

# VARIAÇÃO SOMACLONAL EM ALGUMAS CARACTERÍSTICAS DO GRÃO E DO CICLO DA PLANTA DE ARROZ (*Oryza sativa* L.)

EVALDO PACHECO SANT'ANA<sup>1</sup>  
ADELSON DE BARROS FREIRE<sup>1</sup>  
MOABY DYANE DIAS<sup>2</sup>

**RESUMO** – Estudou-se o efeito de dois meios de cultura na indução de variantes somaclonais em arroz com relação a algumas características do grão e do ciclo da planta para floração, usando-se a cultura de anteras. A frequência de surgimento de somaclones diferiu significativamente entre os dois meios estudados com relação às características de

porcentagem de grãos inteiros no beneficiamento, classificação visual dos grãos e no ciclo das plantas na floração. Plantas originárias do meio sólido apresentaram, em média, maior porcentagem de grãos inteiros e menores índices de classificação visual e ciclo até a floração do que as plantas originárias do meio líquido.

**TERMOS PARA INDEXAÇÃO:** Arroz, meio de cultura, cultura de anteras, variação somaclonal

## SOMACLONAL VARIATION IN SOME CHARACTERISTICS OF THE GRAIN AND IN THE GROWTH DURATION OF THE RICE PLANT (*Oryza sativa* L.)

**ABSTRACT** – A study on the effect of two media on the frequency of somaclonal mutants in rice was carried out in relation to some characteristics of the grain and in the growth duration of the plant using anther culture. Significant differences were found for the percentage of

head rice yield, grain shape and the growth duration of the plant at flowering. Plants coming from solid medium showed higher head rice yield, longer and thin grain and shorter growth duration than those from liquid medium.

**INDEX TERMS:** Rice, tissue culture, culture medium, anther culture, somaclonal variation.

### INTRODUÇÃO

Em plantas regeneradas por meio de cultura de tecidos, freqüentemente podem surgir indivíduos que se distinguem da planta original em um ou mais caracteres e essas alterações podem ser estáveis e transmissíveis aos descendentes. Esse fenômeno é denominado de variação somaclonal (Illg, 1990). As causas prováveis que induzem esse fenômeno são várias e de natureza bastante distintas, como: variação pré-existente (Larkin e Scowcroft, 1981), mutação nuclear ou citoplásmica (Brettell et al., 1986; Evans e Sharp, 1983), poliploidia ou outras aberrações cromossômicas (Ahloowahlia, 1982; Orton, 1983), recombinação mitótica (Larkin e Scowcroft, 1981; 1982), entre outras.

Outro fator importante que pode afetar a variação somaclonal é a composição química do meio de cultura

(Forche e Yeoman, 1980). Reguladores de crescimento como o ácido diclorofenoxiacético (2-4 D) podem exercer grande influência nas alterações do cariótipo, provocando um crescimento desordenado das estruturas celulares, com conseqüente surgimento de células com anomalias (Bayliss, 1975; Evans, Sharp e Medina Filho, 1984). Prasad e Das (1977) observaram que o ácido naftalenoacético (ANA) e o 2-4 D pode induzir a perda do fuso cromático e outras anormalidades na mitose das plantas, provocando o surgimento de poliploides. Além disso, as condições físicas do meio de cultura (sólida ou líquida) podem afetar o comportamento dos organismos desenvolvidos nessas condições (Caldas, Haridasan e Ferreira, 1990; Lentini et al., 1994). Assim, Heller et al. (1968) observaram uma absorção mais intensa de

---

1. Pesquisador da Embrapa Arroz e Feijão, Caixa Postal 179, 75375-000 Santo Antônio de Goiás, GO.

## 2. Estagiária de Estágio Curricular da UNITINS-TO.

fosfato em cultura de tecidos de cenoura em meio líquido em relação meio sólido.

A obtenção de variantes somaclonais é relativamente comum em espécies vegetais, como cevada (Bregitzer e Poulson, 1995), feijão (Mohamed, Coine e Read, 1993), trigo (Guensi, Mornhinweg e Johnson, 1992), ervilha (Cecchini et al., 1992), aveia (Dahleen, Stuthman e Rines, 1991), entre outras. Para a cultura do arroz, os melhoristas têm utilizado diferentes processos para a introdução de características favoráveis nos grãos das novas cultivares a serem lançadas. Os métodos convencionais de melhoramento têm sido muito utilizados e, embora bastante eficientes, são muito caros e requerem longo prazo para obtenção de resultados concretos (Allard, 1960). Métodos não-convencionais, como a mutação induzida, além de ser também bastante caro, tem os inconvenientes e riscos de se manusear produtos químicos altamente tóxicos e materiais radiativos de alta periculosidade para qualquer ser vivo. Nesse sentido, a variação somaclonal apresenta-se como uma alternativa de melhoramento bastante interessante, dada sua rapidez, segurança e economia de tempo e recursos (Illg, 1990).

No melhoramento genético do arroz, as características do grão são prioritárias no processo de seleção das plantas, dada a sua importância na definição de lançamentos de novas cultivares para plantio comercial. Segundo Guimarães (1989), o tipo de grão preferido, principalmente nos maiores centros consumidores, é o longo-fino, vítreo, com alto rendimento de grãos inteiros no beneficiamento e temperatura de gelatinização intermediária, o que confere ao produto um bom comportamento de panela. Além disso, a precocidade da planta é uma característica importante no melhoramento do arroz, já que o agricultor tem dado preferência por cultivares de ciclo mais curto, especialmente nos sistemas intensivos de produção como no pivô central.

Variantes somaclonais em arroz já foram obtidas para resistência a doenças, para vários tipos de grãos e, também, para características complexas como resistência à seca (Adkins, Kunanuvatchaidach e Godwin, 1995; Araújo, 1994; Zapata et al., 1983).

Este trabalho foi desenvolvido com o objetivo de estudar a influência do meio de cultura no surgimento de variantes somaclonais em plantas de arroz, com

relação a algumas características físicas e químicas do grão e do ciclo de floração da planta.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material utilizado neste trabalho foi a linhagem de arroz de terras altas CNA 7127, de ciclo médio e grãos do tipo longo e fino. As sementes foram tratadas com fungicida (Carboxin + Tiram) na dose de 300 ml/100 kg de sementes e semeadas em vasos com capacidade de 15 l de solo. Cada vaso foi adubado com 20 g da fórmula 4-30-16 + Zn e 6 g de sulfato de amônio em cobertura.

No estádio uninucleado do micrósporo, as panículas das plantas obtidas foram coletadas e colocadas em sacos de polietileno, umedecidas e guardadas em geladeira a 4 °C durante oito dias (Zapata, Heu e Khush, 1982). Posteriormente, as panículas foram lavadas com detergente líquido, enxaguadas em água corrente e tratadas superficialmente com solução de hipoclorito de sódio a 8% durante 15 minutos. Em seguida, foram enxaguadas quatro vezes em água destilada e esterilizada em condições assépticas para a dissecação das espiguetas, sendo, então, removidas as anteras em câmaras de fluxo laminar.

Foi utilizado o meio de cultura N6 para a indução de calos nas condição líquida (L) e adicionados 146 µm/l de sacarose, 9 µm/l de 2, 4-D, 0,287 µm/l de picloram e 4,60 µm/l de cinetina e sólida (S), acrescido de 146 µm/l de sacarose, 5,30 µm/l de ANA (ácido naftalenoacético), 1,02 µm/l de picloram e 6,00 g/l de ágar (Chu et al., 1975).

As anteras foram incubadas no meio S em placas de Petri na quantidade de 150 por placa, e no meio L em frasco com capacidade de 50 ml contendo 10 ml de meio. As placas e frascos foram vedadas com fita de polietileno e levadas para câmara de crescimento, onde permaneceram no escuro a 26 °C durante quatro a oito semanas.

Para a regeneração de plântulas, foram selecionados calos sem indícios de contaminação, com crescimento normal e aspecto viável. Os calos obtidos nos dois meios foram microcultivados em placa de Petri com meio MS (Murashige e Skoog, 1962), sólido, acrescido de 116µm/l de sacarose, 4,60 µm/l de cinetina + 2,65 µm/l de ANA e 6 g/l de ágar e pH ajustado para 6,5 ± 0,1. As placas, vedadas com fita de polietileno, foram levadas para crescimento, à temperatura de 26 °C ± 1, 0 °C e intensidade luminosa de 500 µE.m-2.s-1 por 16 horas de luz e 8 horas de escuro.

Após o período de quatro a seis semanas, as plântulas verdes regeneradas foram transferidas para vasos com capacidade de 15 l de solo, adubados com 20 g da fórmula 4-30-16 + Zn/vaso e 6 g de sulfato de amônio em cobertura e colocadas em condições de solo em casa-de-vegetação.

As plantas aclimatadas (haplodiplóides – R1) foram transplantadas para cultivo em condições de campo com irrigação por inundação controlada. Na maturação, as plantas foram colhidas individualmente e as sementes obtidas (R2) foram semeadas no verão (estação chuvosa), em condições de terras altas, na base de duas linhas de cinco metros por planta. Na maturação, foram selecionadas somente parcelas com plantas com a característica de grão longo-fino, (comprimento = > 6,0 mm, espessura = < 1,90, relação C/L > 2,75). Nessas parcelas, foi coletada uma amostra de grãos, sendo obtidos os dados de renda no benefício (TOT), rendimento do grão (INT), temperatura de gelatinização dos grãos (TG), incidência de centro branco nos grãos (CB), classificação visual do tipo de grãos (CV) e o ciclo das plantas na floração (FLO). As definições resumidas desses parâmetros são:

TOT: total de grãos obtidos no beneficiamento e expresso em porcentagem;

INT: total de grãos inteiros obtidos no beneficiamento e expresso em porcentagem;

TG: temperatura de cozimento do grão na qual a água é absorvida e os grânulos de amido aumentam irreversivelmente de tamanho. As notas variam de 1 (grão inalterado) a 7 (grão totalmente desintegrado);

CB: ocorrência de áreas de cristalização imperfeita do amido no interior do grão. As notas variam de 1 (excelente – grão totalmente cristalino) a 5 (péssimo – grão totalmente opaco);

CV: obtida pela comparação visual entre a amostra de grão em estudo e uma tabela-padrão de comprimento e largura do grão de arroz. As notas variam de 1 (extra longo: = < 8,13 mm) a 9 (curto: => 5,2 mm);

FLO: obtida quando 50 % das panículas da parcela estão emergidas.

Os dados foram submetidos a análises estatísticas utilizando o delineamento experimental inteiramente casualizado, sendo considerados como tratamentos os dois meios de cultura (LeS), as repetições e as parcelas selecionadas em campo (Gomez e Gomez, 1976). Os coeficientes de variação fenotípico foram obtidos de acordo com Vencovsky e Barriga (1992).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para as análises estatísticas, foram utilizados dados obtidos de 441 parcelas de plantas R<sub>2</sub>, sendo 141 originárias do cultivo em meio L e 300 em meio S.

Os resultados das análises indicaram haver diferenças significativas entre os tratamentos L e S somente para os caracteres INT, CV e FLO, mostrando o comportamento diferenciado desses caracteres nas plantas originadas do cultivo nos dois meios de cultura estudados (Tabela 1).

O meio L apresentou menor valor para INT, indicando que esse meio favoreceu o desenvolvimento de plantas com maior tendência à quebra dos grãos no beneficiamento. Por outro lado, os valores médios obtidos para CV e FLO foram significativamente maiores no meio L (Tabela 2).

**TABELA 1** – Teste de significância entre os tratamentos meio líquido (L) e sólido (S) para as características de renda no benefício (TOT), rendimento de grãos inteiros (INT), temperatura de gelatinização (TG), índice de centro branco (CB), classificação visual do tipo de grão (CV) e ciclo da planta na floração (FLO) em plantas regeneradas através do cultivo de anteras em arroz .

Características	F	Pr > F	Coef. V
TOT	0,340	0,558	1,583
INT	52,510	0,0001	10,032
TG	0,200	0,6543	2,644
CB	1,960	0,1599	12,995
CV	4,220	0,0406	27,263

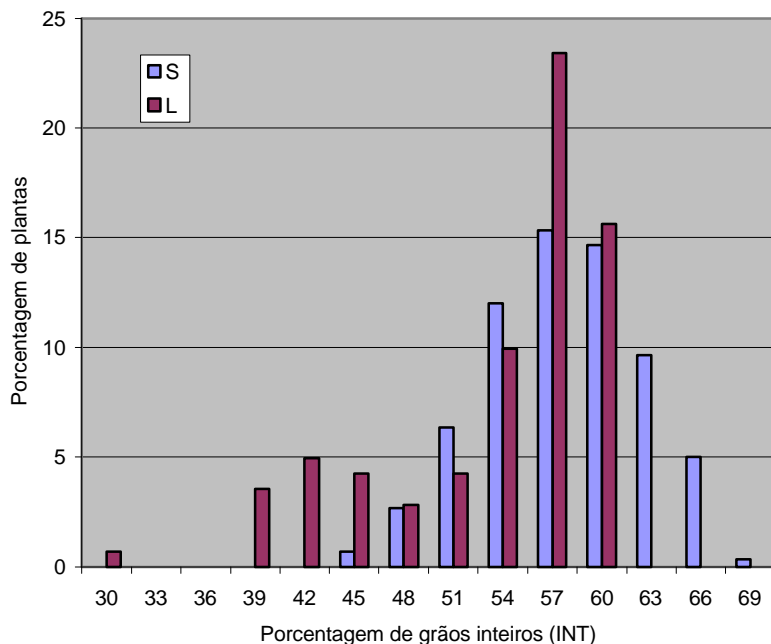


(Sugimoto, Miyake e Takeoka, 1999; Shen, Cai e Gao, 1993; Marissi e Rapela, 1992).

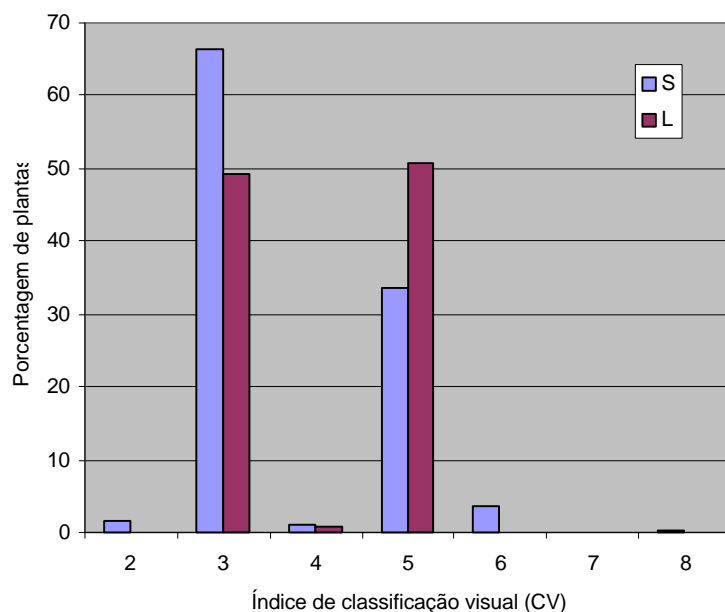
As características CB, TOT e TG não diferiram significativamente entre os dois meios de cultura utilizados, como mostrado na Tabela 1 e nas Figuras 4, 5 e 6.

Assim, o meio sólido mostrou ser significativamente mais eficiente na promoção do

surgimento de variantes somaclonais com maior número de grãos inteiros no beneficiamento e grãos mais longos e finos. Além disso, esse meio apresentou também maior frequência de plantas de menor ciclo na floração. Essas três características são desejáveis para o melhoramento genético e de fundamental importância no processo de recomendação de cultivares.



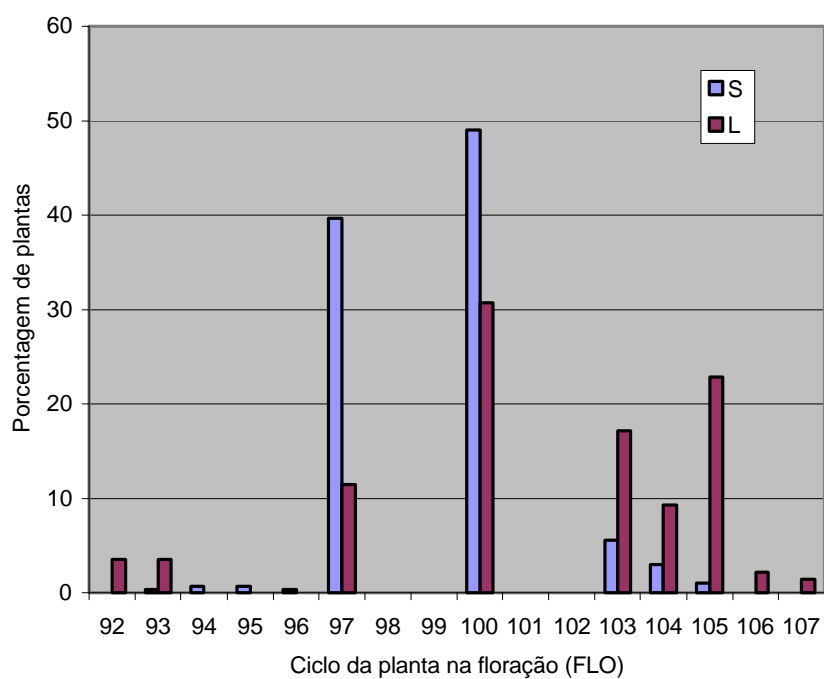
**FIGURA 1** - Porcentagem de grãos inteiros no beneficiamento em plantas derivadas do cultivo de anteras de arroz em dois meios de cultura, sólido (S) e líquido (L):



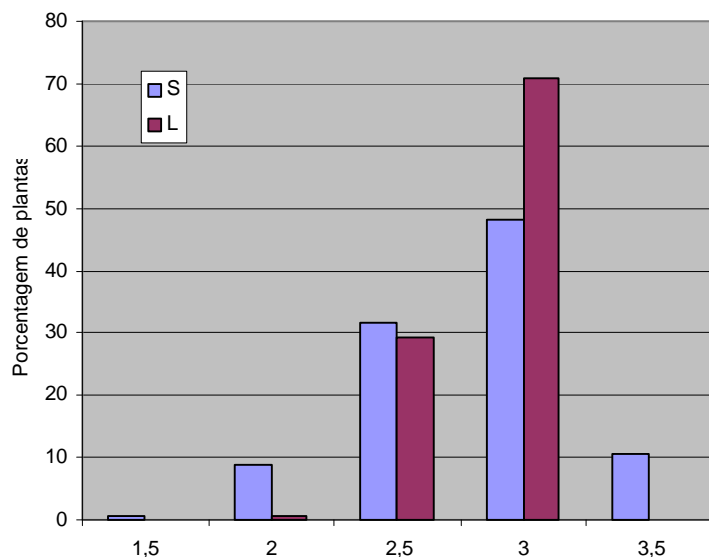
**FIGURA 2** - Índices de classificação visual do grão em plantas derivadas do cultivo de anteras de arroz em dois meios de cultura, sólido (S) e líquido (L).

- Amplitude de variação (AMP) e coeficiente de variação fenotípica (CVF) das características de rendimento no benefício (TOT), das anteras de cultivo de arroz, em meio de cultura sólido e líquido.

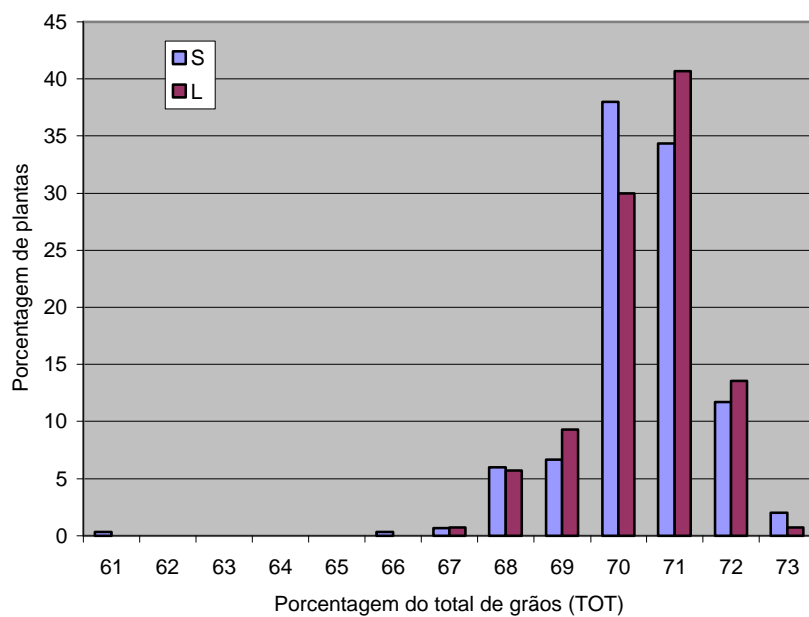
	TOT		INT		TG		CB		CV		FLO	
	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L
Max.	73,470	72,730	69,570	62,220	4,000	3,500	3,500	3,000	8,000	5,000	105,000	107,000



**FIGURA 3** - Ciclo das plantas na floração (FLO) em plantas derivadas do cultivo de anteras de arroz em dois meios de culturas, sólido (S) e líquido (L):

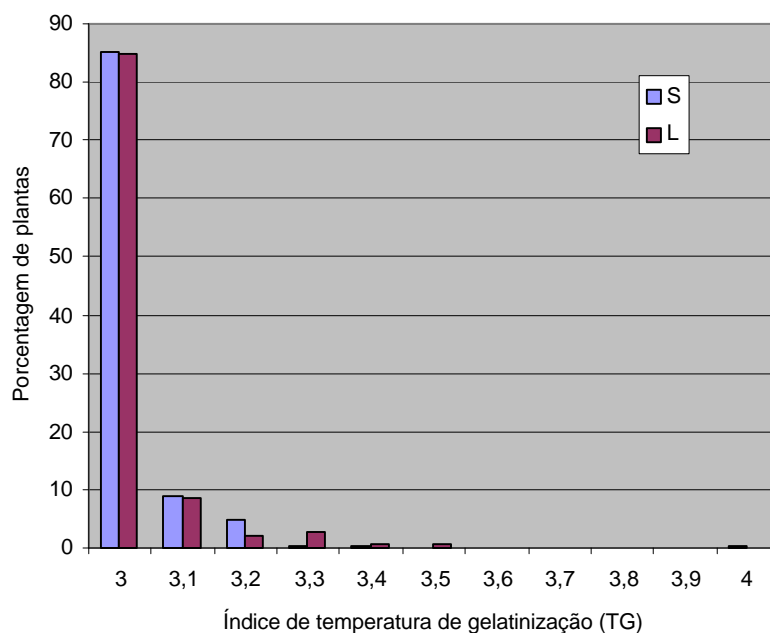


**FIGURA 4** - Índices de centro branco (CB) em plantas derivadas do cultivo de anteras de arroz em dois meios de cultura, sólido (S) e líquido (L).



**FIGURA 5** - Porcentagem do total de grãos em plantas derivadas de cultura de anteras de arroz em dois meios de cultura, sólido (S) e líquido (L).





**FIGURA 6** - Índice de temperatura de gelatinização (TG) em plantas derivadas do cultivo de anteras de arroz em dois meios de cultura, sólido (S) e líquido (L).

### CONCLUSÕES

A frequência de plantas de arroz alteradas permanentemente nas características avaliadas foi dependente do meio de cultura utilizado.

As plantas originadas em meio sólido apresentaram, em média, maior porcentagem de grãos inteiros, menor índice de classificação visual do grão e menor ciclo na floração do que as originadas em meio líquido.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADKINS, J.; KUNANUVATCHAIDACH, R.; GODWIN, I. Somaclonal variation in rice-drought tolerance and other agronomic characters. **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v.43, p.201-209, Mar./Apr. 1995.
- AHLOOWAHLIA, B.S. Plant regeneration from callus culture in wheat. **Crop Science**, Madison, v.22, p.405-410, Mar./apr. 1982.
- ALLARD, R.W. **Principles of plant breeding**. New York: J. Wiley, 1960. 381p.
- ARAÚJO, L.G. **Variação somaclonal em arroz, com relação a resistência à brusone**. Goiânia: UFG, 1994. 140p. (Dissertação - Mestrado em Biologia/Genética).
- BAYLISS, M.W. The effects of growth in vitro on the chromosome complement of *Daucus carota* L. suspension cultures. **Chromosoma**, Heidelberg, v.51, p.401-411, June 1975.
- BREGITZER, P.; POULSON M. Agronomic performance of barley lines derived from tissue culture. **Crop Science**, Madison, v.35, p.1144-1148, July/Aug. 1995.
- BRETTELL, R.I.S.; DENNIS, E.S.; SCOWCROFT, W.R.; PEACOCK, W.J. Molecular analysis of somaclonal mutant of maize alcohol dehydrogenase. **Molecular and General Genetics**, New York, v.202, p.235-239, Feb. 1986.

- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (eds). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas/EMBRAPA, 1990. p. 37-69.
- CARVALHO, S. **Androgênese em arroz** (*Oryza sativa* L.): indução de calos e regeneração de plantas. Piracicaba: ESALQ, 1989. 77p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia).
- CECCHINI, E.; NATALI, L.; CAVALLINI, A.; DURANTE, M. DNA variations in regenerated plants of pea (*Pisum sativum* L.). **Theoretical and applied genetics**, Berlin, n.84, p.874-879, Sept. 1992.
- CHU, C.C.; WANG, C.C.; SUN, C.S.; YIN, K.C.; CHU, C.Y.; BI, F.Y. Establishment of an efficient medium anther culture of rice through comparative experiment on the nitrogen sources. **Scientia Sinica**, Peking, v.18, n.5, p.659-668, May 1975.
- DAHLEEN, L.S.; STUTHMAN, D.D.; RINES, H.W. Agronomic traits variation in oat lines derived from tissue culture. **Crop Science**, Madison, n.31, p.90-94, Jan./ Feb. 1991.
- EVANS, D.A.; SHARP, W.R. Single gene mutation in tomato plants regenerated from tissue culture. **Science**, Washington, v.221, n.4614, p.949-951, Sept. 1983.
- EVANS, D.A.; SHARP, W.R.; MEDINA-FILHO, H.P. Somaclonal and gametoclonal variation. **American Journal of Botany**, Columbus, v.71, n.6, p.759-774, June 1984.
- FORCHE, E.; YEOMAN, M.M. Cell proliferation and growth in callus culture. In: PERSPECTIVE in plant cell and tissue culture. New York: Academic Press, 1980. p.1-24.
- GÓMEZ, K.A.; GÓMEZ, A.A. **Statistical procedures for agricultural research with emphasis on rice**. Los Baños: IRRI, 1976. 294p.
- GUENSI, A.C.; MORNHINWEG, D.W.; JOHNSON, B.B. Genetic analysis of a grass dwarf mutation induced by wheat callus culture. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, n.84, p.952-957, Sept. 1992.
- GUIMARÃES, E.P. **Qualidade de grão em arroz**. Campinas, 1989. 13p. (Documento apresentado na VII Reunião da Comissão Técnica de Arroz da Região II - mimeografado).
- HELLER, R.; DARPAS, A.; DEVILLERS, P.; RICHEZ, M. Absortion et exsorption des tissus et fragments végétaux en culture. In: LES CULTURES de tissus de plants. Paris: CNRS, 1968. p.149-169.
- ILLG, R.D. Variação somaclonal. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S. (eds). **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: Associação Brasileira de Cultura de Tecidos de Plantas/EMBRAPA, 1990. p. 287-295.
- LARKIN, P.J.; SCOWCROFT, W.R. Somaclonal variation a novel source of variability from cell culture for plant improvement. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v.60, p.197-214, Oct. 1981.
- LARKIN, P.J.; SCOWCROFT, W.R. Tissue culture research: status and potential. In: RICE TISSUE CULTURE PLANNING CONFERENCE, 1980, Manila, Filipinas. **Proceedings...** Manila: IRRI, 1982. p.15-24.
- LENTINI, Z.; REYES, P.; MARTINEZ, C.P.; NÚÑEZ, V.M.; ROCA, W.M. **Mejoramiento del arroz con cultivo de anteras**. Cali: CIAT, 1994. 79p.
- MARISSI, M. A.; RAPELA, M. A. Variacion somaclonal en plantas de arroz (*Oryza sativa* L.) regeneradas por cultivo in vitro de semillas. **Revista de la Facultad de Agronomia La Plata**, La Plata, v. 65, p. 45-51, ene. 1992.
- MOHAMED, M.F.; COINE, D.P.; READ, P.E. Shoot organogenesis in callus induced from pedicel explants of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Journal of the American Society for Horticultural Science**, St. Joseph, n.118, p.158-162, Jan. 1993.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue

- cultures. **Physiologia Plantarum**, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- ORTON, T.J. Experimental approaches to the study of somaclonal variation. **Plant Molecular Biology Report**, Dordrecht, v.1, p.67-76, 1983.
- PRASAD, G.; DAS, K. Effects of some growth substance on mitosis. **Cytologia**, Tokyo, v.42, p.323-329, Apr. 1977.
- SHEN, Y. W.; CAI, Q. H.; GAO, M. W. Large grain somaclonal variants in IR26. **International Rice Research Notes**, Los Baños, v.18, p.12, Mar. 1993.
- SUGIMOTO, K.; MIYAKE, H.; TAKEOKA, Y. Somaclonal variation in regenerants derived from anther culture of rice (*Oryza sativa* L.). **Plant Production Science**, Tokyo, v.2, p.71-76, Jan. 1999.
- TOMES, D.T. Cell culture, somatic embryogenesis and plant regeneration in maize, rice sorghum and millets. In: BRIGHT, S.W.J.; JONES, M.G.K. **Cereal tissue and cell culture**. Dordrecht: M. Nijhoff, 1985. p.175-203.
- VENCOVSKY, R.; BARRIGA, P. **Genética biométrica no fitomelhoramento**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 1992. 392p.
- ZAPATA, F.J.; HEU, M.H.; KHUSH, G.S. Anther culture research for rice breeding at IRRI. In: INTERNATIONAL RICE RESEARCH CONFERENCE, 1982, Los Baños, Filipinas. **Proceedings...** Manila: IRRI, 1982. p.11.
- ZAPATA, F.J.; KHUSH, G.S.; CRILL, J.P.; HEU, M.H.; ROMERO, R.O.; TORRIZO, L.B.; ALEJAR, M. Rice anther culture at IRRI. In: CELL AND TISSUE CULTURE TECHNIQUES FOR CEREAL CROP IMPROVEMENT, 1981, Beijing. **Proceedings...** Manila: IRRI, 1983. p.27-46.