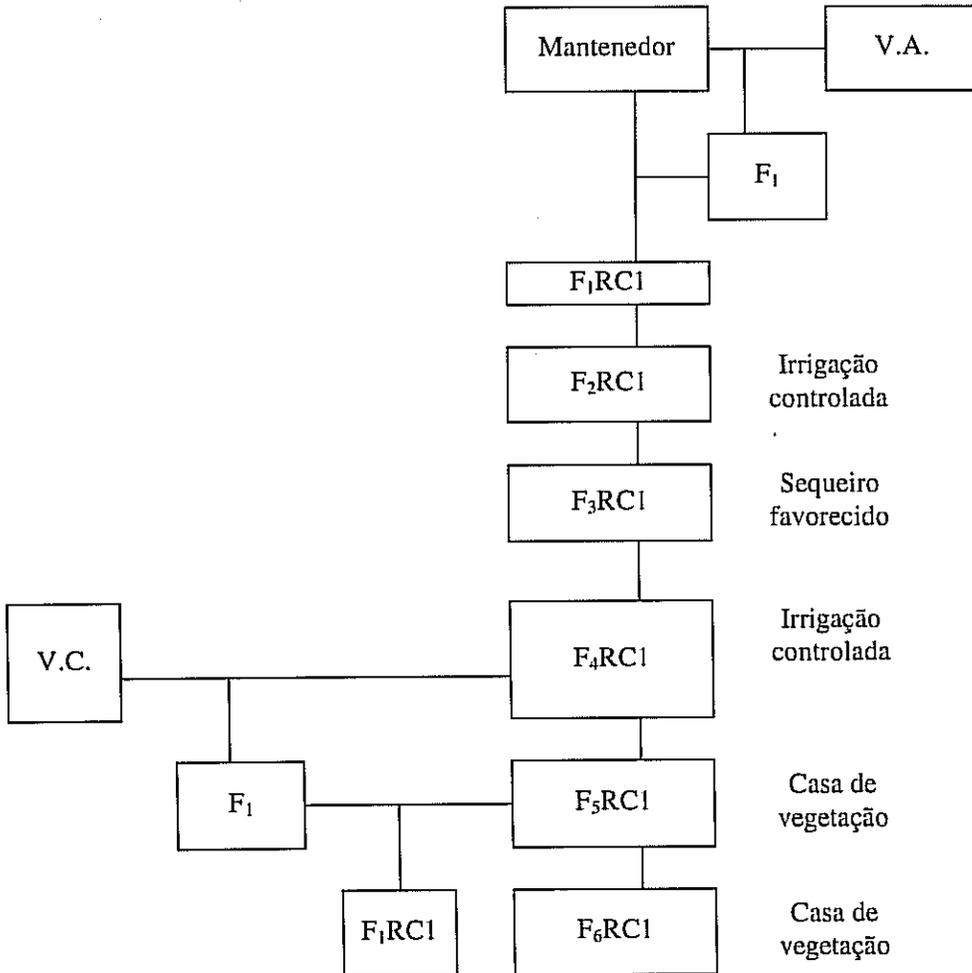


Fig. 1. Esquema de desenvolvimento de linhas A y B para produção de híbridos de arroz.

V.A. = vetor de alogamia; V.C. = vetor de citoplasma

final são plantas totalmente estéreis (novas linhas A), similares ou melhores que o mantenedor utilizado no processo de retrocruzamento e plantas com capacidade de manter a esterilidade (linha B) que provém de autofecundações.

A descrição resumida do processo, que foi apresentada neste item, tem como objetivo informar as etapas seguidas no processo. Entretanto, não se pretende transmitir a idéia de que o processo é simples. Na prática, a cada geração são realizados inúmeros cruzamentos que não apresentam resultados positivos (ausência de esterilidade, segregação para fertilidade, caracteres agrônômicos indesejáveis, etc). Além disso, depois de desenvolvida uma linha macho-estéril, deve-se avaliá-la em diferentes condições ambientais para determinar a estabilidade dessa esterilidade.

A Embrapa Arroz e Feijão utilizou essa metodologia para obter a linha 046I, que está sendo utilizada amplamente no trabalho. Foram necessários cinco retrocruzamentos para desenvolver essa linha A e sua correspondente B (*2RF). Atualmente, dispõe-se de um grupo de linhas em etapa de multiplicação de sementes para os testes de estabilidade da esterilidade, os quais devem ser realizados no ano agrícola 1998/99. Essa etapa é bastante trabalhosa e requer muito recurso. O IRRI, no período 1980 a 1988, com um grande investimento produziu 40 linhas A, das quais somente três possuem as características requeridas para a produção de híbridos comerciais (Virmani et al., 1991).

4 SELEÇÃO RECORRENTE RECÍPROCA

Como uma das alternativas para desenvolver linhas macho-estéreis e restauradoras mencionou-se, no item anterior, a utilização de cruzamentos e manejo de gerações segregantes. Este tópico também abordará o desenvolvimento desses tipos de linhas, mas com a perspectiva do melhoramento populacional, ou seja, buscar-se-á produzir populações que serão utilizadas como fonte de material genético para obter linhas macho-estéreis e linhas restauradoras.

Obviamente, em se tratando da metodologia de melhoria de populações, a perspectiva de obtenção de resultados está enfocada a médio e longo prazos. A estratégia utilizada neste trabalho está baseada na seleção recorrente recíproca, através da qual são desenvolvidas duas populações heteróticas para as características de interesse (rendimento e qualidade de grãos, resistência a doenças e pragas, etc). Uma das populações é fonte de linhas mantenedoras para o citoplasma estéril WA e possui características de alogamia; esta será utilizada como fonte de linhas A e B. A outra população será utilizada como fonte de linha R para a restauração da fertilidade.

O início do trabalho foi a identificação de progenitores de ampla base genética e com as características desejadas. Esse germoplasma foi utilizado para compor duas populações contrastantes, a CNA 2M, mantenedora, e a CNA 3R, restauradora. Para facilitar o processo de polinização cruzada, foi introduzido o estigma e a antera longos na população mantenedora.

O processo foi iniciado em 1993/94 com o plantio da população CNA.3R/0/2, onde foram identificadas 700 plantas macho-estéreis, das quais selecionaram-se 300. Os critérios de escolha das plantas foram a produção de sementes e a altura de planta maior que 100 cm. A etapa seguinte foi o plantio do ano agrícola 1994/95. Nesse ano, a seleção foi enfocada na escolha de plantas entre e dentro das linhas obtidas em 1993/94, foram escolhidas 150 linhas e 2 plantas em cada uma. Processo similar foi executado com a população CNA 2M/1/0, entretanto o critério de seleção foi plantas de menor altura.

No ano agrícola 1995/96 essas 300 linhas de cada população foram plantadas na EEP, ao redor de cada entrada foi plantada uma linha da população recíproca. Isso foi feito para produzir as famílias de meio-irmãos para a avaliação. Em realidade, esses números foram os utilizados para o planejamento do trabalho, mas na prática somente foi possível obter 211 famílias meio-irmãs da população restauradora e 78 da mantenedora.

Tabela 3. Linhas A e B introduzidas no projeto de arroz híbrido conduzido pela Embrapa Arroz e Feijão desde de seu início em 1984.

Número de entradas	Linhas		Ano de introdução
	A	B	
1	Zhen-Shan 97A	Zhen-Shan 97B	1985
2	Er-Jui-Nan 1A	Er-Jui-Nan 1B	1985
3	V41A	V41B	1985
4	WU10A	WU10B	1985
5	Yar Ai Zhao A	Yar Ai Zhao B	1985
6	MS577A	MS577B	1985
7	MS519A	MS519B	1985
8	Pankari 203A	Pankari 203B	1985
9	IR58025A	IR58025B	1992
10	IR62829A	IR62829B	1992
11	IR64608A	IR64608B	1992
12	IR68886A	IR68886B	1995
13	IR68888A	IR68888B	1995
14	IR68891A	IR68891B	1995
15	IR68887A	IR68887B	1995
16	IR68275A	IR68275B	1995
17	IR68890A	IR68890B	1995
18	IR68281A	IR68281B	1995

Obtidas as famílias de meio-irmãos, no ano agrícola seguinte, foram realizadas as avaliações de rendimento de grãos. Os 211 materiais restauradores (CNA 3R/0/2) produziram entre 4987 e 10683 kg/ha, as testemunhas (Javaé e Metica 1) colocaram-se no extremo inferior desses rendimentos, e a média geral foi de 7180 kg/ha. A seleção foi baseada no rendimento de grãos, mas quando havia duas famílias originárias de plantas irmãs e com bom comportamento, somente uma foi escolhida. Como resultado final, obtiveram-se 77 famílias.

Para as famílias com capacidade de manutenção, os rendimentos de grãos variaram entre 4852 e 9177 kg/ha, com média de 6649 kg/ha. Neste ensaio, as testemunhas Metica 1 e Javaé produziram 3744 e 6886 kg/ha, respectivamente. Para a seleção foram observadas, além do rendimento, a reação à brusone no campo e a altura de planta. Como resultado dessa etapa, obtiveram-se 28 famílias.

A etapa seguinte nesse processo foi a recombinação das plantas selecionadas, através do plantio e colheita das plantas macho-estéreis da população nas instalações do Campo de Apoio a Pesquisas e Desenvolvimento do Tocantins (CAPDT). Essa etapa ocorreu em julho de 1997. Para tal foram utilizadas as sementes remanescentes das plantas usadas para a composição das famílias de meio-irmãos. A experiência adquirida neste primeiro ciclo de seleção permitirá fazer alguns ajustes na metodologia, principalmente na etapa de produção das famílias de meio-irmãos, que foi o ponto de estrangulamento do trabalho.

5 RESULTADOS

5.1 Desenvolvimento de linhas Macho-estéril

A existência de linhas macho-estéreis é essencial para a produção de híbridos de arroz. Há pelo menos três maneiras para que um projeto obtenha esse tipo de germoplasma: a) introdução dessas fontes de outros projetos; b) desenvolvimento de linhas macho-estéreis, através da transferência da esterilidade genético-citoplasmático a outros materiais e c) criação de novos citoplasmas macho-estéreis.

A Embrapa Arroz e Feijão concentra seus trabalhos nas duas primeiras alternativas. Desde o início do projeto foram introduzidas 18 linhas macho-estéreis (Tabela 3), principalmente através do IRR. Somente algumas foram úteis ao projeto, por exemplo, a IR58025A, introduzida em 1992, foi e continua sendo a mais utilizada.

Em 1988, a linhagem IR13540-56-3-2 foi identificada como mantenedora, pelo teste de restauração, e recebeu o código CNA 3729. Esse material foi combinado com o vetor de alogamia original #24Z. Em 1989, essa combinação recebeu a identificação 032G. O cruzamento foi selecionado para estigma longo e características agronômicas em F_2 , F_3 e F_4 , obtendo-se a linhagem 032G-85-1-5, que recebeu o código #29Q.

1991 Como foi descrito anteriormente, na geração F_4 , plantada na EEP, inicia-se o processo de transferência do citoplasma macho-estéril. Para isso, a linhagem 032G-85-1-5

ou #29Q foi cruzada com o Zhen-Shan 97A, no segundo semestre de 1991, originando o cruzamento 03QN.

- 1992 As flores das plantas F_1 originárias da combinação da mantenedora com o vetor de citoplasma (cruzamento 03QN), foi combinada no primeiro semestre de 1992, com uma planta F_5 de 032G, a qual recebeu o código #2CO, portanto, o cruzamento realizado foi 03QN/#2CO (código 03UR). Essa combinação foi denominada de retrocruzamento um (RC1) para a linhagem 'mantenedora'. Na verdade, esse processo não é um retrocruzamento como se descreve nos livros de genética, visto que se utiliza a planta selecionada da F_4 como progenitor recorrente.

No segundo semestre do mesmo ano, a F_1 RC1 do cruzamento 03UR foi 'retrocruzada' com uma planta selecionada da F_5 de 032G (a planta F_6 recebeu o código #2PT). Dessa maneira a combinação executada em 1992 foi a 03UR/#2PT, recebendo a designação 03WZ, que significa a F_1 RC2.

- 1993 No primeiro semestre, a F_1 RC2 do cruzamento 03WZ foi 'retrocruzada' com uma planta selecionada da F_6 de 032G (a planta F_7 recebeu o código #2RF). Portanto, a combinação obtida em 1993 foi 03WZ/#2RF. O código do cruzamento foi o 0401, cujo significado é F_1 RC3.

O mesmo processo foi repetido no semestre seguinte quando foi obtida a F_1 RC4. A planta #2RF foi considerada estável. Nesta etapa foi dado por terminado o processo de seleção para a linha B. Seguindo a nomenclatura utilizada pelo projeto, essa linha passou a ser denominada de *2RF.

- 1994 Foi realizado o último 'retrocruzamento', ou seja, F_1 RC5. Nessa etapa do projeto, as plantas do 'retrocruzamento' não mais segregavam, somente produziam plantas com esterilidade total, que eram mantidas pela linha *2RF. A linha com citoplasma macho-estéril e mantida pela *2RF foi denominada **046I**.

Cabe ressaltar que, durante o processo de desenvolvimento da linha A, o critério de seleção foi plantas que, na sua progênie, apresentavam todos os descendentes com esterilidade total. Entretanto, nas etapas iniciais do trabalho, houve segregação para plantas com esterilidade parcial mas, à medida que o processo avançou, o número de plantas com essa característica diminuiu. Também é importante mencionar que a maioria dos cruzamentos selecionados jamais apresentou plantas com esterilidade total, sendo por essa razão descartados.

Um aspecto que melhorou a eficiência do trabalho foi a avaliação laboratorial da esterilidade dos grãos de pólen, usando o microscópio e o iodeto de potássio para colorir os grãos férteis. Isso permitiu separar a esterilidade genética da ambiental.

Além da linha 046I, a Embrapa Arroz e Feijão desenvolveu, através de oito retrocruzamentos, uma série de linhagens oriundas das combinações 032U (*2DF/#258, onde *2DF é a cultivar BR-IRGA 411) e 032H (*069/#24Z, onde *069 é a linhagem indiana UPR231-28-1-2-TCA-2). Esse material está sendo avaliado para determinar a estabilidade da esterilidade.

5.2 Avaliação de híbridos

Esta etapa é a que define o sucesso das técnicas utilizadas anteriormente. É necessário que os híbridos apresentem não somente valores de heterose elevados, mas sim que a heterose padrão seja obtida, ou seja, características superiores às testemunhas comerciais utilizadas nas avaliações.

Para iniciar esta etapa, deve-se dispor de linhas macho-estéreis com controle genético-citoplasmático e com características agronômicas aceitáveis. Nos itens anteriores mencionou-se que, através da introdução e do desenvolvimento de linhas realizado pela Embrapa Arroz e Feijão, atualmente estão disponíveis pelo menos duas linhas de interesse. A identificação de germoplasma com os genes de restauração para o citoplasma WA também é uma etapa que já foi mencionada, nessa ocasião foi indicada a existência de inúmeras alternativas.

A produção do híbrido é resultado da combinação das linhas A e R. Pelas indicações da literatura, quanto maior a distância genética entre essas duas linhas, maior é a possibilidade de obtenção de elevado grau de heterose (Virmani, 1994). Neste item será descrita a experiência da Embrapa em identificar combinações com alto potencial de rendimento. Esse trabalho foi iniciado em 1994, quando foram produzidos manualmente 660 híbridos, utilizando 10 linhas A e 88 linhas R. No ano agrícola 1994/95, esses híbridos, seus progenitores e testemunhas locais foram ensaiados para determinar o potencial de rendimento de grãos desses materiais. O ensaio foi conduzido em condições de irrigação controlada na EEP. Os resultados possibilitaram escolher 30 combinações com potencial para seguir sendo avaliadas, pois apresentavam características agronômicas compatíveis aos objetivos do trabalho.

Entretanto, dificuldades no processo de produção das sementes híbridas possibilitou testar, em 1995/96, somente 15 combinações em três localidades. Os resultados preliminares mostraram o potencial desses materiais para a condição sub-tropical; no Rio Grande do Sul, o melhor híbrido produziu 45% mais grãos que a testemunha local. Para as condições tropicais, os resultados não foram tão estimulantes. Em Goiânia, a vantagem do híbrido foi de somente 4% e no CAPDT, no Estado do Tocantins, a vantagem foi de 13% (Tabela 4).

Em 1996/97, os quatro melhores híbridos mais o H345 foram testados na EEP, acompanhados de três testemunhas. O híbrido H512 foi 25,3% superior a cultivar Metica 1 com rendimentos de 7158 e 5712 kg/ha, respectivamente.

A maior dificuldade para conduzir esses experimentos está no processo de produção das sementes híbridas, que é manual, ou utiliza blocos isolados. Como a quantidade de sementes obtida é baixa, os ensaios são realizados utilizando-se o sistema de transplântio, o que difere da realidade do agricultor de arroz irrigado, que pratica o plantio direto em linhas ou a lanço.

Tabela 4. Rendimento de grãos (kg/ha) dos híbridos avaliados na Estação Experimental Palmital (EEP), no Campo de Apoio a Pesquisa e Desenvolvimento do Tocantins (CAPDT, Tocantins) e na Estação Experimental da Embrapa Clima Temperado (Rio Grande do Sul), em diferentes anos agrícola.

Material	EEP 1994/95	EEP 1995/96	CAPDT 1995/96	Rio Grande do Sul 1995/96	EEP ¹ 1996/97
H512	13283	6065	5833	5136	7158a
H518	10050	5935	9250	4842	6934ab
H348	9700	6668	11000	6029	6295abc
H39	9000	5479	8583	6346	5863 bcd
H345	-	-	-	-	4870 d
H40	8817	7021	11083	5580	-
H29	8400	6399	10500	5504	-
H38	9617	5752	10917	5732	-
H37	8400	6258	9833	5953	-
H16	8483	5965	9917	5339	-
H329	10367	5794	9583	5801	-
H200	7383	6340	7500	6403	-
H35	9950	6884	8167	4661	-
H347	13200	6406	9000	4136	-
H34	7833	4758	5750	3730	-
Metica 1	4777	6763	9583	3414	5712 cd
Javaé	7467	6281	6500	6479	5495 cd
BR-IRGA 409	-	5976	8500	4408	5295 cd
C.V. %	27,3	13,0	15,0	12,6	8,8

¹ Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de Duncan a 1% de probabilidade

A experiência desses anos de trabalho mostrou que, para produzir sementes híbridas para testes experimentais preliminares, não é necessário tanto rigor no isolamento dos blocos, ou seja, a distância entre parcelas para produção de sementes pode ser mínima. Uma parcela com as duas linhas centrais preenchidas com plantas macho-estéreis necessita somente três ou quatro linhas laterais com a restauradora. Pode-se ainda, para diminuir a possível contaminação, plantar lado a lado híbridos de ciclo vegetativo diferentes. Obedecendo a esses critérios, a contaminação observada não influencia significativamente a produção do híbrido resultante dessa combinação. A Embrapa Arroz e Feijão iniciou a produção de seus híbridos dessa maneira, evitando assim o trabalho manual.

6 PLANOS FUTUROS

Revisando a apresentação feita por Guimarães (1987), na III Reunião Nacional de Pesquisa de Arroz (III Renapa), pode-se ter uma idéia dos avanços obtidos nesta área de pesquisa nos últimos 10 anos. Neste documento está demonstrado que a Embrapa Arroz e Feijão possui conhecimentos que permitem desenvolver linhas macho-estéreis, identificar linhagens com o gene de restauração e determinar a presença de heterose padrão nas combinações com materiais gerados pelo programa nacional. Entretanto, ainda existe uma distância significativa entre a geração desses conhecimentos e a viabilização comercial dos híbridos de arroz.

O primeiro aspecto a ser considerado para planejar o futuro dos trabalhos com arroz híbrido é o desenvolvimento de uma técnica de produção comercial de sementes híbridas a um preço que compense os esforços, ou seja, apresente lucratividade para os produtores de sementes e aumentos reais de produtividade e ganhos econômicos aos agricultores. Para que isso ocorra, essa linha de pesquisa deve ser intensificada. Uma das maneiras sugeridas para isso é uma maior participação do setor privado nesse processo.

Outro aspecto que deve ser estudado está relacionado à eficiência das características de alogamia. Breseghello e Neves (1995) mostraram, a nível experimental, em parcelas pequenas, que a presença do estigma grande aumenta a taxa de polinização em cerca de 38,4% para cada incremento de 1,0 mm no tamanho do estigma. Todavia, esses resultados ainda não foram validados a nível comercial (parcelas grandes). Como a linha macho-estéril 046I, desenvolvida através deste trabalho, possui tal característica, pode-se determinar esse efeito comparando-a com a Zhen Shan 97A, por exemplo. Para a incorporação desse carácter nas linhas a serem esterilizadas, requer-se pelo menos três anos adicionais de trabalho. Portanto, haverá que considerar a necessidade e a eficiência do processo.

Atualmente, a utilização das ferramentas biotecnológicas no melhoramento avançou muito. O uso de marcadores moleculares para auxiliar na detecção de combinações heteróticas pode ser uma alternativa útil a este trabalho, visto que maiores distâncias genéticas entre progenitores estão associadas a maior grau de heterose. Caso seja possível

determinar a distância genética entre as linhas A e R, e obter uma correspondência desses valores com a heterose, será possível selecionar aqueles híbridos de maior potencial e concentrar neles o trabalho de produção de sementes e avaliação. Também pode-se pensar em identificar marcadores moleculares para o gene de restauração. Isso evitaria o teste de restauração, ou pelo menos, possibilitaria concentrá-lo naqueles materiais que, a nível molecular, mostraram a presença do gene.

Uma alternativa de menor prioridade é iniciar um trabalho para a diversificação de citoplasma, utilizado como fonte da macho-esterilidade genético-citoplasmática. Virmani e Edwards (1983) apresentaram uma lista de 19 fontes de citoplasma capazes de induzir macho-esterilidade em arroz. Entretanto, recentemente, com relativa frequência a literatura reporta o desenvolvimento de uma nova fonte de citoplasma, que está em utilização. Exemplos disso são os trabalhos de Ali e Khan (1996), Dalmacio et al. (1996) e Kumar et al. (1996).

Espera-se que as informações reunidas neste documento tenham sido úteis para mostrar à comunidade científica que o desenvolvimento do arroz híbrido na Embrapa Arroz e Feijão é uma realidade que está muito próxima de atingir seu objetivo, o produtor que cultiva o arroz no ecossistema de várzeas irrigadas.

AGRADECIMENTOS

O relato deste trabalho somente foi possível graças aos esforços de pesquisadores como o Dr. James Taillebois (CIRAD-CA), Péricles de Carvalho Neves e Emílio da Maia de Castro, que em algum ponto de suas carreiras profissionais dedicaram-se a desenvolver parte das ações descritas nesta publicação. A esses pesquisadores queremos registrar nossos sinceros agradecimentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, S.S.; KHAN, M.G. 1996. Development of rice cytoplasmic male sterile line 47456 A in Kala Shah Kaku, Pakistan. *International Rice Research Notes* 21(2-3): 31.
- BEACHELL, H.M.; ADAIR, C.R.; JORDAN, N.E.; DAVIS, L.L.; JONES, J.W. 1938. Extent of natural crossing in rice. *J. Am. Soc. Agron.* 30:743-753.
- BRESEGHELLO, F. 1995. Ganhos para produtividade pelo melhoramento genético do arroz irrigado no Nordeste do Brasil. Escola de Agronomia da Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Goiás. Tese de Mestrado. 93 p.
- BRESEGHELLO, F.; NEVES, P.C.F. 1995. Influência do comprimento do estigma na taxa de formação de grãos em plantas macho-estéreis. In: XXI Reunião da Cultura do Arroz Irrigado. 20 a 22 de setembro, 1995, Porto Alegre, Brasil. p.77-79.
- DALMACIO, R.D.; BRAR, D.S.; VIRMANI, S.S.; KHUSH, G.S. 1996. Male sterile line in rice (*Oryza sativa*) developed with *O. glumaepatula* cytoplasm. *International Rice Research Notes* 21(1): 22-23.

- GUIMARÃES, E.P. 1987. Arroz híbrido. In: Anais da III Reunião Nacional de Pesquisa de Arroz. 16 a 20 de fevereiro, 1987, Goiânia, Brasil. p. 245-262.
- JONES, J.W. 1926. Hybrid vigor in rice. J. Am. Soc. Agron. 18:423-428.
- KUMAR, R.V., Satyanarayana, P.V., and Rao, S. 1996. New cytoplasmic male sterile lines developed in Andra Pradesh, India. International Rice Research Notes 21(2-3): 30.
- LIN, S.C. and Yuan, L.P. 1980. Hybrid rice breeding in China. In: Innovative approaches to rice breeding, Selected papers from the 1979 International Rice Research Conference, Los Baños, Philippines. p. 35-51.
- LU, X.G.; ZHANG, Z.G.; MARUYAMA, K.; VIRMANI, S.S. 1994. Current status of two-line method of hybrid rice breeding. In: Hybrid rice technology, new developments and future prospects. Selected papers from the International Rice Research Conference, Los Baños, Philippines. p. 37-49.
- RANGEL, P.H.N.; GUIMARÃES, E.P.; NEVES, P.C.F. 1996. Base genética de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. Pesq. agropec. bras. 31(5):349-357.
- SARKARUNG, S. 1991. A simplified crossing method for rice breeding: A manual. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Cali, Colombia. p. 32.
- SOARES, A.A. 1992. Desempenho do melhoramento genético do arroz de sequeiro e irrigado na década de oitenta em Minas Gerais. Escola Superior de Agricultura de Lavras, Lavras, Minas Gerais. Tese de Doutorado. 188 p.
- TAILLEBOIS, J.E.; GUIMARÃES, E.P. 1988. Improving outcrossing rate in rice (*Oryza sativa* L.). In: Hybrid Rice. International Rice Research Institute, Manila, Philippines, p.175-180.
-
- VIRMANI, S.S. 1994. Heterosis in Rice. In: Heterosis and hybrid rice breeding. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Germany. p.1-39.
- VIRMANI, S.S.; EDWARDS, I.B. 1983. Current status and future prospects for breeding hybrid rice and wheat. Adv. Agron. 36:145-214.
- VIRMANI, S.S.; SHARMA, H.L. 1993. Manual for hybrid rice seed production. International Rice Research Institute, Manila, Philippines. 57p.
- VIRMANI, S.S.; YOUNG, J.B.; MOON, H.P.; KUMAR, I.; FLINN, J.C. 1991. Increasing rice yield through exploitation of heterosis. Int. Rice Res. Pap. Ser. 156.
- YUAN, L.P.; FU, X.Q. 1995. Technology of hybrid rice production. FAO, Rome. 84p.
- YUAN, L.P.; VIRMANI, S.S. 1988a. Status of hybrid rice research and development. In: Hybrid Rice, Proceedings of the International Symposium of Hybrid Rice, 6-10 October, 1986, Changsha, Hunan, China. p. 7-24.
- YUAN, L.P.; VIRMANI, S.S. 1988b. Organization of a hybrid rice breeding program. In: Hybrid Rice, Proceedings of the International Symposium of Hybrid Rice, 6-10 October, 1986, Changsha, Hunan, China. p. 33-37.