

**CARACTERIZAÇÃO AGRONÔMICA E MOLECULAR DE LINHAGENS
DE ARROZ CONTENDO FRAGMENTOS GENÔMICOS DA ESPÉCIE
SILVESTRE *Oryza glumaepatula*.**

RANGEL¹, P. N.; BRONDANI², R. P. V.; BRONDANI³, C.; RANGEL⁴, P. H. N.

INTRODUÇÃO: A redução da variabilidade genética das variedades de arroz tem como principal conseqüência a redução dos ganhos genéticos. Por isso, um dos objetivos dos programas de melhoramento modernos de arroz tem sido a recuperação da diversidade perdida através da busca por alelos favoráveis em parentes silvestres (Gur e Zamir, 2004). O método de retrocruzamento avançado associado à análise de QTL (AB-QTL – Advanced Backcross QTL analysis) (Tanksley e Nelson, 1996) é uma ferramenta poderosa para a exploração e uso de espécies silvestres em programas de melhoramento. Este método integra a análise de QTL à introgressão de alelos do germoplasma silvestre para o cultivado, assumindo que regiões do genoma ligadas a marcadores moleculares e associadas a características de interesse agrônômico podem ser transferidas para cultivares elite (Frary et al., 2004). Dessa forma, é possível monitorar a introgressão destes alelos e selecionar, utilizando marcadores moleculares, aqueles genótipos que possuem as regiões de interesse. Ao final, após algumas gerações de autofecundação, as linhagens de introgressão são obtidas e podem ser testadas no campo (Frary et al., 2004). O objetivo deste trabalho foi caracterizar 35 linhagens do programa de melhoramento da Embrapa Arroz e Feijão, que foram desenvolvidas, através da metodologia de AB-QTL, a partir de um cruzamento interespecífico utilizando a espécie silvestre *Oryza glumaepatula*.

MATERIAIS E MÉTODOS: O desenvolvimento das linhagens seguiu o método de AB-QTL utilizando como parental recorrente a linhagem BG90-2 (*Oryza sativa*) e como parental doador o acesso RS-16 (*Oryza glumaepatula*). Foram realizados dois retrocruzamentos seguidos por oito gerações de autofecundação (Rangel et al., 2005). Os marcadores moleculares associados às características peso de 1000 grãos, número de perfilhos e número de panículas (Brondani et al., 2002) foram utilizados para a seleção assistida de 272 famílias RC_2F_6 , das quais 27 foram selecionadas por conterem alelos favoráveis na região dos locos marcadores. Além disso, 8 famílias que apresentaram segregação transgressiva também foram selecionadas. As 35 linhagens RC_2F_8 obtidas foram avaliadas no campo, juntamente com três testemunhas (BG90-2, Metica 1, CNA8502), em ensaio

¹ Estudante de doutorado. Embrapa Arroz e Feijão. Caixa Postal 179, CEP 75375-000, Santo Antônio de Goiás, GO. Fone (62) 35332128. rangelp@embrapa.br

² Bióloga. Doutora em Biologia Molecular. Embrapa Arroz e Feijão.

³ Engenheiro agrônomo. Doutor em Biologia Molecular. Embrapa Arroz e Feijão.

⁴ Engenheiro agrônomo. Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas. Embrapa Arroz e Feijão.

conduzido no ano agrícola 2002/03 em três locais: Goianira - Goiás, Formoso do Araguaia - Tocantins e Boa Vista - Roraima. Foram coletados dados no cultivo principal (floração média, altura de planta, número de perfilhos e panículas por m² e produtividade de grãos em kg ha⁻¹) e na rebrota (número de perfilhos/panículas na mesma área de amostragem do cultivo principal e produtividade de grãos em kg/ha, obtidos apenas em Goiás e Roraima). Em 2003/04 as quinze linhagens que mais se destacaram no ensaio de 2002/03 foram avaliadas em cinco locais (Goianira - Goiás, Formoso do Araguaia - Tocantins, Boa Vista - Roraima, Itajaí - Santa Catarina e Alegrete - Rio Grande do Sul) com quatro testemunhas (BG90-2, BRS Formoso, Metica e IRGA 417). Foram coletados dados de produtividade de grãos em kg ha⁻¹, floração média e altura de planta. Folhas frescas de 10 plantas de cada uma das 35 linhagens foram coletadas, sendo o DNA extraído em bulk. Para a caracterização molecular foram utilizados 80 marcadores microssatélites. Destes, 67 foram marcados com fluorescência e analisados em sequenciador automático de DNA ABI 3100 (*Applied Biosystems*). Os marcadores fluorescentes foram reunidos em painéis contendo de 2 a 7 marcadores de acordo com a sua cor (azul ou verde) e amplitude alélica. A genotipagem foi realizada utilizando o software GeneMapper 2.5 (*Applied Biosystems*). Os produtos de PCR derivados dos marcadores não fluorescentes foram visualizados em géis desnaturantes de poliacrilamida 6% corados com nitrato de prata. O software GGT (van Berloo, 1999) foi utilizado para estimar a proporção do genoma parental em cada linhagem e para a construção dos genótipos gráficos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO: A produtividade média dos três ensaios conduzidos em 2002/03 foi de 5885 kg/ha, sendo que a maior foi obtida no ensaio de Goiás (8010 kg/ha) e a menor no ensaio de Tocantins (4122 kg/ha). As linhagens CNAi 9937, CNAi 9931, CNAi 9934, CNAi 9930 e CNAi 9936 foram as mais produtivas no cultivo principal com 7398 kg ha⁻¹, 7338 kg ha⁻¹, 7135 kg ha⁻¹, 6998 kg ha⁻¹ e 6836 kg ha⁻¹, respectivamente, porém não diferiram significativamente das testemunhas BG90-2 e Metica 1. Considerando apenas os ensaios de Goiás e Roraima, a produtividade média dos dois locais no cultivo principal foi de 6767 kg/ha, sendo que as linhagens citadas acima mais a CNAi 9935 apresentaram produtividade média superior a 7500 kg ha⁻¹ e foram diferentes significativamente da Metica 1. Todas as linhagens apresentaram arquitetura de planta moderna com altura em torno de 100 cm, alta resistência ao acamamento e folhas eretas que se mantiveram verdes até a maturação dos grãos, característica esta de grande importância por estar relacionada com alta produtividade em arroz irrigado. A utilização da soca pode ser uma alternativa para aumentar a rentabilidade das lavouras de arroz irrigado do Brasil a um baixo custo. As linhagens de introgessão, além do elevado vigor de plântula, apresentaram alta capacidade de rebrota viabilizando o aproveitamento da soca. As linhagens CNAi 9935 e CNAi 9936 apresentaram produtividade média de grãos na rebrota de 2627 kg/ha e 2688 kg/ha, respectivamente, o que correspondeu a 34% e 35% da produtividade obtida no cultivo principal. No ensaio realizado em 2003/04 verificou-se que as quinze linhagens que se destacaram em 2002/03 mantiveram o seu

desempenho, apresentaram elevada produtividade nos locais de avaliação e foram diferentes significativamente das testemunhas. A Tabela 1 mostra os dados de produtividade de grãos das linhagens comuns aos anos agrícolas 2002/03 e 2003/04. Nos ensaios de Santa Catarina e Rio Grande do Sul as linhagens CNAi 9931, CNAi 9934, CNAi 9937 e CNAi 9930 foram significativamente superiores à testemunha Metica 1. Na média dos oito ambientes de avaliação, seis linhagens, CNAi 9931, CNAi 9934, CNAi 9937, CNAi 9930, CNAi 9936 e a CNAi 9935, mantiveram-se como as mais produtivas e superaram significativamente a testemunha Metica 1. A caracterização molecular detectou um total de 246 fragmentos de *O. glumaepatula* introgrididos em todas as 35 linhagens. O tamanho médio destes fragmentos variou de 2,5 cM (cromossomo 11) a 38,9 cM (cromossomo 1), sendo que o tamanho total médio foi de 181,9 cM. A proporção de introgressão média foi de 10,9%, variando de 2,4% (CNAi 9932) a 24,8% (CNAi 9920-78). As linhagens que mais se destacaram nas avaliações fenotípicas (CNAi 9930, CNAi 9931, CNAi 9934, CNAi 9935, CNAi 9936 e CNAi 9937) apresentaram proporções de introgressão de 5,7%, 4,9%, 5,4%, 8,2%, 8,3% e 10,1%, respectivamente, indicando que fragmentos menores produzem melhores efeitos no background genético do arroz cultivado, provavelmente pela diminuição da *linkage drag*. As linhagens de introgressão provavelmente são importante reservatório de alelos que não existem no “pool” gênico do arroz cultivado e as informações obtidas neste trabalho serão úteis para seu uso pelos melhoristas do programa de melhoramento da Embrapa Arroz e Feijão. A linhagem CNAi 9930, por ter apresentado alta produtividade e grãos com qualidade comercial, está sendo avaliada e o seu uso para cultivo, especialmente por pequenos agricultores, deverá ser recomendado. Estes agricultores terão nela a possibilidade de potencializar a sua produção através do cultivo da rebrota.

CONCLUSÃO: A caracterização agrônômica e molecular das linhagens de introgressão forneceu informações úteis para a sua utilização pelos programas de melhoramento de arroz irrigado.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRONDANI, C.; BRONDANI, R. P. V.; RANGEL, P. H. N.; FERREIRA, M. E. QTL mapping and introgression of yield related traits from *Oryza glumaepatula* to cultivated rice (*Oryza sativa*) using microsatellite markers. **Theoretical and Applied Genetics** . v. 104, p. 1192-1203, 2002.

FRARY, A.; FULTON, T. M.; ZAMIR, D.; TANKSLEY, S. D. Advanced backcross QTL analysis of a *Lycopersicon esculentum* x *L. pennellii* cross and identification of possible orthologs in the Solanaceae. **Theoretical and Applied Genetics** . v. 108, p. 485-496, 2004.

GUR, A.; ZAMIR, D.; Unused natural variation can lift yield barriers in plant breeding. **PLOS Biology**. v. 2, p. 1610-1615, 2004.

RANGEL, P. H.; BRONDANI, C.; RANGEL, P. N.; BRONDANI, R. P. V.; ZIMMERMANN, F. J. P. Development of rice lines with gene introgression from the wild *Oryza glumaepatula* by the AB-QTL methodology. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 5, p. 10-21, 2005.

TANKSLEY, S. D.; NELSON, J. C. Advanced backcross QTL analysis: a method for the simultaneous discovery and transfer of valuable QTLs from unadapted germplasm into elite breeding lines. **Theoretical and Applied Genetics**. v. 92, p. 191-203, 1996.

VAN BERLOO, R. GGT: software for the display of graphical genotypes. **Journal of Heredity**. v. 90, p. 328-329, 1999.

Tabela 1. Dados de produtividade média de grãos (PROD) por local, em kg ha⁻¹, das linhagens de introgressão comuns nos ensaios conduzidos nos anos agrícolas 2002/03 e 2003/04 em Goiás (GO1 e GO2), Tocantins (TO1 e TO2), Roraima (RR1 e RR2), Santa Catarina (SC) e Rio Grande do Sul (RS).

LINHAGENS	PROD	GO1	TO1	RR1	GO2	SC	TO2	RS	RR2
CNAi 9931	8303 a	8303 a	5919 a	6804 a	6836 a	8586 a	6747 a	11722 a	10517 a
CNAi 9934	8267 a	9135 a	5439 a	6830 a	7000 a	7772 b	7548 a	12131 a	10277 a
CNAi 9937	8018 a	9063 a	6051 a	7080 a	6461 b	7921 b	6558 a	9949 b	11063 a
CNAi 9930	7983 a	9083 a	4752 a	7159 a	7586 a	8295 a	6371 a	10973 a	9644 a
BG 90-2	7907 a	8781 a	4878 a	6607 a	7941 a	7750 b	6380 a	10357 b	10561 a
CNAi 9936	7837 a	8365 b	5313 a	6830 a	7383 a	7847 b	7077 a	10003 b	9879 a
CNAi 9935	7811 a	9031 a	4115 a	6568 a	7278 a	7817 b	6919 a	10247 b	10511 a
CNAi 9924-117	7317 b	8458 a	5197 a	6174 a	6464 b	7643 b	5359 b	10389 b	8856 b
CNAi 9933	7144 b	8271 b	4546 a	6449 a	7109 a	7528 b	5820 b	8308 c	9121 b
CNAi 9924-105	6936 b	8885 a	5053 a	4965 b	7158 a	6300 c	5165 b	9489 b	8475 b
CNAi 9932	6864 b	7667 b	4327 a	6200 a	5556 b	6899 c	5820 b	9397 b	9048 b
METICA 1	6820 b	8802 a	5439 a	5845 b	6714 a	5244 d	5854 b	6833 c	9829 a
CNAi 9920-82	6799 b	7375 b	4526 a	5518 b	6020 b	6787 c	5523 b	9774 b	8869 b
CNAi 9924-85	6651 b	8010 b	4239 a	6174 a	7352 a	5726 d	4580 c	8901 c	8225 b
CNAi 9924-92	6572 b	8146 b	4096 a	5753 b	6158 b	5349 d	5017 b	9714 b	8343 b
CNAi 9920-88	6355 c	7750 b	3124 a	5162 b	5625 b	6640 c	5751 b	8349 c	8442 b
CNAi 9924-3	5945 c	7531 b	4422 a	4170 b	6069 b	5925 d	3973 c	8124 c	7343 b
Média	7353	8450	4790	6135	6748	7060	5909	9782	9353