

rice blast is the following major disease for which genetic resistance has not been described in *Oryza* yet, and control still mainly relies on the use of fungicides. Besides sheath blight, genetic transformation offers an important alternative to introduce resistance to a fungal complex present in Latin America for which there are not breeding resistance sources, but a greater research effort needs to be placed. Transgenic rice plants carrying transposons are also currently being used worldwide by International research consortia and multinational seed companies as a model crop to identify potential genes of interest, while increasing knowledge of gene expression and gene function. As the knowledge of genes and genomes increases, using molecular genetics and gene technology can greatly improve the efficiency of breeding by overcoming heretofore essentially intractable limits to genetic diversity.

#### UTILIZAÇÃO DA ESPÉCIE SILVESTRE, *Oryza glumaepatula* NO MELHORAMENTO GENÉTICO DO ARROZ IRRIGADO

Paulo Hideo Nakano Rangel <sup>5</sup>; Cláudio Brondani <sup>2</sup>; Márcio Elias Ferreira <sup>6</sup>

O arroz ocupa posição de destaque do ponto de vista social e econômico dentre as culturas anuais, sendo uma das principais fontes de proteína da população brasileira, que consome cerca de 44 kg de arroz beneficiado/ano/habitante. Apesar de todo o esforço que vem sendo feito no sentido de controlar a natalidade, no ano 2025 estima-se que a população brasileira será de 237 milhões de pessoas. Isto significa que será necessário aumentar a produção de arroz em 61% em relação aos atuais 10 milhões de toneladas produzidas, isso somente pensando em atender o consumo interno (IRRI, 1994).

Diante desses fatos, a curto, e principalmente a médio prazo, parece que o melhoramento genético é um dos caminhos a ser seguido para aumentar a produtividade e a produção brasileira de arroz. O uso de ferramentas biotecnológicas associadas aos métodos convencionais de melhoramento estão permitindo explorar a variabilidade genética encontrada nas espécies silvestres, o que até então estava limitada a algumas tentativas isoladas e descontinuas. Até o momento, no Brasil, pouco são os sucessos relatados na utilização deste tipo de germoplasma no melhoramento genético. Os avanços obtidos com as pesquisas em genética molecular indicam que as espécies silvestres de arroz possuem um grande potencial genético. A busca de combinações gênicas superiores ajudada por marcadores moleculares e mapas genéticos pode potencializar o uso desse germoplasma no melhoramento genético.

A coleta, conservação e utilização do germoplasma silvestre de arroz constitui-se no grande desafio dos pesquisadores no próximo milênio. Segundo Chang (1984) o germoplasma silvestre das espécies cultivadas é um dos maiores tesouros biológicos do homem. Pode-se afirmar com grande certeza que o país que deter germoplasma de uma determinada cultura tem amplas chances de manter a hegemonia sobre ela neste século.

O esforço do melhoramento, principalmente do arroz irrigado, com o passar dos anos tem levado ao desenvolvimento de variedades de alto rendimento que são, via de regra oriundas de cruzamentos entre poucas linhagens e/ou cultivares modernas geneticamente relacionadas. Isto tem levado a um estreitamento da base genética das populações utilizadas no melhoramento e como consequência o estabelecimento de patamares de produtividade. No caso específico do arroz irrigado do Brasil, apenas 10 ancestrais contribuem com 68% do conjunto gênico das variedades cultivadas (Rangel et al., 1996). Considerando as cultivares mais plantadas nos principais estados produtores de arroz irrigado, constata-se que sete ancestrais são mais frequentes nos pedigrees e são responsáveis por 70% dos genes (Rangel et al., 1996). No Rio Grande do Sul, que é o maior produtor de arroz irrigado, seis ancestrais contribuem com 86% dos genes das variedades mais plantadas. Na safra 1998/99, segundo dados do IRGA (1999), as cultivares El Paso 144 (23%), IRGA 417 (21%), BR-IRGA 410 (13%) e BR-IRGA 409 (11%) ocuparam cerca de 68% da área plantada com arroz no Rio Grande do Sul. Estas cultivares apresentam um alto grau de similaridade genética, sendo que, a El Paso 144 é oriunda de seleção feita dentro da BR-IRGA 410, que tem o mesmo pedigree da BR-IRGA 409. A IRGA 417 foi obtida de um cruzamento triplo onde a BR-IRGA 409 contribui com 50% dos genes. Tal situação de alta uniformidade genética pode trazer sérias consequências não só a orizicultura gaúcha mas também a produção brasileira de arroz (Rangel et al., 1996).

Esta situação torna-se evidente ao avaliar-se os ganhos para produtividade de grãos para os vários programas de melhoramento conduzidos no Brasil, por vários autores. Santos et al. (1999) obteve um ganho de apenas 15 kg/ha/ano (0,25%) não significativo, ao avaliar o desempenho do programa de melhoramento de arroz irrigado, no Estado de Minas Gerais. Breseghello et al. (1999) e Rangel et al. (2000) estimaram em 54,9 kg/ha/ano (0,8%) e 18,0 kg/ha/ano (0,3%), respectivamente, os ganhos genéticos obtidos pelos programas de melhoramento das regiões Nordeste e Meio-Norte do Brasil.

A espécie silvestre, *Oryza glumaepatula*, pode ser usado quer seja na ampliação da base genética das populações utilizadas nos programas de melhoramento genético do arroz ou na transferência de características específicas para as variedades cultivadas. O uso deste germoplasma muitas vezes é dificultada devido os cruzamentos produzirem híbridos com vários níveis de esterilidade além das progênies apresentarem uma série de características indesejáveis. Devido a isto os pesquisadores não priorizam e até evitam cruzamentos amplos, pois a introgressão de novos genes geralmente implica em perda de boas características já fixadas ao longo do trabalho de seleção. Programas de melhoramento genético com mandatos amplos e trabalhando com uma série de prioridades, deve apoiar-se no pré-melhoramento como alternativa para explorar essa variabilidade. O pré-melhoramento nada mais é que o desenvolvimento de populações ou linhagens, através de cruzamentos e retrocruzamentos do germoplasma exótico com linhagens melhoradas. O objetivo é transferir genes úteis para um ambiente genético, onde podem ser utilizados mais facilmente pelos melhoristas. Todo este processo pode ser mais eficiente ainda se for monitorado por técnicas modernas de biotecnologia como, marcadores moleculares e mapas genéticos, que tem como principais vantagens a capacidade de gerar uma maior quantidade de dados além de monitorar com grande eficiência os caracteres que estão sendo transferidos.

<sup>4</sup> Pesquisa em realização com suporte financeiro do Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, entidade governamental brasileira promotora do desenvolvimento científico e tecnológico

<sup>5</sup> Eng. Agr. Dr. Embrapa Arroz e Feijão; Caixa Postal 179; CEP 75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO. E-mail: phrangel@cnpaf.embrapa.br

<sup>6</sup> Eng. Agr. Ph.D. Universidade Católica de Brasília, SGAN 916 Módulo B; CEP 70790-160 Brasília, DF.

No Brasil, ocorrem quatro espécies silvestres do gênero *Oryza*, uma diploide e três tetraploides. A espécie diploide é a *O. glumaepatula* que possui genoma AA semelhante ao da espécie cultivada, e as três tetraploides são *O. latifolia*, *O. alta* e *O. grandiglumis* que possuem o genoma CCDD. As duas primeiras tetraploides são distinguidas uma da outra somente pelo tamanho da espiguetas (*O. latifolia* < 0,7 cm, *O. alta* > 0,7 cm). *O. grandiglumis* se diferencia das duas outras por apresentar longas glumas estéreis maiores do que a lema e a pálea. Considera-se que estas três espécies alotetraploides são geneticamente muito relacionadas e formam o complexo *O. officinalis*. As espécies diploides com genoma CC ocorrem na Ásia (*O. officinalis*) e na África (*O. eichingeri*). A espécie com genoma DD até hoje não foi encontrada (Morishima & Martins, 1994).

Foram realizadas quatro expedições de coleta de espécies silvestres de arroz no Brasil. As duas primeiras, em 1992 e 1993 exploraram respectivamente, as bacias do Rio Negro e do Rio Solimões, e foram financiadas pelo Ministério da Educação, Ciência e Cultura (Monbusho) do Japão e pela Fundação de Apoio a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Brasil. Estas expedições faziam parte do projeto "Ecological genetics of the Amazonian plant species, with the emphasis on *Oryza* and *Stylosanthes* species" desenvolvido pela Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz (ESALQ)/Universidade de São Paulo (USP) e pelo Centro de Energia Nuclear para Agricultura (CENA)/USP, do Brasil e Instituto Nacional de Genética e Universidade de Hokkaido, do Japão. Na expedição de 1992 foram coletados 24 acessos sendo, 23 de *Oryza glumaepatula* e 1 de *Oryza grandiglumis* e na de 1993 coletou-se 61 acessos sendo 26 de *Oryza glumaepatula*, 32 de *Oryza grandiglumis* e 4 amostras de suposta *Oryza alta*. A terceira expedição, que explorou o Pantanal Mato-grossense, foi realizada em 1994 e contou com a participação de pesquisadores da ESALQ/USP, CENA/USP e da Embrapa Arroz e Feijão. Foram coletados 15 acessos sendo, 8 de *Oryza glumaepatula* e 7 de *Oryza latifolia*. Dando continuidade ao trabalho de preservação destas espécies, em 2001, patrocinada financeiramente pelo Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) foi realizada a quarta expedição de coleta pela Embrapa Arroz e Feijão, nas veredas (várzeas existentes dentro de cerrado) do Estado de Goiás. Coletou-se 45 acessos sendo, 35 de *Oryza glumaepatula* e 7 de *Oryza alta*. Nesta última expedição foram coletados amostras de *Oryza glumaepatula* em áreas totalmente isoladas das bacias hidrográficas dos grandes rios, o que de certa forma pode corroborar a teoria de que esta espécie é oriunda do continente americano.

Estudos conduzidos por Buso et al. (2001), indicaram que *Oryza glumaepatula* deve ser considerada como uma espécie distinta de *Oryza rufipogon* com origem no continente americano, e que divergiu de *Oryza sativa* – *Oryza nivara* há cerca de 20 milhões de anos atrás. Neste mesmo trabalho ficou evidenciado que as espécies tetraploides Americana (*Oryza alta*, *Oryza latifolia* e *Oryza grandiglumis*) devem ser tratadas como um grupo mais do que três espécies distintas e que pertencem ao complexo *Oryza officinalis*. O relacionamento genético entre *Oryza glumaepatula* e *Oryza sativa*, demonstrado também, neste estudo, facilita sobremaneira a introgressão de genes da espécie silvestre na cultivada.

Buso et al (1998), avaliaram quatro populações de *Oryza glumaepatula* coletadas nas Bacias do Rio Amazonas e do Rio Paraguai, quanto a variabilidade genética entre e dentro de populações, o sistema de acasalamento e o fluxo gênico entre populações utilizando isoenzimas e marcadores RAPD. Os autores encontraram uma percentagem de loci polimórficos (P) variando de 0 a 0,40 quando todas as populações eram consideradas. O número médio de alelos por locus (n) variou de 1,00 a 1,75. A heterozigosidade média observada ( $H_o$ ) e a esperada ( $H_e$ ) variou para todos os loci de 0,00 a 0,25 e de 0,00 a 0,21, respectivamente. Desvios significativos do equilíbrio de Hardy-Weinberg foram encontrados para todas as populações. O coeficiente de endogamia (F), médio para todos os loci, indicou deficiência de heterozigotos para todas as populações refletindo em um alto nível de endogamia. O valor de F em três populações foi igual a 1,00 e em uma população foi de 0,88. A taxa de fecundação cruzada estimada através de F foi muito baixa, variando de 0 a 6%. Estas estimativas indicam que esta espécie diplóide brasileira (*Oryza glumaepatula*) é preferencialmente autógama.

A Embrapa, utilizando amostras de populações de *Oryza glumaepatula* coletadas no Brasil, vem desenvolvendo um programa de pré-melhoramento visando a incorporar genes desta espécie em linhagem elite de *Oryza sativa*, monitorando o processo por marcadores moleculares e mapas genéticos. Com isto pretende-se criar linhagens de *Oryza sativa* vetoras de genes da espécie silvestre que serão utilizadas na ampliação da base genética das populações do melhoramento de arroz irrigado, visando a obtenção de linhagens de alta produtividade. A estratégia adotada na introgressão de genes de espécies silvestres nas cultivadas, envolve o uso de mapas de ligação molecular e as técnicas convencionais de melhoramento, conhecida como Método Avançado de Retrocruzamento para QTL, que permite que um grupo de alelos de uma planta exótica ou silvestre possa ser examinada em um conjunto gênico de uma cultivar ou linhagem elite. O mapa de ligação molecular é usado para identificar no cromossomo a posição dos alelos silvestres que foram transferidos para a progênie, determinar quais deles estão associados à comportamento superior e selecionar as linhagens que contém somente QTL silvestre específico no conjunto gênico elite. O esperado é que as linhagens elites modificadas apresentem melhor comportamento do que a cultivar original (Tanksley & McCouch, 1997).

Trabalho visando a introgressão de genes da espécie silvestre *Oryza glumaepatula* na cultivada, *Oryza sativa* (BG 90-2), foi desenvolvido por Brondani et al. (2001a e 2001b). Na primeira fase, a linhagem elite BG 90-2 foi cruzada com um acesso (RS 16) de *Oryza glumaepatula*. Quatro plantas híbridas F1, confirmadas por marcadores RAPD e SSR, foram retrocruzadas com BG 90-2. Um total de 256 plantas RC1F1 com características fenotípicas favoráveis foram retrocruzadas novamente com BG 90-2. Destas, 96 progênies RC2F1 foram selecionadas e utilizadas para a análise de QTLs e autofecundadas para produzir sementes RC2F2. As 96 famílias RC2F2, os dois parentais e a cultivar comercial BR-IRGA 409 (controle) foram avaliadas à campo no delineamento experimental de blocos ao acaso com 3 repetições. Foram coletados dados de: dias até o florescimento; altura de plantas; número de perfilhos; número de panículas; comprimento de panículas; espiguetas por panícula; percentagem de grãos cheios por panículas; peso de 100 grãos; produção por planta; número de grãos cheios por panícula e produção por panícula (GYPa). Foram construídos os mapas de ligação com 157 marcadores moleculares (150 marcadores SSR e 7 STS), usando 93 plantas RC1F1. Os marcadores mapeados foram também utilizados para genotipar as 96 plantas RC2F2, estimar o percentual de contribuição de cada parental em cada família RC2F2 e efetuar a análise de QTLs. Como resultado deste trabalho, foram identificadas 13 famílias que produziram maior número de panículas sem perfilhos estéreis, que o parental BG 90-2. Destas, uma família mostrou um aumento de 145,8% no número de panículas por planta em relação a BG 90-2, e possui um percentual estimado de 12,6% do genoma de *O. glumaepatula*. Selecionou-se também oito famílias, que apesar de não ter sido possível detectar segmentos cromossômicos da espécie silvestre com os marcadores utilizados, mostraram-se transgressivas para produtividade de grãos em relação a testemunha BG 90-2. Destas, uma família destacou-se das demais por produzir em média 31,27 gramas de grãos por planta.

## Referências Bibliográficas

- Breseghello, F.; Rangel, P.H.N.; Morais, O .P. 1999. Ganho de produtividade pelo melhoramento genético do arroz irrigado no Nordeste do Brasil. Pesquisa. Agropecuária. Brasileira., 34(3):399-407.
- Brondani, C.; Brondani, R.P.V.; Rangel, P.H.N.; Ferreira, M.E. 2001. Development and mapping of *Oryza glumaepatula*-derived microsatellite markers in the interspecific cross *O. glumaepatula* x *O. sativa*. Hereditas (aceito para publicação).
- Brondani, C.; Rangel, P.H.N.; Ferreira, M.E. 2001. QTL mapping and introgression of yield related traits from *Oryza glumaepatula* to cultivated rice (*O. sativa*) using microsatellite markers. Theoretical and Applied Genetics (aceito para publicação)
- Buso, G.S.C.; Rangel, P.H.N.; Ferreira, M.E. 1998. Analysis of genetic variability of South-American wild rice populations (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers. Molecular Ecology, 7:107-117.
- Buso, G.S.C.; Rangel, P.H.N.; Ferreira, M.E. 2001. Analysis of random and specific sequences of nuclear and cytoplasmic DNA in diploid and tetraploid american wild rice species (*Oryza* spp.). Genome, 44:1-19.
- Chang, T.T. 1994. Rice. In: Simmonds, N.M. (ed.). Evolution of crop plants. Logman Group Limited, New York: p.84-104.
- Instituto Rio Grandense do Arroz (IRGA). 1999. Área plantada por cultivar no RS: período entre 1987/88 a 1998/99. DATER/NATEs. Divisão de Política Setorial.
- International Rice Research Institute. 1994. Rice facts. Manila, Philippines: IRRI.
- Morishima, H. & Martins, P.S. 1994. Investigations of plant genetic resources in the Amazon basin with the emphasis on the genus *Oryza*. Report of 1992/93 Amazon Project. 100p.
- Rangel, P.H.N.; Guimarães, E.P.; Neves, P.C.F. 1996. Base genética das cultivares de arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado do Brasil. Pesquisa Agropecuária Brasileira, 31(5):349-347.
- Rangel, P.H.N.; Pereira, J.A .; Morais, O .P.; Guimarães, E.P.; Yokokura, T. 2000. Ganhos para produtividade de grãos pelo melhoramento genético do arroz (*Oryza sativa* L.) irrigado no meio norte do Brasil. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 35(18):1595-1604.
- Santos, P.G.; Soares, P.C.; Soares, A .A .; Morais, O .P.; Cornélio, V.M. de O. 1999. Avaliação do progresso genético do obtido em 22 anos no melhoramento do arroz irrigado em Minas Gerais. Pesquisa Agropecuária Brasileira. 34(10):1889-1896.
- Tanksley, S. & McCouch, S.R. 1997. Seed banks and molecular maps: unlocking genetic potential from the wild. Science, 277:1063-1066.

W-02

## COTTON TRANSGENICS AND INTEGRATED PEST MANAGEMENT

## PERSPECTIVAS DO ALGODÃO NO BRASIL

**Eleusio Curvêlo Freire****Pesquisador e Chefe Geral da Embrapa Algodão**

A produção do algodão no Brasil nas últimas três décadas tem se caracterizado pôr grandes mudanças. Na décadas de setenta e parte da década de oitenta a cotonicultura nacional caracterizava-se pôr um processo produtivo predominantemente familiar, com grande absorção de mão de obra temporária, lavouras com baixa produtividade, especialmente nas lavouras instaladas na região nordeste do Brasil e, colheita manual. A produção obtida não era totalmente consumida no país sendo exportados anualmente volumes entre 30 a 180 mil t de pluma anuais. Neste período foram criadas condições para a ampliação da industrialização interna, especialmente através do polo têxtil do Nordeste, implantado as custas de incentivos fiscais concedidos pela Superintendência de Desenvolvimento do Nordeste-SUDENE e pêlos governos estaduais do Nordeste, para grupos empresariais que instalassem novas indústrias têxteis na região, especialmente nos Estados do Ceará , Pernambuco , Rio Grande do Norte e Paraíba. Como consequência em 1989 existiam 5.699 indústrias têxteis em funcionamento no Brasil, as quais empregavam 1.049.128 pessoas.

A partir de meados da década de oitenta a cotonicultura nacional entrou numa séria crise, provocada pôr uma conjunção de fatores, especialmente os seguintes: introdução da praga conhecida como bicudo do algodoeiro e sua dispersão pelas principais regiões produtoras a partir de 1983; mudanças na política de crédito rural, dificultando o acesso dos pequenos produtores; incapacidade técnica e econômica dos pequenos produtores das regiões Nordeste , Sudeste e Sul de conviverem com essa praga, resultando em grandes prejuízos e reduções de área cultivada; abandono da atividade de plantio pêlos pequenos produtores, que migraram para a periferia dos centros urbanos, causando graves problemas sociais; intervenções governamentais (pacotes economicos , restrição a exportação), resultaram em redução do consumo de têxteis ou preços defasados e não compensatório á nível do produtor rural; desregulamentação do comércio exterior, através da redução da alíquota de importação de 55% para 10% em 1988 e para 0% em 1991, associado a cambio defasado favoreceram a importação de grandes volumes de algodão, a prazos longos (até 400 dias) resultando em nova crise de