

# MÉTODOS DE AVALIAÇÃO DE PÓLEN E INFLUÊNCIA DO ÁCIDO GIBERÉLICO EM CRUZAMENTOS DE BATATA

## Methods for pollen evaluation and influence of gibberellic acid on potato crossing

Roberto Fritsche Neto<sup>1</sup>, Arione da Silva Pereira<sup>2</sup>, Maria do Carmo Bassols Raseira<sup>3</sup>,  
Giovani Olegário da Silva<sup>4</sup>, Velci Queiroz de Souza<sup>5</sup>

### RESUMO

Objetivou-se neste trabalho comparar métodos de avaliação da qualidade de pólen e avaliar a influência do ácido giberélico ( $GA_3$ ), na eficiência de cruzamento de genótipos de batata (*Solanum tuberosum* L.). Ambos os estudos foram conduzidos na sede da Embrapa Clima Temperado, Pelotas-RS. O primeiro estudo foi conduzido no Laboratório de Melhoramento Genético, na primavera de 2003 e outono-inverno de 2004. Foram avaliados os métodos do carmin propiônico e da fertilidade do pólen, com dois meios de ágar, açúcar e boro (meio 1 e meio 2), utilizando cinco genótipos de batata. O segundo estudo foi realizado em casa-de-vegetação, no outono-inverno de 2004. Uma solução de  $25mg.L^{-1}$  de  $GA_3$  foi pulverizada em 15 genótipos de batata, que são utilizados como genitores no programa de melhoramento. Conclui-se que ambos os meios de cultura podem ser utilizados na avaliação da qualidade do pólen de batata, e a influência do  $GA_3$  na eficiência de cruzamento é dependente do genótipo.

**Termos para indexação:** *Solanum tuberosum*, sementes verdadeiras de batata, regulador de crescimento.

### ABSTRACT

The aims of this work were to compare evaluation methods of pollen quality and to evaluate the influence of gibberellic acid ( $GA_3$ ) on the efficiency of crossing potato (*Solanum tuberosum* L.) genotypes. Both studies were carried out at Embrapa Clima Temperado headquarters, Pelotas-RS. The first study was accomplished in the Plant Breeding Laboratory, in the spring of 2003 and autumn-winter of 2004. The carmin propionic and the pollen fertility of two agar, sugar and boro media (culture medium 1 and culture medium 2) were evaluated, using five potato genotypes. The second study was carried out at greenhouse, in the autumn-winter of 2004. A  $GA_3$  solution of  $25mg.L^{-1}$  was sprayed on 15 potato genotypes that are used as genitors in the breeding program. One concluded that both growing media can be used for potato pollen quality evaluation, and the influences of  $GA_3$  on the crossing efficiency is dependent of the genotype.

**Index terms:** *Solanum tuberosum*, true potato seeds, growth regulator.

(Recebido em 23 de outubro de 2006 e aprovado em 1 de outubro de 2007)

### INTRODUÇÃO

O melhoramento genético da batata (*Solanum tuberosum* L.) pode contribuir substancialmente para a melhoria da eficiência produtiva da cultura. Para isto, depende da disponibilidade de uma população superior com variabilidade genética para caracteres de interesse, necessária para a seleção.

A escolha de genitores tem por base os objetivos do programa de melhoramento (TARN et al., 1992) e constitui a fase mais importante do processo, onde busca-se explorar o máximo da variabilidade genética, dentro de famílias (SOUZA et al., 2004). No entanto, o aproveitamento

de qualquer genótipo como genitor depende da sua capacidade de florescer e produzir frutos e sementes viáveis (PINTO & MARTINS, 1994).

Em batata, a obtenção de sementes botânicas em cruzamentos artificiais é dificultada pela baixa frutificação e a baixa produção de sementes por fruto de muitas combinações de genótipos, ou ainda, pela elevada queda de botões florais, como é o caso da cultivar Achat (PINTO & MARTINS, 1994).

O desenvolvimento de métodos para determinar a viabilidade do pólen é útil em programas de melhoramento, permitindo realizar a avaliação prévia de genótipos quanto à sua capacidade de produzir frutos e sementes (SILVA et al., 2000).

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo, Mestrando em Genética e Melhoramento de Plantas – Departamento de Genética – Escola Superior “Luiz de Queiroz” /ESALQ – Universidade de São Paulo/USP – Avenida Pádua Dias, 11 – Cx. P. 83 – 13400-970 – Piracicaba, SP – rfneto@hotmail.com

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, Ph.D. – Laboratório de Melhoramento Genético – Embrapa Clima Temperado/CPACT – Rodovia Br 392, Km 78 – Cx. P. 403 – 96001-970 – Pelotas, RS – arione@cpact.embrapa.br

<sup>3</sup>Engenheira Agrônoma, Doutora – Laboratório de Melhoramento Genético – Embrapa Clima Temperado/CPACT – Rodovia Br 392, Km 78 – Cx. P. 403 – 96001-970 – Pelotas, RS – bassols@cpact.embrapa.br

<sup>4</sup>Engenheiro Agrônomo, Doutor – Laboratório de Melhoramento Genético – Embrapa Hortaliças/CNPG – Rodovia Brasília/Anápolis Br 060, Km 09 – Cx. P. 218 – 70359-970 – Brasília, DF – olegario@cnph.embrapa.br

<sup>5</sup>Engenheiro Agrônomo, Doutor – Centro de Genômica e Fitomelhoramento/GCF – Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel/FAEM – Universidade Federal de Pelotas/UFPel – Cx. P. 354 – 96001-970 – Pelotas, RS – velciq@gmail.com

O alongamento do fotoperíodo tem sido um dos métodos mais utilizados na indução de florescimento em batata. No entanto, Lozoya-Saldaña & Miranda-Valazquez (1987) reduziram o tempo necessário para florescimento com a utilização de combinações de fotoperíodos com pulverizações de  $GA_3$  isoladamente ou em mistura com micronutrientes.

Objetivou-se neste trabalho avaliar a influência do  $GA_3$  na eficiência de cruzamentos de genótipos de batata e comparar métodos de avaliação da qualidade de pólen.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Estudo de métodos de avaliação da qualidade de pólen

Os trabalhos foram conduzidos no Laboratório de Melhoramento Genético da Embrapa Clima Temperado, na primavera de 2003 e outono-inverno de 2004. Foram utilizados cinco genótipos adaptados (Cristal, Eliza, Cascata, C-1730-7-94 e 2CRI-1149-1-78) às condições edafoclimáticas da região Sul. Foram feitas duas repetições de cada genótipo, para cada um dos métodos descritos abaixo.

O plantio foi efetuado em vasos com capacidade para 5L, contendo substrato vegetal Plantmax<sup>®</sup>. O tutoramento das hastes foi efetuado utilizando-se cordões de nylon. Para indução do florescimento, o período da noite foi interrompido com o fornecimento de duas horas de luz, utilizando lâmpadas mistas de mercúrio de alta pressão de 160W. A temperatura foi mantida a  $20 \pm 5^\circ C$  com a utilização de aquecedores, ventiladores e o manejo das aberturas da casa-de-vegetação.

A coleta e a avaliação da viabilidade e fertilidade do pólen dos genótipos foram feitas na medida em que eles floresciam e apresentavam pólen disponível em pelo menos, três flores, sendo esse extraído com o auxílio de um coletor-vibrador.

Para a avaliação da viabilidade do pólen, foi utilizado o método do carmin propiônico: com auxílio de um pincel, uma amostra de pólen de, pelo menos, três flores, foi batida sobre uma lâmina para microscópio. Sobre a amostra de pólen, colocou-se uma gota de carmin e fechou-se o conjunto com uma lamínula. Fez-se a contagem dos grãos de pólen viáveis logo após o preparo das lâminas, sendo considerados viáveis os grãos de pólen que adquiriam cor vermelha, enquanto que os não viáveis permaneceram incolores.

Para avaliação da fertilidade dos grãos de pólen, foram utilizados dois meios de ágar, açúcar e boro. Os dois meios de cultivo variaram nas concentrações de açúcar (Meio 1 = 20%; Meio 2 = 10%) e ácido bórico (Meio 1 =

6mg.100mL<sup>-1</sup>; Meio 2 = 10mg.100mL<sup>-1</sup>), por causa da influência desses na germinação do pólen (PELOQUIN, 1961). Segundo Stanley & Linskens (1974), o açúcar no meio de cultura tem a função de proporcionar o equilíbrio osmótico entre o pólen e o meio, bem como fornecer energia para auxiliar o processo de desenvolvimento do tubo polínico. Já a adição de boro tem como finalidade interagir com o açúcar e formar um complexo ionizável açúcar-borato, que reage mais rapidamente com as membranas celulares (PHAHLE, 1967).

Com auxílio de um pincel, uma amostra de pólen de, pelo menos, três flores, foi batida sobre uma lâmina para microscópio adaptada com dois anéis para sustentação do meio nutritivo para germinação dos grãos de pólen.

As lâminas foram acomodadas em placas de *Petry* com papel-toalha umedecido, fechadas e levadas para câmara de crescimento, por 5h a  $25^\circ C$ . Após, os grãos de pólen que desenvolveram tubo germinativo de comprimento, no mínimo, igual ao diâmetro do respectivo grão, foram considerados férteis (LIBERAL, 1966). No mínimo, 200 grãos de pólen de cada método foram contados sob microscópio óptico.

Os dados foram submetidos à análise de variância, utilizando o programa estatístico computacional Genes (CRUZ, 2001). As médias foram agrupadas pelo teste de Skott-Knott.

### Estudo da influência de ácido giberélico ( $GA_3$ ) na eficiência de cruzamento

Os trabalhos foram conduzidos no período de outono-inverno de 2004, na sede da Embrapa Clima Temperado, Pelotas/RS ( $31^\circ S$ ,  $52^\circ W$ ). Foram utilizados 15 genótipos de batata, que são utilizados como genitores no programa de melhoramento: Agria, Asterix, C-1226-35-80, C-1485-6-87, C-1720-40-94, C-1883-5-97, C-1730-7-94, C-1890-198, C-1750-15-95, Cristal, Eliza, Monte Bonito, C-1714-7-94, Rioja e White Lady. O plantio e a condução das plantas foram iguais ao estudo anterior.

O tratamento com  $GA_3$  consistiu de três pulverizações, espaçadas de uma semana, a partir do 15<sup>o</sup> dia após a emergência das plantas, de uma solução na concentração de 25mg.L<sup>-1</sup> de  $GA_3$ , em três plantas. Cada planta foi considerada uma repetição. Nas testemunhas foi pulverizado apenas água.

Os cruzamentos foram realizados, manualmente, entre os genótipos com pólen disponível e genótipos com flores no estágio de polinização. Foi utilizado o pólen do mesmo genótipo, tanto nas plantas testemunhas, como nas plantas tratadas e nos diferentes genótipos, visando minimizar efeitos de possíveis incompatibilidades entre genótipos.

A colheita dos frutos foi realizada aproximadamente três semanas após a frutificação. A extração de sementes foi realizada utilizando-se um miniprocessador, que macera os frutos e libera as sementes. Após a extração, as sementes foram lavadas e secas em copos plásticos, em casa-de-vegetação.

Foram efetuadas as seguintes anotações: número de botões florais polinizados, número de frutos, número de sementes em cada tratamento. A partir desses dados foi calculado o número médio de botões viáveis para cruzamento por planta (número médio de botões polinizados por planta), o percentual de frutificação e o número de sementes por fruto.

Os dados foram submetidos ao teste *t* ( $p = 0,05$ ), utilizando o programa estatístico computacional Genes (CRUZ, 2001), considerando-se como a média de produção normal as obtidas nas plantas testemunhas.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Comparação de métodos de avaliação da qualidade de pólen

A ANOVA revelou diferenças significativas ( $p = 0,05$ ) entre os genótipos. As médias de viabilidade e fertilidade de pólen nos diferentes meios observam-se na Tabela 1.

Os genótipos Eliza, 2CRI-1149-1-78 e Cristal apresentaram médias de pólen viável significativamente mais altas do que ‘Cascata’ e ‘C-1730-7-94’.

Tanto no meio de cultivo 1 como no meio 2, ‘2CRI-1149-1-78’ apresentou pólen significativamente mais fértil do que ‘Cascata’, ‘Cristal’, ‘Eliza’ e ‘C-1730-7-94’, que não diferiram entre si.

Esses resultados sugerem que o genótipo 2CRI-1149-1-78 tem maior potencial de utilização como genitor

masculino do que os demais genótipos avaliados. Indica também que qualquer um dos dois meios pode ser utilizado na avaliação da fertilidade de pólen de batata, ou seja, as variações nos teores de açúcar e boro no meio não afetaram o crescimento do tubo polínico.

Em relação aos métodos de avaliação da qualidade do pólen, houve diferenças de classificação dos genótipos entre o método de coloração do pólen com carmin propiônico e o método de germinação de pólen. Assim, apesar de ser muito usado, dada à sua praticidade e facilidade de aplicação, o método do carmin apresentou menor precisão do que o da germinação, sugerindo que seus resultados devem ser tomados com reserva.

Considerando os resultados obtidos em relação à fertilidade e à viabilidade de pólen dos genótipos, e trabalhos efetuados sobre a eficiência de cruzamento deles, quando utilizados como genitores masculinos, verifica-se que o genótipo 2CRI-1149-1-78 foi também significativamente superior aos demais. ‘Eliza’ e ‘Cristal’ apresentaram desempenho intermediário e ‘Cascata’ e ‘C-1730-7-94’ tiveram desempenho inferior. Isso sugere que a fertilidade do pólen é um bom indicador da eficiência de cruzamento de um genótipo como genitor masculino.

### Influência de ácido giberélico ( $GA_3$ ) na eficiência de cruzamento

Neste trabalho, a aplicação de  $GA_3$  não afetou significativamente o tempo para florescimento dos genótipos, diferindo dos resultados obtidos por Lozoya-Saldaña & Miranda-Valazquez (1987). No entanto, houve grandes variações no desempenho de cada genótipo para as três variáveis analisadas, tanto entre genótipos, como

Tabela 1 – Médias de fertilidade e viabilidade de pólen de cinco genótipos de batata. Pelotas, 2004.

Genótipo	Fertilidade de pólen <sup>1</sup>				Viabilidade de pólen <sup>2</sup>	
	Meio 1		Meio 2			
2CRI-1149-1-78	18,50	a <sup>3</sup>	21,00	a	51,25	a
Eliza	3,50	b	5,00	b	57,75	a
C-1730-7-94	2,75	b	1,50	b	24,25	b
Cristal	1,50	b	2,75	b	41,50	a
Cascata	1,00	b	2,00	b	32,00	b

<sup>1</sup>Percentagem de grãos de pólen férteis (desenvolveram tubo germinativo de comprimento, no mínimo igual ao diâmetro do respectivo grão);

<sup>2</sup>Percentagem de grãos de pólen viáveis (adquiriam cor vermelha em carmin propiônico);

<sup>3</sup>Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

dentro de genótipo. Apenas alguns genótipos apresentaram o mesmo sentido de reação ao tratamento com o regulador de crescimento. Essas variações de desempenho provavelmente estejam ligadas, além de fatores genéticos, aos níveis hormonais de cada genótipo, principalmente às giberilinas, que podem estimular o “pegamento” de frutos mesmo sem a ocorrência de polinização (KOHLI et al., 1981).

Quanto ao número de botões florais por planta, somente ‘Agria’, ‘C-1485-6-87’, ‘C-1750-15-95’, ‘Rioja’ e ‘C-1720-40-94’ apresentaram diferenças significativas de suas respectivas testemunhas. Apenas o último genótipo apresentou diminuição significativa no número de flores por planta, com a aplicação de GA<sub>3</sub> (Figura 1). Em relação à frutificação, ‘Asterix’, ‘C-1883-5-97’ e ‘Monte Bonito’ foram indiferentes à aplicação do regulador de crescimento (Figura 2).

Houve aumento da frutificação com a aplicação de GA<sub>3</sub> nos genótipos C-1226-35-80, C-1890-1-97, C-1485-6-87, C-1720-40-94 e C-1714-7-94. No entanto, houve efeito negativo na ‘Agria’, ‘C-1730-7-94’, ‘C-1750-15-95’, ‘Eliza’, ‘Rioja’, ‘White Lady’ e ‘Cristal’, que não apresentaram frutificação com o tratamento.

Os clones C-1485-6-87 e C-1720-40-94 somente frutificaram e produziram sementes quando foram tratados com GA<sub>3</sub>. Essa resposta mostra a influência das giberilinas no estímulo da frutificação (KOHLI et al., 1981). É sabido que as condições ambientais afetam o balanço hormonal (MENEZES, 1994), entre os quais os níveis de giberilinas, que promovem altas taxas de frutos partenocárpicos (TOFANELLI et al., 2003) e podem reduzir a viabilidade de pólen e a fertilidade de óvulos (THOMAS, 1995).

Todos os genótipos foram afetados pelo tratamento com GA<sub>3</sub> em relação ao número médio de sementes por fruto (Figura 3).

Nos genótipos Agria, C-1485-6-87, C-1720-40-94, Monte Bonito e Rioja, o tratamento com GA<sub>3</sub> afetou positivamente o número de sementes, por fruto, enquanto que no ‘C-1226-35-80’, ‘Asterix’, ‘C-1730-7-94’, ‘C-1750-15-95’, ‘C-1883-5-97’, ‘C-1890-1-97’, ‘Eliza’, ‘C-1714-7-94’, ‘White Lady’ e ‘Cristal’ o efeito foi negativo.

Os resultados desse trabalho indicam que o efeito da aplicação de GA<sub>3</sub> na frutificação e produção de sementes botânicas é dependente do genótipo e da direção do cruzamento, isso é, como genitor masculino ou feminino, devido à interação genótipo x regulador de crescimento, observada nos resultados.

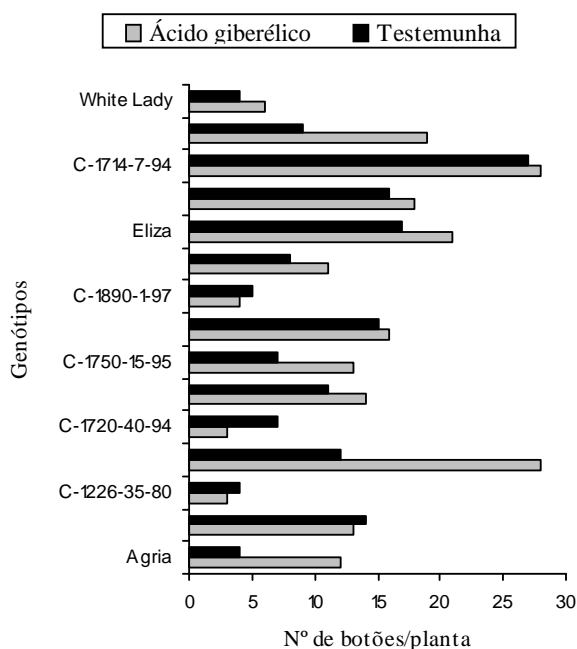


Figura 1 – Efeito do tratamento de ácido giberélico na formação de botões florais viáveis para cruzamento de 15 genótipos de batata.

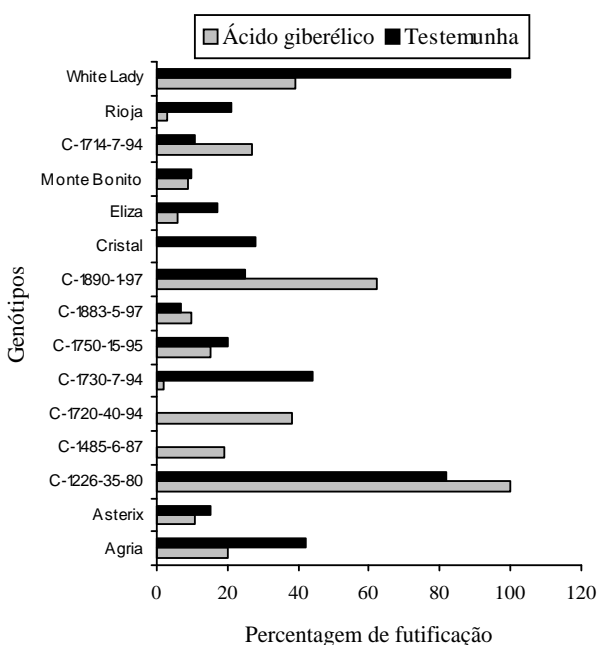


Figura 2 – Efeito do tratamento de ácido giberélico na frutificação de 15 genótipos de batata.

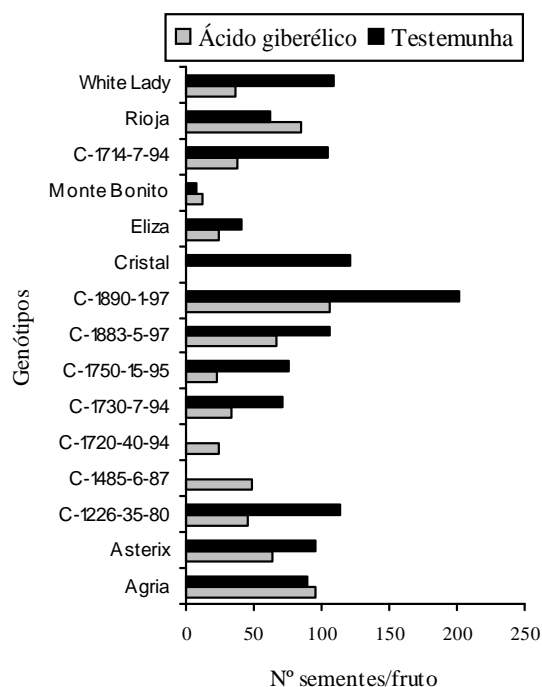


Figura 3 – Efeito do tratamento de ácido giberélico, na produção de sementes por fruto, de 15 genótipos de batata.

### CONCLUSÕES

Ambos os meios de cultivo testados neste trabalho podem ser utilizados na avaliação da qualidade do pólen de batata.

A influência do ácido giberélico na eficiência de cruzamento de batata é dependente do genótipo.

### AGRADECIMENTOS

À FAPERGS, ao CNPq e à CAPES, pelas bolsas concedidas, e à equipe de apoio ao programa de melhoramento genético de batata da Embrapa Clima Temperado, pelo auxílio nos trabalhos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CRUZ, C. D. **Programa genes**. Viçosa: UFV, 2001. 642 p.

KOHLI, U. K.; DUA, L. S.; SAINI, S. S. Gibberellic acid as androecide for bell pepper. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 15, p. 17-22, 1981.

LIBERAL, M. T. Fertilidade de populações em F1 e F2 envolvendo haplóides de *Solanum tuberosum* L. e diversas espécies diplóides. **Boletim Técnico IPEAS**, Pelotas, v. 45, p. 165-172, 1966.

LOZOYA-SALDAÑA, H. E.; MIRANDA-VALAZQUEZ, I. Growth regulators, photoperiod and flowering in potatoes. **American Potato Journal**, Orono, v. 64, p. 377-382, 1987.

MENEZES, N. L. Fatores que afetam a expressão sexual em plantas de pepino. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 24, p. 209-215, 1994.

PELOQUIM, S. J. Germination of *Solanum* pollen on artificial media. **American Potato Journal**, Orono, v. 38, p. 370-371, 1961.

PFAHLRE, P. L. In vitro Germination and pollen tube growth of maize (*Zea mays* L.) pollen: calcium e boron effects. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 45, p. 839-845, 1967.

PINTO, C. A. B. P.; MARTINS, P. R. Indução de florescimento e pegamento de frutos em polinizações controladas em batata. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 18, p. 370-377, 1994.

SILVA, A. C. T. F.; LEITE, I. C.; BRAZ, L. T. Avaliação da viabilidade do pólen como possível indicativo de tolerância a altas temperaturas em genótipos de tomateiro. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, Brasília, v. 12, p. 156-165, 2000.

SOUZA, V. Q.; PEREIRA, A. da S.; FRITSCH NETO, R.; SILVA, G. O.; OLIVEIRA, A. C. Potential of selection among and within potato clonal families. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, v. 5, p. 47-54, 2004.

STANLEY, R. G.; LINSKEN, H. S. **Pollen biochemistry management**. Berlin: Heidelberg, 1974. 307 p.

TARN, T. R.; TAI, G. C. C.; JOUNG, H.; MURPHY, A. M.; SEABROOK, J. E. A. Breeding potatoes for long-day, temperate climates. In: JANICK, J. (Ed.). **Plant breeding reviews**. 9. ed. New York: J. Wiley & Sons, 1992. p. 271-332.

THOMAS, G. Natural and synthesis grown regulators and their use in horticultural and agronomic crops. In: DAVIES, P. J. (Ed.). **Plants hormones, physiology, biochemistry and molecular biology**. 2. ed. Amsterdam: Kluwer Academic, 1995. p. 751-773.

TOFANELLI, M. B. D.; AMAYA-ROBLES, J. E.; RODRIGUES, J. D.; ONO, E. O. Ácido giberélico na produção de frutos partenocápicos de pimenta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, p. 116-118, 2003.