

VARIABILIDADE EM PLANTAS REGENERADAS DE PANÍCULAS IMATURAS PARARESISTÊNCIA A TOXINA ÁCIDO PICOLÍNICO DE *PYRICULARIA GRISEA* EM ARROZ

Anne Sitarama Prabhu¹, Gisele de Macedo e Silva² e Muriel Coelho Cézar³

Desenvolvimento de estratégias para obtenção de resistência durável à brusone (*Pyricularia grisea*) requer estudos básicos sobre mecanismos de defesa ao patógeno existentes nas plantas. A cultura de células em meio artificial resulta em variantes estáveis e herdáveis, tanto em características monogênicas como poligênicas. Estudos realizados na Embrapa Arroz e Feijão foram altamente promissores na indução de variabilidade genética para resistência à brusone em cultivares de arroz. Porém nenhuma cultivar apresentou variações desejáveis em frequências aceitáveis. A resistência tem base celular e sua expressão em plantas regeneradas foi demonstrada em relação a tolerância à seca, alumínio, salinidade e herbicidas em outras culturas, inclusive, arroz. Um dos métodos para aumentar a frequência de variantes para resistência a doença é através da utilização de toxinas produzidas por patógenos como agentes de seleção. As células de plantas podem ser selecionadas por resistência às toxinas produzidas por patógenos em meio de cultura e regenerar as plantas a partir das células selecionadas. O ácido picolínico é uma das toxinas produzidas por *P. grisea* cujo papel foi comprovado como fator de patogenicidade. A seleção de plantas resistentes à toxina não específica como ácido picolínico é importante, porque o tipo de resistência provavelmente é diferente daquele que ocorre na natureza e necessita estudos detalhados. No presente trabalho são apresentados os resultados de seleção *in vitro* de calos provenientes de panículas imaturas das cultivares resistentes e suscetíveis à brusone, determinação da dose letal para crescimento de calos em diferentes cultivares, regeneração de plantas resistentes a partir de calos resistentes ao ácido picolínico e avaliação de plantas regeneradas (R1) para resistência à toxina.

A indução de calos de seis cultivares foi feita no meio de cultura MS (Murashige & Skoog, 1962) suplementado com sacarose (30g/l); caseína (500mg/l) e 2,4-D (4mg/l) utilizando panículas imaturas como explante. Para determinação da dose letal da toxina, os calos com 47 dias de idade, em média, foram transferidos para placas de petri contendo meio de cultura MS com diferentes concentrações de ácido picolínico (0 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm e 400 ppm). Verificou-se a formação de setores de resistência que apresentaram células com coloração bastante clara depois da necrose parcial de algumas células, para cada genótipo, assim como para cada concentração de toxina utilizada. A dose letal (DL50) foi expressa pela concentração de toxina, que causou 50% de inibição de calos e determinada pelo método de análise probit-log dosagem de acordo com Finney (1975). A porcentagem de inibição de

¹ Pesquisador, Ph.D., Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, CEP 74001-970 Goiânia, GO.

² Bolsista, B.Sc., Embrapa Arroz e Feijão.

Apoio financeiro: CNPq e outros.

crescimento de calos foi obtida em relação ao controle sem toxina. A estabilidade da resistência dos calos que apresentaram setores de resistência foi testada nas mesmas concentrações utilizando calos provenientes de placas sem toxina como controle. O tamanho dos calos foi medido semanalmente. As plantas foram regeneradas a partir de setores de calos resistentes em todas as concentrações da toxina. As penúltimas folhas das plantas regeneradas (R1), com idade variando entre 30 e 60 dias após o transplante, foram utilizadas para teste da resistência à toxina. O teste foi feito com aplicação de gotas de 40µl de ácido picolínico na concentração desejada, em quatro pontos, com pipeta, após ter sido feita uma injúria mecânica nas folhas destacadas de 5,0 cm de comprimento. As placas contendo folhas, flutuadas na água destilada foram colocadas debaixo de luz fluorescente por 72 horas. O grau de resistência à toxina foi determinado com base no tipo de lesão.

A frequência de indução de calos foi maior em ordem decrescente nas cultivares: Oitentão, Toride-1, IAC 201, CNA 01, Yachiromochi, CI 5301, CO 39, Huan-Sen-Goo e Três Marias. O tamanho da panícula imatura, em diferentes cultivares, influenciou a frequência de indução de calos. A sensibilidade de calos à toxina foi variável em diferentes cultivares de arroz. O ácido picolínico mostrou efeito hormonal nas concentrações baixas em cultivares e permaneceu até 300 ppm para Toride-1 e 100 ppm para CI 5309, Yachiromochi e Oitentão seguida por efeito letal. Os valores da dose letal (DL50) foram 371 ppm e 794 ppm para as cultivares CNA 01 e IAC 201, respectivamente (Figura 1), enquanto para Toride-1, CI 5309, Yachiromochi e Oitentão foi maior que 800 ppm. As plantas regeneradas (R1) apresentaram diferentes graus de resistência e suscetibilidade à toxina. Os estudos de avaliação de progênie de R2 proveniente de sementes colhidas de plantas individuais de R1 estão em andamento, para estabelecer a relação entre resistência à toxina e ao patógeno.

Os resultados deste trabalho demonstraram a viabilidade do uso de calos para regeneração de plantas a partir de setores de resistência à toxina e segregação das primeiras plantas regeneradas para resistência ao ácido picolínico.

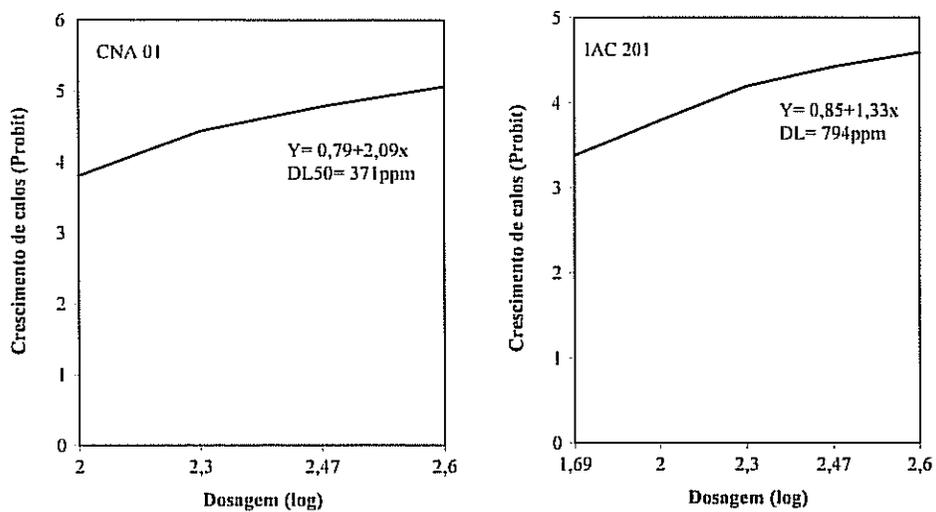


Fig. 1. Efeito da concentração do ácido picolínico sobre a resposta ao crescimento de calo relativo ao controle sem toxina.

Referências Bibliográficas

FINNEY, D.J. **Statistical methods in biological assay**. Griffin, London, 1975.

MURASHIGE, T. & SKOOG, F. **Physiol. Plant.**, 15:473-479, 1962.