

REGENERAÇÃO DE PLANTAS NO CULTIVO DE CALOS DE GENÓTIPOS BRASILEIROS DE TRIGO¹

SANDRA C.K. MILACH², LUIZ CARLOS FEDERIZZI, FERNANDO I. F. DE CARVALHO³,
ANA L. C. DORNELLES e CLAUDIA LANGE⁴

RESUMO - Dezesesseis genótipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) foram avaliados quanto à regeneração de plantas *in vitro*. Embriões imaturos de trigo foram colocados em meio MS com 5 mg e 2 mg de 2,4D/l para iniciar o cultivo *in vitro*. Nas etapas posteriores de cultivo a concentração de 2,4D foi reduzida para 0,5 mg/l, 0,1 mg/l e depois o 2,4D foi retirado do meio de cultura. A metodologia utilizada foi satisfatória para a regeneração de plantas de diferentes genótipos brasileiros de trigo. Variabilidade entre genótipos foi observada para regeneração de plantas *in vitro*, contudo, a capacidade regenerativa dos genótipos foi modificada em presença de diferentes níveis de 2,4D. As progênie de plantas regeneradas dos genótipos Nobre e Maringá foram avaliadas no campo para as características estatura de planta, número de dias até o florescimento e número de espiguetas e grãos por espiga. Variação somaclonal foi obtida nos dois genótipos para todos os caracteres estudados.

Termos para indexação: *Triticum aestivum*, variação somaclonal.

PLANT REGENERATION IN CALLUS CULTURE OF BRAZILIAN WHEAT GENOTYPES

ABSTRACT - Sixteen wheat genotypes were evaluated for *in vitro* plant regeneration. Immature wheat embryos were inoculated on MS medium with 5 mg and 2 mg/l 2,4D to callus initiation. The rest of culture was done on MS medium with 0,5 mg/l, 0,2 mg/l and without 2,4D in the media. The methodology used was suitable to regenerate plants of different Brazilian wheat genotypes. Variability among genotypes was observed to plant regeneration. Regenerative capacity changed, however, with different levels of 2,4D. The offspring of Nobre and Maringá genotypes from *in vitro* regenerated plants was evaluated on field to plant height, heading date and spikelet number and seed number per spike. Somaclonal variation was observed in both genotypes to all evaluated traits.

Index terms: *Triticum aestivum*, somaclonal variation.

INTRODUÇÃO

Nos últimos 20 anos, as técnicas de cultura de células e tecidos vegetais começaram a ser desenvolvidas e aplicadas em diversos programas de melhoramento para a obtenção de

genótipos superiores na maioria das espécies. Desde então, o uso dessas técnicas tem apresentado grande potencial por permitirem reduzir a complexidade dos organismos através da manipulação de células e tecidos.

Entretanto, o sucesso da aplicação e uso dessas técnicas tem dependido da capacidade da espécie de regenerar plantas no cultivo *in vitro*. Na maioria dos cereais a regeneração de plantas *in vitro* tem sido o maior desafio para o estabelecimento de metodologias adequadas de cultura de células e tecidos (Maddock 1985).

Em trigo, diversos trabalhos têm relatado com sucesso a regeneração de plantas *in vitro* a partir de calos embriogênicos. Contudo, o

¹ Aceito para publicação em 3 de junho de 1991.
Extraído da Dissertação de Mestrado da primeira autora.
Dep. de Plantas de Lavoura, Curso de Pós-Graduação em
Fitotecnia, UFRGS.

² Eng^a.-Agr^a., M.Sc., Universidade Federal de Pelotas,
(UFPEl), Caixa Postal 354, CEP 96100 Pelotas, RS.

³ Eng.-Agr., Ph.D., Fac. de Agron., UFRGS. Caixa Postal
776, CEP 90001 Porto Alegre, RS. CNPq.

⁴ Eng^a.-Agr^a. em pós-graduação, área Fitot., UFRGS.

potencial regenerativo tem variado com o uso de diferentes genótipos, níveis de reguladores de crescimento, meios básicos de cultura e tipos de explante (Ahloowalia 1982, Sears & Deckard 1982, Ozias-Akins & Vasil 1982 e 1983, Maddock et al. 1983, Heyser et al. 1985, He et al. 1986, Papenfuss & Carman 1987 e Agache et al. 1988).

O meio básico de cultura Murashige & Skoog (1962) suplementado com 1 a 5 mg/l de 2,4D tem sido o mais empregado para a indução de calos embriogênicos a partir do embrião imaturo do trigo (Mchughen 1983, Eapen & Rao 1985, He et al. 1986 e Agache et al. 1988). Entretanto, segundo Ozias-Akins & Vasil (1983), concentrações altas de 2,4D inibem a proliferação celular e 2 mg de 2,4D/l de meio básico é a concentração ótima para a indução de calos embriogênicos.

A maioria dos cereais tem apresentado variabilidade entre genótipos para a regeneração de plantas *in vitro*, e diversos autores têm sugerido que essa característica está sob controle genético (Lazar et al. 1983, Miah et al. 1985, Hodges et al. 1986 e Ahloowalia 1987).

A metodologia de cultura de calos embriogênicos e regeneração de plantas *in vitro* ainda não foi relatada para genótipos brasileiros de trigo. O sucesso do uso dessas técnicas dependerá do ajuste da metodologia e do teste de capacidade regenerativa desses genótipos.

Uma das aplicações das técnicas de cultura de células e tecidos tem sido a obtenção de variação somaclonal nas progênes de plantas regeneradas *in vitro*, que pode ser utilizada, entre outras coisas, em espécies como trigo, para seleção, no interior das células, de características com problemas de seleção em condições de campo.

Variantes somaclonais têm sido observadas em trigo para características de importância agrônômica, como: rendimento de grãos, peso de mil grãos e estatura de planta (Ahloowalia & Sherington 1985). Os autores verificaram que a variabilidade gerada *in vitro* ainda era mantida após três gerações de autofecundação, e sugeriram ter sido genética e não transitória ou fisiológica.

Os objetivos deste trabalho foram: adaptar a metodologia de indução de calos embriogênicos e regeneração de plantas para genótipos brasileiros de trigo; avaliar diferentes genótipos quanto ao potencial de regeneração de plantas *in vitro*, e testar as progênes de plantas regeneradas para características de importância agrônômica.

MATERIAL E MÉTODOS

Dezesseis genótipos brasileiros de trigo (*Triticum aestivum* L.) foram avaliados quanto à regeneração de plantas *in vitro*, em dois experimentos diferentes.

No experimento I foram testados os genótipos Alondra, Batufra, BR 23, CEP 11, CEP 14 (Tapes), CEP 17 (Itapuã), Maringá, Nobre, Palmeira, PF 843025, PF 843083, PF 853048, PF 85845, Santa Maria (RS-2) e Veery "S", e colocados em meio de cultura 15 embriões por genótipo.

No experimento II, 35 embriões dos mesmos genótipos foram avaliados, com exceção do CEP 17 e PF 853048, e inclusão do BR 14.

O explante utilizado foi o embrião imaturo de trigo, coletado 14 a 18 dias após a antese, com um a dois milímetros de comprimento.

As sementes imaturas foram desinfestadas com etanol a 70%, por 30 segundos, alvejante comercial a 20% (com hipoclorito de sódio a 5%), por 15 minutos, e três lavagens com água esterilizada.

Os embriões imaturos foram colocados com o escutelo para cima em meio de cultura Murashige & Skoog (1962) suplementado com 30 g/l de sacarose, 6 g/l de ágar-ágar (Difco), 100 mg/l de mio-inositol e 2,4D (ácido 2,4-diclorofenoxiacético), e corrigido para pH 5,8 com o acréscimo de hidróxido de sódio.

A concentração de 2,4D no meio básico de cultura para a indução de calos no experimento I foi de 5 mg/l e no experimento II de 2 mg/l.

Cada embrião foi colocado em um frasco de 20 ml de volume contendo 7 ml de meio de cultura e vedado com filme PVC transparente.

Após 21 dias, os calos regenerados foram transferidos para frascos de mesmo tamanho com 7 ml de meio MS, porém com 0,5 mg/l de 2,4D. Nessa etapa de cultivo os calos permaneceram por mais 21 dias e então foram transferidos para frascos de 100 ml de volume contendo 20 ml de meio básico com 0,1 mg/l de 2,4D para regeneração da parte aérea da planta. Por volta de 21 dias após, os calos que rege-

neraram a parte aérea e/ou apresentaram pontos verdes, foram transferidos para frascos de mesmo tamanho contendo meio de cultura básico sem reguladores de crescimento para a formação do sistema radicular das plantas. O tempo necessário para a formação do sistema radicular foi de 21 a 30 dias

As condições de inoculação foram temperatura de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, escuro nas duas primeiras etapas de cultivo e luz constante a partir da etapa de regeneração da parte aérea.

As plantas de cada calo foram retiradas dos vidros, separadas, e, após o período de ajuste ao novo ambiente, transferidas para o telado onde permaneceram até a colheita.

As frequências de calos com pontos verdes e que regeneraram plantas e/ou raízes foram calculadas pelo número de calos que apresentaram pontos verdes e regeneraram plantas e/ou raízes, sobre o número total de calos induzidos, excluindo-se os calos contaminados. A análise estatística-não-paramétrica foi utilizada para avaliar a frequência de regeneração de plantas devido à natureza discreta dos dados. Através do teste de Kruskal-Wallis foram obtidos os escores médios para os diferentes genótipos. Os escores médios foram comparados pela diferença mínima significativa (d.m.s.) a nível de 5%, conforme Campos (1983).

As sementes das plantas regeneradas *in vitro* dos genótipos Nobre e Maringá colhidas no telado foram semeadas no campo experimental em 16 de junho (primeira época) e 14 de julho de 1989 (segunda época). O plantio foi feito em linhas de 3 m, com espaçamento de 20 cm entre plantas. Linhas de testemunha, semente provenientes de plantas não regeneradas *in vitro*, foram colocadas entre as linhas de progênies de plantas regeneradas. Um número variável de linhas e plantas no campo foi obtido de cada progênie de planta regenerada, conforme a disponibilidade de sementes provenientes do telado. Do genótipo Nobre foram coletados dados de 34 plantas-testemunhas e 17 de progênies de plantas regeneradas na primeira época de plantio, e 66 plantas-testemunhas e 16 de progênies de plantas regeneradas na segunda época. Para o genótipo Maringá foram obtidos dados de 53 plantas-testemunhas e 18 de progênies de plantas regeneradas na primeira época de plantio, e 62 plantas testemunhas e 391 de progênies de plantas regeneradas na segunda época.

Para cada planta foram avaliadas as características estatura de planta, data de florescimento, número de espiguetas e grãos da espiga principal.

A análise de variância foi utilizada para avaliar as diferenças entre médias de progênies de plantas regeneradas e testemunhas, e as médias comparadas pelo teste F, a nível de 1% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A frequência de calos que regeneraram plantas, no experimento I, foi baixa e apenas verificada para os genótipos Veery, Santa Maria e Alondra (Tabela 1). Os genótipos Maringá, Palmeira, CEP 17, PF 85845, PF 853048 e Nobre não regeneraram plantas, mas apresentaram calos com pontos verdes, o que é uma evidência de potencial para regeneração *in vitro*. A baixa regeneração observada no experimento I, foi provavelmente ocasionada pela alta concentração de 2,4D (5 mg/l) utilizada, o que deve ter provocado um bloqueio no desenvolvimento das plântulas, conforme já descrito por Ozias-Akins & Vasil (1983). Contudo, esses calos quando transferidos para meio MS sem reguladores de crescimento, regeneraram raízes ou permaneceram da mesma forma.

A análise estatística-não-paramétrica não distinguiu os genótipos desse experimento quanto à regeneração de plantas, devido à baixa frequência de calos regenerativos, apesar das diferenças entre genótipos para essa característica (Tabela 1).

Um aumento significativo na frequência de calos que regeneraram plantas foi observado no experimento II (Tabela 2). Os genótipos Maringá, PF 843083, Nobre, Batuíra, Palmeira, PF 843025, BR 23 e CEP 11 passaram a apresentar esse tipo de calo, enquanto que para os genótipos Veery, Santa Maria e Alondra houve aumento na frequência anteriormente observada.

A causa do aumento na frequência de calos que regeneraram plantas, no experimento II (2 mg/l), foi provavelmente o ajuste feito no nível de 2,4D utilizado para a indução dos calos.

As concentrações de 1 a 5 mg de 2,4D por litro de meio básico têm sido utilizadas em diversos trabalhos para a indução de calos a par-

TABELA 1. Percentagem de calos com pontos verdes e calos que regeneraram plantas e/ou raízes, e escore médio para frequência de calos que regeneraram plantas de quinze genótipos de trigo, no experimento I.FA/UFRGS, Porto Alegre, RS, 1988/89.

Genótipos	Número de calos	% de calos com			Escore médio para frequência de calos que regeneraram plantas
		Pontos verdes	Regeneração de plantas	Regeneração de raízes	
Veery	15	60,00	20,00	40,00	121 A*
S. Maria	12	41,66	8,33	33,33	109 A
Alondra	14	50,00	7,44	42,86	108 A
Maringá	17	17,65	0,00	17,65	100 A
Palmeira	14	14,88	0,00	14,28	100 A
CEP 17	12	8,33	0,00	8,33	100 A
PF 85845	13	7,69	0,00	7,69	100 A
PF 853048	15	6,66	0,00	6,66	100 A
Nobre	15	6,66	0,00	6,66	100 A
BR 23	10	0,00	0,00	0,00	100 A
Batúfra	13	0,00	0,00	0,00	100 A
CEP 14	14	0,00	0,00	0,00	100 A
PF 843025	15	0,00	0,00	0,00	100 A
PF 843083	16	0,00	0,00	0,00	100 A
CEP 11	15	0,00	0,00	0,00	100 A

* Escores médios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste da diferença mínima significativa a nível de 5%, conforme Campos (1983).

TABELA 2. Percentagem de calos com pontos verdes e calos que regeneraram plantas e/ou raízes, e escore médio para frequência de calos que regeneraram plantas de quinze genótipos de trigo, no experimento II.FA/UFRGS, Porto Alegre, RS, 1988/89.

Genótipos	Número de calos	% de calos com			Escore médio para frequência de calos que regeneraram plantas
		Pontos verdes	Regeneração de plantas	Regeneração de raízes	
Maringá	23	100,00	100,00	0,00	287 A*
PF 843083	21	61,90	61,90	0,00	221 AB
Alondra	10	70,00	60,00	10,00	218 AB
Nobre	20	70,00	50,00	20,00	201 B
Veery	32	68,75	46,75	21,88	196 BC
Batúfra	34	67,64	44,11	23,53	191 BC
BR 14	27	70,37	37,03	33,54	179 BCD
S. Maria	26	30,77	26,92	3,85	161 BCD
Palmeira	25	44,00	24,00	20,00	156 BCD
PF 843025	22	31,82	18,18	13,64	146 BCD
BR 23	29	17,24	17,24	0,00	144 BCD
CEP 11	19	52,63	5,26	47,37	124 CD
CEP 14	28	0,00	0,00	0,00	115 D
PF 85845	28	0,00	0,00	0,00	115 D

* Escores médios seguidos pela mesma letra não diferem significativamente pelo teste de diferença mínima significativa a nível de 5%, conforme Campos (1983).

tir de embriões imaturos de trigo (Mchughen 1983, Eapen & Rao 1985, He et al. 1986 e Agache et al. 1988). Contudo, Ozias-Akins & Vasil (1983) relatam que concentrações altas de 2,4D inibem a proliferação celular dos calos e 2 mg de 2,4D por litro de meio de cultura é a concentração ótima para a indução de calos embriogênicos.

A mudança de comportamento dos genótipos deste estudo, quanto à regeneração de plantas, de um experimento para o outro, mostra que a capacidade regenerativa dos genótipos é influenciada pelos níveis de reguladores de crescimento utilizados na indução dos calos. Esse fato tem sido relatado por diversos autores (Shimada et al. 1969, Sharma et al. 1980, Torello et al. 1984, Papenfuss & Carman 1987 e Oard & Rutger 1988) e indica que os genótipos analisados necessitam níveis distintos de reguladores de crescimento para a regeneração de plantas.

Por outro lado, foi expressiva a diferença entre genótipos, no experimento II, para a frequência de calos que regeneraram plantas, que variou de zero para os genótipos CEP 14 e PF 85845 a 100% para Maringá (Tabela 2).

A análise estatística-não-paramétrica possibilitou a identificação de grupos distintos de genótipos para frequência de calos regenerativos (Tabela 2). Assim, enquanto os genótipos Maringá, PF 843083 e Alondra se destacaram pela alta frequência de aparecimento desses calos, apesar de somente o Maringá ser superior aos genótipos do grupo intermediário, os genótipos CEP 14 e PF 85845 foram os menos regenerativos. Variações similares têm sido relatadas por diversos autores, que sugerem estar a regeneração de plantas sob controle genético (Lazar et al. 1983, Miah et al. 1985, Hodges et al. 1986 e Ahloowalia 1987). Dessa forma, a existência de genótipos com baixo potencial para regeneração de plantas poderia limitar o germoplasma a ser utilizado pelas novas técnicas de cultura de células e tecidos.

A frequência de calos com pontos verdes, no experimento II, foi similar à de calos que regeneraram plantas para a maioria dos genótipos (Tabela 2). Entretanto, isso não foi ob-

servado para genótipos como BR 14 e CEP 11. Os calos com pontos verdes que não regeneraram plantas apresentaram somente raízes ou permaneceram da mesma forma quando transferidos para meio MS sem 2,4D. Dessa forma, a frequência de calos com pontos verdes não foi um indicativo seguro para revelar o potencial de regeneração de plantas de todos os genótipos. Por isso, a correlação significativa ($r = 0,60$) entre frequência de calos com pontos verde e calos que regeneraram plantas encontrada por Agache et al. (1988) deve ser considerada com cautela para os genótipos deste estudo.

A alta frequência de calos que regeneraram plantas para os genótipos Maringá, PF 843083 e Alondra, no experimento II, sugere que a metodologia empregada foi satisfatória para esses genótipos. Contudo, essa metodologia deverá ser ajustada para os genótipos que apresentaram baixo potencial regenerativo neste trabalho.

Na avaliação das progênies em condições de campo para variação somaclonal foram encontradas diferenças significativas entre as progênies de plantas regeneradas e testemunhas do genótipo Nobre quanto à estatura de planta, número de dias até o florescimento e número de grãos por espiga (Tabela 3). Para número de espiguetas por espiga, não foram detectadas diferenças, o que revela que variações em outros caracteres não modificaram o tamanho das espigas.

As médias das progênies de plantas regeneradas do genótipo Nobre para estatura de planta e número de dias até o florescimento foram inferiores às da testemunha da primeira época de plantio e superiores na segunda época (Tabela 4). Variantes somaclonais em trigo com estatura de planta e número de dias até o florescimento inferiores e superiores às testemunhas também têm sido relatados por outros autores (Larkin et al. 1985, Ahloowalia & Shearlington 1985).

As progênies de plantas regeneradas do genótipo Maringá revelaram diferenças significativas em relação às testemunhas, em todas as características estudadas, exceção para o

TABELA 3. Análise da variância para estatura de planta, número de dias até o florescimento, número de espiguetas e grãos por espiga do genótipo Nobre, em duas épocas de plantio.

Fontes de variação Caracteres avaliados	1ª época					2ª época				
	Progênes		Erro		C.V. (%)	Progênes		Erro		C.V. (%)
	GL	QM ¹	GL	QM		GL	QM ¹	GL	QM	
Estatura de planta	1	234**	48	24,46	4,34	1	476**	75	56	6,11
Nº de dias até o florescimento	1	588**	48	4,71	2,27	1	71,77**	75	17	4,78
Nº espiguetas/espiga	1	8,19(NS)	48	2,09	7,55	1	6,76(NS)	75	2,7	8,19
Nº grãos/espiga	1	1326**	48	34,54	10,85	1	229(NS)	75	89	18,19

** Significativo pelo teste F, a nível de 1%.

NS Não-significativo pelo teste F.

¹ Variação observada pode ser de origem cromossômica (veja texto).

TABELA 4. Médias de estatura de planta, número de dias até o florescimento, número de espiguetas e grãos por espiga do genótipo Nobre, em duas épocas de plantio. FA/UFRGS, Porto Alegre, RS, 1989.

Caracteres avaliados	1ª época		2ª época	
	Testemunha	Regenerada ¹	Testemunha	Regenerada ¹
Estatura de planta	112±4,6	117±5,6	124±8,4	115±8,0
Nº de dias até o florescimento	93±1,7	100±2,9	87±5,0	83±3,0
Nº espiguetas/espiga	19±1,5	20±1,3	20±1,7	19±1,4
Nº grãos/espiga	51±6,0	62±5,9	51±9,0	54±13,0

¹ Variação observada pode ser de origem cromossômica (veja texto).

número de grãos por espiga na primeira época de plantio (Tabela 5).

Uma redução na estatura de planta, número de espiguetas por espiga e grãos por espiga foi observada para essas progênes, enquanto houve aumento no número de dias até o florescimento (Tabela 6).

No campo foi freqüente o aparecimento de plantas tardias com grande número de afilhos. O aumento no período de crescimento vegetativo das plantas, entretanto, não correspondeu a um aumento nos componentes do rendimento avaliados. Outros componentes não avaliados como peso de mil grãos poderiam ter sido afetados positivamente. Contudo, na literatura tem sido observada uma redução em todos os componentes do rendimento de progênes de plantas regeneradas (Ahloowalia & Sherington

1985). Os autores sugerem que isso é causado pela instabilidade do genoma das progênes de plantas regeneradas, em decorrência do cultivo *in vitro*. Diversas têm sido as explicações encontradas na literatura para essa instabilidade, sendo relatados o aparecimento de aneuploídes e variações no número de cromossomos em trigo (Karp & Maddock 1984), aveia (McGoy et al. 1982) e cevada (Orton 1980). Contudo, variantes somaclonais nos quais estão envolvidos um ou poucos genes e para caracteres quantitativos como estatura de planta tem sido relatados em trigo (Larkin et al. 1984).

Neste trabalho não foram realizados testes para esclarecer as causas das variações observadas nas plantas regeneradas. Entretanto, estas variações terão utilidade para o melhora-

TABELA 5. Análise da variância para estatura de planta, número de dias até o florescimento, número de espiguetas e grãos por espiga do genótipo Maringá, em duas épocas de plantio. FA/UFRGS, Porto Alegre, 1989.

Fontes de variação Caracteres avaliados	1ª época					2ª época				
	Progênes		Erro		C.V. (%)	Progênes		Erro		C.V. (%)
	GL	QM ¹	GL	QM		GL	QM ¹	GL	QM	
Estatura de planta	1	1355**	69	40,53	4,64	1	5288**	453	103	9,04
Nº de dias até o florescimento	1	673**	69	20,83	4,87	1	86,30*	453	18	5,07
Nº espiguetas/espiga	1	27**	69	2,16	7,3	1	109**	453	3,8	10,30
Nº grãos/espiga	1	12,5(NS)	69	68,6	14,8	1	1859**	453	153	23,60

** Significativo pelo teste F, a nível de 1%.

** Significativo pelo teste F, a nível de 5%.

NS Não-significativo pelo teste F.

¹ Variação observada pode ser de origem cromossômica (veja texto).

TABELA 6. Médias de estatura de planta, número de dias até o florescimento, número de espiguetas e grãos por espiga do genótipo Maringá, em duas épocas de plantio. FA/UFRGS, Porto Alegre, RS, 1989.

Caracteres avaliados	1ª época		2ª época	
	Testemunha	Regenerada ¹	Testemunha	Regenerada ¹
Estatura de planta	115±5,0	105±9,4	121±7,6	111±10,5
Nº de dias até o florescimento	92±4,5	99±5,0	83±4,5	84±4,2
Nº espiguetas/espiga	21±1,4	19±1,8	20±2,1	19±1,2
Nº grãos/espiga	56±8,0	55±9,4	60±12,3	51±12,4

¹ Variação observada pode ser de origem cromossômica (veja texto).

mento genético se puderem ser fixadas, o que não será possível se forem causadas por aneuploidia ou outras formas de mudanças cromossômicas.

CONCLUSÕES

1. A metodologia utilizada foi satisfatória para a regeneração de plantas de diversos genótipos brasileiros de trigo. Essa metodologia, contudo, deverá ser ajustada para os genótipos que apresentaram baixo potencial regenerativo neste trabalho, para que não fique limitado o germoplasma a ser utilizado por essas técnicas.

2. Existe variabilidade entre genótipos para a regeneração de plantas *in vitro*. Entretanto, a capacidade regenerativa dos genótipos é modificada em presença de diferentes níveis do regulador de crescimento, 2,4D, e é provável que cada genótipo necessite de uma condição de cultivo específica para regenerar plantas. O genótipo Maringá se destacou nos demais quanto ao potencial para cultivo *in vitro* nas

condições deste experimento.

3. Variação somaclonal foi obtida para os genótipos Nobre e Maringá nas características estatura de planta, número de dias até o florescimento, número de espiguetas e grãos por espiga.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq e à FAPERGS pelo auxílio financeiro prestado.

REFERÊNCIAS

- AGACHE, S.; DE BUYSER, J.; HENRY, Y.; SNAPE, J. W. Studies of the genetic relationship between anther culture and somatic tissue culture abilities in wheat. *Plant Breeding*, Berlin, V. 100, p.26-33, 1988.
- AHLOOWALIA, B. S. Plant regeneration from callus culture in wheat. *Crop Science*, Madison, v.22 p.405-410, 1982.

- AHLOOWALIA, B. S. Plant regeneration from embryo-callus culture in barley. *Euphytica*, Wageningen, v.36, p.659-665, 1987.
- AHLOOWALIA, B. S.; SHERINGTON, J. Transmission of somaclonal variation in wheat. *Euphytica*, Wageningen, v.34, p.525-537, 1985.
- CAMPOS, H. *Estatística experimental não paramétrica*. Piracicaba: FEALQ, 1983.
- EAPEN, S.; RAO, P. S. Factors controlling callus initiation, growth and plant regeneration in breadwheat (*Triticum aestivum* L.). *Proceedings of the Indian Academy of Sciences*, Bangalore, v.94, p. 33-40, 1985.
- HE, D. G.; TANNER, G.; SCOTT, K. J. Somatic embryogenesis and morphogenesis in callus derived from the epiblast of immature embryos of wheat (*Triticum aestivum*). *Plant Science*, Limerick, v.45, p.119-124, 1986.
- HEYSER, J. W.; NABORS, M. W.; MACKINMON, C.; DIKES, T. A.; DEMOTT, K. J.; KAUTZMAN, D. C.; MUJEEB-KAZI, A. Longterm, high-frequency plant regeneration and the induction of somatic embryogenesis in callus cultures of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung*, Berlin, v.94, p.218-233, 1985.
- HODGES, T. K.; KAMO, K. K.; IMBRIE, C. W.; BECWAR, M. R. Especificity of somatic embryogenesis and regeneration in maize. *Biotechnology*, v.4, p.219-223, 1986.
- KARP, A.; MADDOCK, S. E. Chromosome variation in wheat plants regenerated from cultured immature embryos. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.59, p.161-167, 1984.
- LARKIN, P. J.; BRETTELL, R. I. S.; RYAN, S. A.; DAVIES, P. A.; PALLOTTA, M. A.; SCOWCROFT, W. R. Somaclonal variation: impact on plant biology and breeding strategies. In: *BIOTECHNOLOGY in Plant Science*. New York: Academic Press, 1985. p.83-89.
- LARKIN, P. J.; RIAN, S. A.; BRETTELL, R. I. S.; SCOWCROFT, W. R. Heritable somaclonal variation in wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.67, p.443-455, 1984.
- LAZAR, M. D.; COLLINGS, G. B.; VIAN, W. E. Genetic environmental effects on the growth and differentiation of wheat somatic cell cultures. *Journal of Heredity*, Washington, v.74, p.353-357, 1983.
- MADDOCK, S. E. Cell culture somatic embryogenesis and plant regeneration in wheat, barley, oats, rye and triticale. In: BRIGHT, S. W. J.; JONES, M. G. K. (Eds). *Cereal Tissue and Cell Culture*. Dordrecht, M. Nijhoff/W Junk, 1985, p.130-174.
- MADDOCK, S. E.; LANCASTER, V. A.; RI-SIOTT, R.; FRANKLIN, J. Plant regeneration from cultured immature embryos and inflorescences of 25 cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Experimental Botany*, Oxford, v.34, p.915-926, 1983.
- MCGOY, T. J.; PHILLIPS, R. L.; RINES, H. W. Cytogenetic analysis of plants regenerated from oat (*Avena sativa*) tissue cultures: high frequency of partial chromosome loss. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, Ottawa, v.24, p.37-50, 1982.
- MCHUGHEN, A. Rapid regeneration of wheat in vitro. *Annals of Botany*, Oxford, v.51, p.851-853, 1983.
- MIAH, M. A.; EARLE, E. D.; KHUSH, G. S. Inheritance of callus formation ability in anther cultures of rice, *Oryza sativa* L. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.70, p.113-116, 1985.
- MURASHIGE, T.; SKOOG, F. A revised medium for rapid growth bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, Copenhagen, v.15, p.473-497, 1962.
- OARD, J. H.; RUTGER, J. N. Callus induction and plant regeneration in elite U.S. rice lines. *Crop Science*, Madison, v.28, p.565-567, 1988.
- ORTON, T. J. Chromosomal variability in tissue cultures and regenerated plants of *Hordeum*. *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, v.56, p.101-112, 1980.
- OZIAS-AKINS, P.; VASIL, I. K. Callus induction and growth from the mature embryo of *Triticum aestivum* (wheat). *Protoplasma*, New York, v.115, p.104-113, 1983.
- OZIAS-AKINS, P.; VASIL, I.K. Plant regeneration from culture immature embryos and inflorescences of *Triticum aestivum* L. (wheat) evidence for somatic embryogenesis. *Protoplasma*, New York, v.110, p.95-105, 1982.

- PAPENFUSS, J. M.; CARMAN, J. G. Enhanced regeneration from wheat callus cultures using dicamba and Kinetin. *Crop Science*, Madison, v.27, p.588-593, 1987.
- SEARS, R. G.; DECKARD, E. L. Tissue culture variability in wheat: callus induction and plant regeneration. *Crop Science*, Madison, v.22, p.546-550, 1982.
- SHARMA, G. C.; BELLO, L. L.; SAPRA, V. T. Genotypic differences in organogenesis from callus of ten triticale lines. *Euphytica*, Wageningen, v.29, p.751-754, 1980.
- SHIMADA, T.; SASAKUMA, T.; TSUNEWAKI, K. In vitro culture of wheat tissues. I. Callus formation, organ redifferentiation and single cell culture. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, Ottawa, v.11, p.294-304, 1969.
- TORRELO, W. A.; SYMINGTON, A. G.; RUFNER, R. Callus initiation, plant regeneration, and evidence of somatic embryogenesis in red fescue. *Crop Science*, Madison, v.24, p.1037-1040, 1984.