

## FERTILIDADE DE POPULAÇÕES EM $F_1$ E $F_2$ , ENVOLVENDO HAPLÓIDES DE *Solanum tuberosum* L. E DIVERSAS ESPÉCIES DIPLÓIDES<sup>1</sup>

MOZART TEIXEIRA LIBERAL<sup>2</sup>

### Sumário

Trinta e uma progênies em  $F_1$  e  $F_2$ , envolvendo 2 haplóides de *Solanum tuberosum* e 13 espécies diplóides de *Solanum*, foram estudadas para determinar a incidência de fertilidade masculina e feminina e autofertilidade.

Este trabalho foi levado a efeito no campo, em casa de vegetação e em laboratório. Os testes de fertilidade feminina foram feitos polinizando-se cada planta de uma família com uma mistura de pólen de, pelo menos, 4 plantas dessa mesma família. Esses testes foram realizados no campo. A fertilidade masculina foi medida por meio de desprendimento, coloração e germinação de pólen e formação de sementes, após a execução de "sib-matings" controlados no campo. A autofertilidade foi testada por meio de autofecundações controladas com o auxílio da técnica de decapitação, conduzidas em casa de vegetação com ar condicionado.

A maioria das plantas, 82,8% floresceu; 68,8% apresentou fertilidade feminina e 61,7% ostentou fertilidade masculina. Alto grau de auto-incompatibilidade foi encontrado nas populações estudadas e, somente, 18,5% das plantas testadas produziram frutos.

O desprendimento de pólen foi um método eficiente para avaliar a fertilidade masculina, como também o foi o teste de germinação, sendo este último porém, mais complicado. O teste de coloração tende a superestimar a real fertilidade.

Seleções diferentes de *S. phureja* mostraram comportamento distinto com relação ao níveis de fertilidade de suas progênies.

Diferenças em fertilidade foram notadas entre as progênies, envolvendo os dois haplóides de *S. tuberosum*. As descendências em  $F_1$  e  $F_2$ , envolvendo US-W 3, foram com poucas exceções, altamente férteis; aquelas relativas a US-W4 variaram em fertilidade de baixa a muito alta.

A fertilidade total, apresentada pelas populações estudadas, indica que esse material poderá ser muito proveitoso para a condução de estudos genéticos e citogenéticos, assim como para o melhoramento da batata ao nível diplóide.

### INTRODUÇÃO

A fertilidade, em progênies de cruzamentos interespecífico entre haplóides ( $2n = 24$ ) de *Solanum tuberosum* L. e espécies diplóides de *Solanum*, é de esperar-se que seja muito variável devido a trocas e interações gênicas, cromosômicas, e citoplásmicas. O nível de fertilidade, nos híbridos e suas progênies, influenciará na facilidade com a qual se processará a transferência de gens das espécies diplóides para a *S. tuberosum*.

Então, a possibilidade de cruzamento de haplóides de *S. tuberosum* com espécies diplóides é fundamental, uma vez que a transferência de gens de uma espécie para a outra é obtida por meio de cruzamento interespecífico.

A importância de haplóides de espécies do gênero *Solanum*, como instrumento para pesquisa experimental em genética e melhoramento, foi salientada anteriormente (Hougas & Peloquin 1957).

O uso de haplóides de *S. tuberosum* parece oferecer um novo e eficiente método para o melhoramento da batata.

Uma planta haplóide ( $2n = 24$ ) foi, há tempos, registrada como componente de "seedlings" gêmeos resultante de um cruzamento interespecífico entre *S. chaucha* x *S. tuberosum* (Lamm 1938). A polinização da variedade de *S. tuberosum* Aurora, com pólen de *S. rybinii*, originou uma planta haplóide ( $2n = 24$ ) (Ivanovskaja 1939). Foram feitos registros, também de plantas haplóides ( $2n = 36$ )

<sup>1</sup> Este trabalho originou-se de tese submetida a exame em cumprimento aos requisitos parciais do Departamento de Horticultura da Universidade de Wisconsin, para obtenção do título "Master of Science", e constitui o Boletim Técnico n.º 45 do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Sul (IPEAS). Apresentado na III Reunião Anual da Sociedade de Olericultura do Brasil, Piracicaba, São Paulo, 7 a 13 de julho de 1963.

<sup>2</sup> Eng.º Agrônomo, M.S., Chefe da Seção de Horticultura do IPEAS, Pelotas, Rio Grande do Sul.

da espécie hexaplóide, mexicana, resistente ao *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary, *S. demissum* (Bains & Howard 1950, Dodds 1950). Proveniente de um cruzamento entre *S. polytrichon* x *stoloniferum*, foi encontrada uma planta haplóide ( $2n = 24$ ) (Marks 1955). Uma outra planta haplóide ( $2n = 24$ ), da variedade Kathadin, de *S. tuberosum*, foi registrada (Hougas & Peloquin 1957).

Há agora disponíveis, muitos haplóides de *S. tuberosum* como consequência do uso de meios efetivos para o isolamento dos mesmos (Peloquin & Hougas 1959).

A espécie *S. tuberosum* é considerada autotetraplóide pela maioria dos investigadores (Cadmam 1942, Krantz 1946, Hawkes 1956a, b, Howard 1961). O uso de haplóide de *S. tuberosum* parece ser um meio de contornar os problemas associados ao estudo genético e ao melhoramento de autotetraplóides (Little 1945), uma vez que a herança disômica, ao invés da tetrasômica, deve ser esperada (Hougas & Peloquin 1958). Uma condição essencial para a exploração dessa possibilidade é que os haplóides possuam razoável nível de fertilidade (Hougas & Peloquin 1958). Considerando que mais de 60% das espécies de *Solanum* da Secção *Tuberartum* são diplóides (Hawkes 1956 a), a transferência de gens das espécies diplóides, silvestres e cultivadas, para os haplóides de *S. tuberosum*, pode ser conseguida sem o inconveniente da herança tetrasômica.

Estudos anteriores mostraram que 22 em 23 haplóides foram funcionais como progenitores femininos e 2, também como masculinos, tanto em cruzamentos inter-haplóides como em cruzamentos com a espécie diplóide *S. phureja* (Peloquin & Hougas 1960).

A possibilidade de cruzamento desses 22 haplóides de *S. tuberosum*, com 24 espécies diplóides, abrangendo 5 séries taxonômicas, foi similar àquela das espécies diplóides cultivadas (Hougas & Peloquin 1960).

Alta fertilidade masculina e feminina foi encontrada entre 60 híbridos ( $2n = 24$ ), em  $F_1$ , resultantes de cruzamentos entre a espécie diplóide *S. phureja* e haplóides de *S. tuberosum* (Ross 1962, Peloquin & Hougas 1961). Estudos sobre fertilidade em progênies provenientes de cruzamento entre híbridos em  $F_1$  de *S. phureja* e haplóides de *S. tuberosum*, mostraram ser a mesma suficiente para estudar a exequibilidade do melhoramento da batata ao nível diplóide (Ugalde 1963).

A presente pesquisa foi realizada para determinar a incidência de fertilidade masculina, feminina e autofertilidade, em progênies, em  $F_1$  e  $F_2$ ,

resultantes de cruzamentos envolvendo haplóides de *S. tuberosum* e espécies diplóides.

## MATERIAL E MÉTODOS

O material usado nesta pesquisa foi suprido pelo "Cooperative Federal - Wisconsin Project on the Genetics and Cytogenetics of *Solanum*" e o "Inter-Regional Potato Introduction (IR-1) Project, Sturgeon Bay, Wisconsin".

Os métodos usados foram aqueles mais adequados para determinar a fertilidade masculina, a feminina e a autofertilidade.

O trabalho foi conduzido com 31 famílias, em  $F_1$  e  $F_2$ , resultantes de cruzamentos de dois haplóides de *S. tuberosum*, US-W 3, proveniente da seleção Minn. 15-2-10-1-2, e US-W4, derivado da seleção Minn. 20-20-34, como progenitores femininos, com as seguintes espécies diplóides de *Solanum*, como progenitores masculinos: *S. chacoense* PI 189 215; *S. infundibuliforme* PI 210 050; *S. kurtzianum* PI 175 434; *S. neohawkesii* PI 210 042; *S. pampasense* PI 210 046; *S. phureja* PIs 195 198, 197 762, 205 504, 225 710, 243 466; *S. raphanifolium* PIs 210 043, 210 049; *S. simplicifolium* PIs 218 222, 218 224; *S. soukupii* POI 239 511; *S. sparsipilum* PIs 230 502, 233 692; *S. stenotomum* PI 234 007; *S. verneti* PI 230 562 e *S. xerophyllum* PI 210 050. Em um único cruzamento, o haplóide de *S. tuberosum* US-W 4, foi empregado como progenitor masculino.

O número de plantas, em cada família, variou de 4 a 24. Com poucas exceções, houve florescimento abundante em todas as famílias.

Diversos métodos foram usados para avaliar a fertilidade masculina, inclusive desprendimento, coloração e germinação de pólen e formação de sementes após "sib-matings"; a fertilidade feminina e a autofertilidade foram testadas por meio de formação de sementes, após "sib-matings" e autofecundação, respectivamente.

### Fertilidade masculina

**Desprendimento de pólen.** Todas as plantas que floresceram, em cada família, durante o período de cultura, foram tratadas no campo para determinação de desprendimento de pólen, sendo usada a seguinte técnica: colocaram-se as anteras maduras sobre a unha do polegar e agitando-se com um vibrador mecânico, testaram-se de 1 a 3 flores. As plantas foram classificadas, de acordo com a quantidade de pólen desprendido, em 3 categorias: boa, pobre e nula.

**Coloração de pólen.** Quatro plantas, em cada família, foram testadas para a determinação de

coloração e escolhidas, sempre que possível, de acôrdo com os resultados do teste de desprendimento de pólen, 2 plantas classificadas como "boa" e 2, como "pobre".

A técnica usada consistiu na coleta de flôres no campo e, imediatamente após, no laboratório, em lançar o pólen sobre uma gota de solução de lacto-fenil-fucsina ácida, contida em uma lâmina de microscópio. As contagens dos grãos de pólen foram realizadas sob o microscópio. No mínimo, 300 grãos foram contados em cada amostra e a porcentagem dos cheios, arredondados, bem coloridos, foi estabelecida.

**Germinação de pólen.** O teste de germinação de pólen foi efetuado usando-se as mesmas plantas coletadas no campo para o anterior. O pólen foi colocado numa gota de um meio contendo 20% de sucrose mais 50 ppm de ácido bórico, numa lâmina e esta invertida sobre uma lâmina especial que continha uma gota de água, a fim manter 100% de umidade relativa circundando o meio (Peloquin Mortenson e Hougas 1961). No mínimo, 200 grãos de pólen foram contados sob o microscópio, em cada amostra, e a porcentagem de germinação foi determinada. Aquêles grãos de pólen que desenvolveram um tubo germinativo de comprimento, no mínimo, igual ao diâmetro do respectivo grão, foram considerados férteis.

**Polinização controlada.** As mesmas plantas testadas para coloração e germinação de pólen o foram, também, para fertilidade masculina. Em duas ocasiões, não foi possível utilizar as mesmas plantas usadas previamente, por isso, empregaram-se duas outras. Em uma pequena família de 7 plantas tôdas foram testadas. O pólen de cada planta a ser testada foi coletado no campo e polinizados botões de plantas da mesma família, antecipadamente emasculados. A operação foi efetuada no campo. As plantas escolhidas como progenitores pistilados foram aquelas que nos testes anteriores tinham formado frutos ou apresentavam-nos de polinizações naturais. Em cada inflorescência, foram removidas tôdas as flôres abertas e todos os botões que não deveriam ser polinizados. A avaliação da fertilidade masculina foi feita pela formação de sementes, após os "sib-matings".

#### Fertilidade feminina

Tôdas as plantas que floresceram, em cada família, foram testadas para determinação de fertilidade feminina. A técnica consistiu na coleta de pólen de, no mínimo, 4 plantas em cada família, em uma cápsula de gelatina, com auxílio de um vibrador mecânico. Com esta mistura de pólen, os botões das

plantas da mesma família, da qual foi coletado, foram polinizados no campo. A razão para misturar o pólen foi evitar o efeito de fatores de auto-incompatibilidade. O número de botões polinizados, em cada planta, variou de 1 a 13. Em 7 famílias o pólen era tão escasso e pobre que teve de ser usado o procedente de família diferente. A fertilidade dos óvulos foi avaliada pela formação de sementes, após tais "sib-matings".

#### Autofertilidade

As mesmas 4 plantas usadas para os testes anteriores o foram, também, para a autofertilidade, exceto em 4 ocasiões, nas quais não haviam mais flôres. Usando-se a técnica de decapitação (Peloquin & Hougas 1959), as plantas escolhidas foram cortadas no campo e trazidas para uma casa de vegetação com ar condicionado, onde foram colocados dentro de garrafas para leite, cheias de água, a qual foram adicionadas algumas gotas de uma solução bactericida. Tôdas as flôres abertas foram removidas e os botões remanescentes, autofecundados tão logo começaram a desprender pólen. O número de flôres autofecundadas, em cada planta, variou de 1 a 19.

A autofertilidade foi avaliada pela formação de sementes, após as autofecundações.

## RESULTADOS

Os progenitores feminino e masculino, de cada família, são apresentados nos Quadros 1 e 2. O número de plantas, em cada família, bem como o número das mesmas que floresceu, estão contidos nos Quadros 3 e 4.

O período de florescimento começou nos primeiros dias de agosto e continuou durante todo o mês. A maioria das plantas (82,8%), floresceu durante êste período, algumas somente por curto

QUADRO 1. Genealogia das progênies estudadas em F<sub>1</sub>

Família	Progenitores	
	Feminino	Masculino
US-W 1021	US-W 3 × <i>S. pampasense</i> PI 210046.1	
US-W 1025	US-W 3 × <i>S. raphanifolium</i> PI 210049.5	
US-W 1026	US-W 3 × <i>S. simplicifolium</i> PI 218224.2	
US-W 1029	US-W 3 × <i>S. soukupii</i> PI 239511.2	
US-W 1030	US-W 3 × <i>S. sparsipilum</i> PI 230502.2	
US-W 1034	US-W 3 × <i>S. infundibuliforme</i> PI 210050.1	
US-W 1035	US-W 3 × <i>S. sernei</i> PI 230562.2	
US-W 1038	US-W 3 × <i>S. phureja</i> PI 195193.5	
US-W 1040	US-W 3 × <i>S. neohawkesii</i> PI 210042.1	
US-W 1055	US-W 3 × <i>S. stenotomum</i> PI 234007.3	
US-W 1057	US-W 3 × <i>S. phureja</i> PI 225719.2	
US-W 1059	US-W 4 × <i>S. phureja</i> PI 243466.3	
US-W 1067	US-W 4 × <i>S. kurtzianum</i> PI 175434.1	
US-W 1068	US-W 4 × <i>S. phureja</i> PI 195193.5	
US-W 1069	US-W 4 × <i>S. neohawkesii</i> PI 210042.1	
US-W 1077	US-W 4 × <i>S. zerophyllum</i> PI 210050.1	
US-W 1079	US-W 4 × <i>S. raphanifolium</i> PI 210043	
US-W 1083	US-W 4 × <i>S. simplicifolium</i> PI 218222	
US-W 1084	US-W 4 × <i>S. sparsipilum</i> PI 233692	

QUADRO 2. Genealogia das progênies estudadas em F<sub>2</sub>

Família	Progenitores	
	Feminino	Masculino
US-W 5609	(US-W 1025 × sib)	× US-W 1025
US-W 5610	US-W 1026 × sib	
US-W 5613	(US-W 1030 × sib)	× US-W 1030
US-W 5620	US-W 1036 (US-W 3 × <i>S. chacoense</i> PI 189215.7)	× sib
US-W 5621	US-W 1038 × sib	
US-W 5623	US-W 1040 × sib	
US-W 5636	US-W 1055 × sib	
US-W 5637	US-W 1057 × sib	
US-W 5638	US-W 1066 (US-W 4 × <i>S. chacoense</i> PI 189215.7)	× sib
US-W 5656	US-W 1077 × sib	
US-W 5659	US-W 1083 × sib	
US-W 5692	(WRF 359.9 ( <i>S. phureja</i> × <i>S. phureja</i> ) × US-W 4)	× sib

QUADRO 3. Análise de pólen: comparação das progênies em F<sub>1</sub> em relação às características do pólen

Família	N.º de plantas resci-das	N.º de plantas flo-ras	N.º de Desprendimento de pólen			Limites em % coloração	Limites em % germinação
			Boa	Pobre	Nula		
US-W 1021	24	18	18	0	0	23,4 — 51,5	8,3 — 16,4
US-W 1025	11	11	11	0	0	10,3 — 15,2	1,0 — 12,4
US-W 1026	24	23	23	0	0	48,1 — 54,6	16,5 — 34,7
US-W 1029	15	14	14	0	0	21,6 — 37,0	16,0 — 31,4
US-W 1030	24	24	24	0	0	30,7 — 59,6	7,2 — 32,7
US-W 1034	12	12	12	0	0	16,7 — 54,2	16,1 — 20,6
US-W 1035	16	14	14	0	0	7,0 — 26,7	1,0 — 16,6
US-W 1038	22	22	22	0	0	31,5 — 57,0	9,8 — 43,4
US-W 1040	16	15	15	0	0	29,1 — 61,3	22,0 — 43,0
US-W 1055	16	16	16	0	0	39,5 — 63,6	11,7 — 27,5
US-W 1057	24	24	24	0	0	19,2 — 47,3	15,4 — 32,5
US-W 1059	18	7	0	3	4	0,0 — 5,7	0,0 — 1,0
US-W 1067	24	24	1	12	11	0,0 — 46,3	0,0 — 20,8
US-W 1068	24	20	0	11	9	0,0 — 11,6	0,0 — 2,0
US-W 1069	18	17	6	6	5	5,2 — 38,7	1,1 — 28,0
US-W 1077	24	23	0	19	4	1,0 — 43,3	0,0 — 22,1
US-W 1079	24	13	0	7	6	0,0 — 0,0	0,0 — 0,0
US-W 1083	24	14	14	0	0	38,2 — 44,8	7,6 — 13,2
US-W 1084	20	19	3	9	7	1,0 — 23,2	0,0 — 13,3

QUADRO 4. Análise de pólen: comparação das progênies em F<sub>2</sub> em relação às características do pólen

Família	N.º de plantas resci-das	N.º de plantas flo-ras	N.º de Desprendimento de pólen			Limites em % coloração	Limites em % germinação
			Boa	Pobre	Nula		
US-W 5609	16	13	8	4	1	3,4 — 34,7	0,0 — 12,8
US-W 5610	11	8	1	4	3	5,0 — 53,5	0,0 — 20,1
US-W 5613	7	7	7	0	0	10,2 — 18,4	3,4 — 17,7
US-W 5620	22	17	11	6	0	0,0 — 39,3	0,0 — 10,6
US-W 5621	22	19	13	6	0	44,7 — 67,6	22,1 — 47,3
US-W 5623	7	6	4	2	0	5,6 — 76,3	0,0 — 61,2
US-W 5636	11	5	1	4	0	6,9 — 35,3	1,0 — 3,4
US-W 5637	22	19	8	6	5	1,0 — 13,2	0,0 — 10,7
US-W 5638	4	4	3	1	0	54,1 — 81,3	13,2 — 42,9
US-W 5656	24	15	2	6	7	34,5 — 61,5	6,5 — 24,1
US-W 5659	16	8	3	5	0	6,3 — 26,7	1,0 — 5,5
US-W 5692	23	17	11	6	0	0,0 — 16,9	0,0 — 7,8

intervalo e por isso não foram usadas em testes, pois o florescimento terminou antes que elas pudessem ser avaliadas. Embora algumas famílias mostrassem plantas mal desenvolvidas ou plantas com flôres ostentando anteras verdes que não desprendiam pólen, a maioria delas possuía bom vigor e flôres com anteras normais.

## Fertilidade masculina

Tôdas as plantas das progênies em F<sub>1</sub> onde o haplóide US-W3 foi usado como progenitor feminino, foram classificadas como boas no que se refere à quantidade de pólen desprendido. Com as progênies envolvendo US-W 4, a maioria das plantas, em cada família, foi classificada como pobre ou não desprendeu pólen. Os F<sub>1</sub>, envolvendo US-W 3, apresentaram 100,0% de pólen fértil, enquanto aqueles com US-W 4 exibiram 17,5%; para os F<sub>2</sub>, os valores foram, respectivamente, 56,4 e 43,2% de pólen fértil. A porcentagem total de pólen fértil foi de 61,7. Os valores de coloração de pólen (Quadro 2) estão, de um modo geral, em concordância com os de desprendimento de pólen. A maioria dos F<sub>1</sub> envolvendo US-W 3, apresentou porcentagens mais elevadas de coloração de pólen do que aqueles com US-W 4. Os limites registrados para as porcentagens de germinação, em cada família, são apresentados no Quadro 2. De um modo geral, esses valores estão de acordo com os de desprendimento e coloração de pólen.

A maioria das famílias em F<sub>1</sub> com US-W 3, mostrou germinação mais elevada do que aquelas que apresentam como um dos progenitores US-W 4. Nos testes para formação de sementes, conduzidos por meio de polinizações artificiais, os limites de sementes por fruto nos F<sub>1</sub> com US-W 3, variaram de 0,0 a 105,0, enquanto que com US-W 4, foram de 0,0 a 37,5. Os limites totais, nos F<sub>2</sub>, oscilaram entre 0,0 a 98,0 (Quadros 5 e 6).

## Fertilidade feminina

Em tôdas as famílias houve plantas que formaram frutos e sementes e 68,8% das plantas que floresceram apresentaram fertilidade feminina.

QUADRO 5. Fertilidade masculina: formação de frutos e sementes nas progênies em F<sub>1</sub>

Família	N.º de plantas testadas	N.º de plantas forma-ram frutos	N.º de flôres polini-zadas	N.º de frutos	N.º de sementes	N.º de sementes por fruto
US-W 1021	4	1	15	1	36	36,0
US-W 1025	4	3	16	3	0	0,0
US-W 1026	4	2	16	7	94	13,4
US-W 1029	4	3	17	7	735	105,0
US-W 1030	4	2	17	7	63	9,0
US-W 1034	4	1	15	2	45	22,5
US-W 1035	4	3	20	3	77	25,6
US-W 1038	4	2	20	3	213	71,0
US-W 1040	4	3	16	4	406	101,5
US-W 1055	4	2	17	6	152	25,3
US-W 1057	4	3	15	5	161	32,5
US-W 1059	3	0	13	0	0	0,0
US-W 1067	4	4	23	5	5	1,0
US-W 1068	4	0	14	0	0	0,0
US-W 1069	4	4	20	10	0	0,0
US-W 1077	4	0	14	0	0	0,0
US-W 1079	4	1	20	1	0	0,0
US-W 1083	4	3	16	6	225	37,5
US-W 1084	4	4	16	9	47	5,2

QUADRO 6. Fertilidade masculina: formação de frutos e sementes nas progênies em F<sub>2</sub>

Família	plantas testadas	N.º de plantas forma-ram frutos	N.º de flôres polini-zadas	N.º de frutos	N.º de sementes	N.º de sementes por fruto
US-W 5609	4	2	19	7	276	30,4
US-W 5610	4	1	17	3	146	48,6
US-W 5613	4	1	18	6	242	40,3
US-W 5620	4	1	20	2	196	98,0
US-W 5621	4	3	18	8	884	85,5
US-W 5623	6	3	25	4	120	30,0
US-W 5636	2	0	7	0	0	0,0
US-W 5637	4	1	17	3	107	35,6
US-W 5638	4	4	16	9	120	13,3
US-W 5656	4	3	18	7	177	25,3
US-W 5659	4	3	16	8	220	27,5
US-W 5692	4	2	15	5	239	47,8

Alguns valores referentes ao número de plantas que formaram frutos e ao número de frutos, são mais altos do que os respectivos para o número de plantas e botões polinizados. Isto se deve ao fato de que frutos provenientes de polinizações naturais foram colhidos e computados em algumas plantas, nas quais não houve oportunidade de fazer polinizações artificiais no tempo próprio (Quadros 7 e 8).

QUADRO 7. Fertilidade feminina: formação de frutos e sementes nas progênies em F<sub>1</sub>

Família	N.º de plantas polini-zadas	N.º de plantas forma-ram frutos	N.º de plantas forma-ram semen-tes	N.º de flôres polini-zadas	N.º de frutos	N.º de semen-tes	N.º de semen-tes/fruto
US-W 5609	8	6	5	49	11	578	52,5
US-W 5610	4	5	4	24	13	448	34,5
US-W 5613	6	5	5	33	12	695	57,0
US-W 5620	14	10	8	104	43	3 001	69,8
US-W 5621	13	15	15	71	48	3 469	72,3
US-W 5623	4	5	5	20	19	2 863	150,7
US-W 5636	3	1	1	22	7	437	62,4
US-W 5637	6	9	8	27	23	3 057	13,3
US-W 5638	4	4	4	22	17	842	49,5
US-W 5656	10	10	10	62	27	1 055	39,1
US-W 5659	7	5	4	50	26	1 005	38,6
US-W 5692	12	11	4	61	35	1 418	40,5

QUADRO 8. Fertilidade feminina: formação de frutos e sementes nas progênies em F<sub>2</sub>

Família	N.º de plantas polini-zadas	N.º de plantas forma-ram frutos	N.º de plantas forma-ram semen-tes	N.º de flôres polini-zadas	N.º de frutos	N.º de semen-tes	N.º de semen-tes/fruto
US-W 1021	17	16	16	89	58	1 652	28,0
US-W 1025	11	9	9	63	20	345	17,2
US-W 1026	22	18	17	134	63	1 926	30,6
US-W 1029	13	12	12	71	37	3 448	90,7
US-W 1030	23	23	23	136	74	2 030	27,4
US-W 1034	12	12	12	67	33	1 408	42,6
US-W 1035	11	11	10	66	19	658	34,6
US-W 1038	13	21	14	73	66	2 783	42,2
US-W 1040	13	14	14	78	63	4 887	81,4
US-W 1053	9	14	14	65	59	10 992	186,3
US-W 1057	24	23	23	129	77	6 326	82,2
US-W 1059	6	6	6	30	19	2 085	109,7
US-W 1067	21	13	9	110	28	956	34,1
US-W 1068	17	16	14	88	55	2 010	36,5
US-W 1069	14	14	14	99	69	6 482	93,9
US-W 1077	23	20	18	117	54	2 259	41,8
US-W 1079	13	8	7	83	18	856	47,6
US-W 1083	14	12	9	71	48	742	15,4
US-W 1084	17	8	8	93	12	242	20,2

Os limites de sementes por fruto, nos F<sub>1</sub> com US-W 3, variaram de 17,2 a 186,3, enquanto naqueles com US-W 4 oscilaram entre 15,4 e 109,7. Os F<sub>2</sub>, envolvendo a ambos os haplóides, US-W 3 e US-W 4, apresentaram limites de 13,3 a 150,7 (Quadro 4). A porcentagem de formação de frutos, em relação às polinizações feitas, foi de 76,3. O número de plantas, em cada família, que caiu em cada uma das 5 classes arbitrárias, organizadas de acordo com o número de sementes por fruto, é apresentada nos (Quadros 9 e 10).

QUADRO 9. Fertilidade feminina: número de plantas por família em cada classe de sementes por fruto nas progênies em F<sub>1</sub>

Família	Número de sementes por fruto				
	0-50	51-100	101-150	151-200	201-250
US-W 1021	18	1	0	0	0
US-W 1025	10	1	0	0	0
US-W 1026	18	3	0	1	0
US-W 1029	7	4	2	0	1
US-W 1030	17	6	0	0	0
US-W 1034	10	1	0	0	1
US-W 1035	10	1	0	0	0
US-W 1038	11	7	2	0	1
US-W 1040	3	5	6	0	0
US-W 1055	1	2	1	4	6
US-W 1057	7	10	5	2	0
US-W 1059	0	2	2	2	0
US-W 1067	21	1	0	0	0
US-W 1068	11	6	0	0	0
US-W 1069	0	9	4	1	0
US-W 1077	17	6	0	0	0
US-W 1079	11	2	0	0	0
US-W 1083	14	0	0	0	0
US-W 1084	18	1	0	0	0

QUADRO 10. Fertilidade feminina: número de plantas por família em cada classe de sementes por fruto nas progênies em F<sub>2</sub>

Família	Número de sementes por fruto				
	0-50	51-100	101-150	151-200	201-250
US-W 5609	5	1	2	0	0
US-W 5610	4	1	0	0	0
US-W 5613	4	2	0	0	0
US-W 5620	8	4	1	1	0
US-W 5621	6	6	2	1	0
US-W 5623	0	1	2	2	0
US-W 5636	2	1	0	0	0
US-W 5637	2	1	2	2	2
US-W 5638	3	1	0	0	0
US-W 5656	10	2	0	0	0
US-W 5659	5	2	0	0	0
US-W 5692	9	0	2	1	0

Autofertilidade

A maioria das famílias em F<sub>1</sub>, não formou frutos ou sementes, enquanto que a maior parte das em F<sub>2</sub> produziu ambos, frutos e sementes. Os limites de sementes por fruto, nos F<sub>1</sub>, envolvendo US-W 3, variaram de 0,0 a 3,0, enquanto que com US-W 4 a variação foi de 0,0 a 9,5. Nos F<sub>2</sub>, considerando ambos os haplóides, os limites variam de 0,0 a 18,3 (Quadros 11 e 12). A porcentagem total de plantas que formaram frutos foi de 18,5 e a formação de sementes foi muito baixa.

QUADRO 11. Autofertilidade: formação de frutos e sementes nas diferentes progênies em F<sub>1</sub>

Família	N.º de plantas testadas	N.º de plantas formaram frutos	N.º de flores autofecundadas	N.º de frutos	N.º de sementes	N.º de sementes/fruto
US-W 1021	4	0	34	0	0	0,0
US-W 1025	4	0	20	0	0	0,0
US-W 1026	4	1	32	2	0	0,0
US-W 1029	4	0	24	0	0	0,0
US-W 1030	4	0	33	0	0	0,0
US-W 1034	4	0	29	0	0	0,0
US-W 1035	4	1	28	4	12	3,0
US-W 1038	4	2	33	2	4	2,0
US-W 1040	4	0	32	0	0	0,0
US-W 1055	4	0	28	0	0	0,0
US-W 1057	4	0	21	0	0	0,0
US-W 1059	3	0	15	0	0	0,0
US-W 1067	4	2	42	2	3	1,5
US-W 1068	3	0	24	0	0	0,0
US-W 1069	4	1	32	1	0	0,0
US-W 1077	4	0	22	0	0	0,0
US-W 1079	4	0	25	0	0	0,0
US-W 1083	4	2	43	6	57	9,5
US-W 1084 <sup>u</sup>	4	2	36	4	0	0,0

QUADRO 12. Autofertilidade: formação de frutos e sementes nas diferentes progênies em F<sub>2</sub>

Família	N.º do plantas testadas	N.º de plantas formaram frutos	N.º de flores autofecundadas	N.º de frutos	N.º de sementes	N.º de sementes/fruto
US-W 5609	4	0	8	0	0	0,0
US-W 5610	4	1	13	1	0	0,0
US-W 5613	5	1	38	5	5	1,0
US-W 5620	4	1	36	1	0	0,0
US-W 5621	4	1	21	2	11	5,5
US-W 5623	6	0	30	0	0	0,0
US-W 5636	4	0	16	0	0	0,0
US-W 5637	4	2	22	3	55	18,3
US-W 5638	2	2	17	9	157	17,4
US-W 5656	4	2	22	5	76	15,2
US-W 5659	4	1	22	2	19	9,5
US-W 5692	4	1	18	1	8	8,0

## DISCUSSÃO

As extraordinárias diferenças em comportamento, entre as populações, envolvendo US-W 3 e US-W 4, assim como entre os híbridos em F<sub>1</sub> e em F<sub>2</sub> de uma mesma família, mostram a variabilidade que pode ser esperada quando do estudo de populações segregantes envolvendo haplóides de *S. tuberosum*.

A alta fertilidade masculina observada com os híbridos em F<sub>1</sub> (US-W 1083), entre US-W 4 e *S. simplicifolium*, sugere a ocorrência de tipo diferente de interação pelo uso desta espécie quando comparada com as outras testadas.

Um fato incomum foi observado em relação à F<sub>1</sub> (US-W 1069), entre US-W 4 e *S. neohawkesii*, esta família produziu o mais elevado número de frutos e foi a única na qual tôdas as plantas formaram frutos, entretanto, não houve sementes.

Uma grande variação, nos níveis de fertilidade masculina e feminina, assim como nos de autofertilidade, foi observada nas progênies em F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub>, envolvendo seleções diferentes de *S. phureja*, sugerindo que, pelo uso de seleções apropriadas

desta espécie, a fertilidade em híbridos, entre haplóide de *S. tuberosum* × *S. phureja*, pode ser melhorada.

Algumas plantas falharam para produzir sementes por meio de polinização artificial, entretanto mais tarde, foi verificada a formação das mesmas sob polinização natural. Os testes, para fertilidade masculina e feminina, foram conduzidos sob condições de pleno campo. Um fator que poderia ter influenciado, desfavoravelmente, o processo de fertilização foi a alta temperatura que prevaleceu em certos dias, durante essa fase do trabalho. Provavelmente, os níveis de fertilidade observados nesta pesquisa, são mais baixos do que os reais, inerentes a êsse material.

Foi observada nas populações em F<sub>1</sub>, fertilidade feminina viável de ser trabalhada. O alto nível de fertilidade feminina, exibido pelas populações em F<sub>2</sub>, sugere a ocorrência de interações nestas populações segregantes, resultando numa tendência para aumentar a fertilidade.

Parece, pelo nível de fertilidade masculina encontrado nas populações em F<sub>1</sub> e F<sub>2</sub> com US-W 3, bem como nas em F<sub>2</sub> com US-W 4, que esta não será uma barreira na transferência de gens de espécies diplóides de *Solanum* para a espécie *S. tuberosum*, desde que apropriados haplóides e espécies diplóides sejam escolhidos. Além disso, um aumento na fertilidade masculina pode ser encontrado em certos indivíduos de populações segregantes.

A auto-incompatibilidade é geralmente encontrada entre as espécies diplóides de *Solanum* (Choudhuri 1944, Swaminathan & Howard 1953, Hawkes 1958). Esta auto-incompatibilidade pode ser devida a um simples fator oposicional em algumas espécies, enquanto em outras, a uma situação mais complexa (Pushkarnath 1942, 1953). Como era de esperar-se, um alto grau de auto-incompatibilidade foi encontrado nas populações em F<sub>1</sub>. Nas em F<sub>2</sub>, principalmente naquelas envolvendo US-W 4, um leve aumento em autofertilidade foi observado, sugerindo que certas interações ocorreram nestas populações segregantes e, por conseguinte, que a auto-incompatibilidade pode ser superada, em certo grau, pelo uso de progenitores apropriados.

O desprendimento e a germinação de pólen revelaram aceitável concordância com a formação de sementes, mostrando que tais critérios podem ser usados como medida de fertilidade masculina. Por sua facilidade e rapidez, o teste de desprendimento de pólen é preferível ao de germinação. O teste

de coloração tende a superestimar o real valor do pólen fértil, sendo uma medida menos efetiva da fertilidade masculina.

A despeito da grande variabilidade entre as populações estudadas, todas elas mostraram fertilidade suficiente para uso em programas de melhoramento. A fertilidade, nesses híbridos, parece ser bastante para permitir a exequibilidade do melhoramento da batata ao nível diplóide.

### AGRADECIMENTOS

Agradecimentos são devidos à Fundação Rockefeller pela concessão de uma bolsa de estudos na Universidade de Wisconsin, Estados Unidos da América; aos Drs. R. W. Hougas, meu conselheiro, e S. J. Peloquin pelos conselhos dados e pelas críticas que fizeram em todas as fases do trabalho, bem como pela leitura do manuscrito e as valiosas sugestões a esse respeito; ao Governo Brasileiro e ao Diretor do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Sul (IPEAS), Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil.

### REFERÊNCIAS

- Bains, G. S. & Howard, H. W. 1950. Haploid plants of *Solanum demissum*. Nature, Lond., 166:795.
- Cadman, C. H. 1942. Autotetraploid inheritance in the potato: some new evidence. J. Gen. 44:33-52.
- Choudhuri, H. C. 1944. Cytological and genetic studies in the genus *Solanum*. II. Wild and cultivated diploid potatoes. Trans. Roy. Soc. Edinburgh 61:199-219.
- Dodds, K. S. 1950. Polyhaploids of *Solanum demissum*. Nature, Lond., 166:795.
- Hawkes, J. G. 1956a. A revision of the tuber-bearing Solanums. Scottish Pl. Breeding Sta. Ann. Rep. 33:109.
- Hawkes, J. G. 1956b. Taxonomic Studies in the tuber-bearing Solanums. *Solanum tuberosum* and the tetraploid species complex. Proc. Linn. Soc. Lond. 166:95-144.
- Hawkes, J. G. 1958. Significance of wild species and primitive forms for potato breeding. Euphytica 7:257-270.
- Hougas, R. W. & Peloquin, S. J. 1957. A haploid plant of the potato variety Katahdin. Nature, Lond., 180: 1209-1210.
- Hougas, R. W. & Peloquin, S. J. 1958. The potential of potato haploids in breeding and genetic research. Am. Potato J. 35:701-707.
- Hougas, R. W. & Peloquin, S. J. 1960. Crossability of *Solanum tuberosum* haploids with diploid *Solanum* species. Eur. Potato J. 3:325-330.
- Howard, H. W. 1961. Potato cytology and genetics. Biblio. Genetica 19:87-216.
- Ivanovskaja, E. V. 1939. A haploid plant of *S. tuberosum*. LCR (Doklady) Acad. Sci. URSS 24:517-520.
- Krantz, F. A. 1946. Potato breeding methods. III. A suggested procedure for potato breeding. Minn. Agr. Exp. Sta. Tech. Bull. 173.
- Lamm, R. 1938. Notes on a haploid potato hybrid. Hereditas 24:391-395.
- Little, T. M. 1945. Gens segregation in autotetraploids. Bot. Rev. 11:60-85.
- Marks, G. E. 1955. A polyhaploid plant of *Solanum polytrichon* Ryb. Nature, Lond., 175:469.
- Peloquin, S. J. & Hougas, R. W. 1959. Decapitation and genetic markers as related to haploid in *Solanum tuberosum*. Eur. Potato J. 2:176-183.
- Peloquin, S. J. & Hougas, R. W. 1960. Genetic variation among haploids of the common potato. Am. Potato J. 37:289-297.
- Peloquin, S. J. et alii 1961. Germination of *Solanum* pollen on artificial media. Am. Potato J. 38:370-371. (Abst.)
- Pushkarnath, 1942. Studies on sterility in potatoes. I. The genetics of self-and cross-incompatibilities. Indian. J. Genetics and Plant Breeding 2:11-36.
- Pushkarnath, 1953. Studies on sterility in potatoes. V. Genetics of self-and cross-incompatibility in *Solanum rybinii*. Indian J. Genetics and Plant Breeding 13: 83-90.
- Ross, R. W. et al. 1962. Fertility of diploid hybrids from *S. phureja* haploid *S. tuberosum* matings. Am. Potato J. 39:395. (Abst.)
- Swaminathan, M. S. & Howard, H. W. 1953. The cytology and genetics of the potato (*Solanum tuberosum*) and related species. Bibliographia Genetica 16:1-192.
- Ugalde, G. P. 1963. Fertility among offspring of *Solanum phureja* haploid *S. tuberosum* hybrids. M. Sc. Thesis, University of Wisconsin.

### FERTILITY OF $F_1$ AND $F_2$ POPULATIONS INVOLVING *Solanum tuberosum* HAPLOIDS AND SEVERAL DIPLOID SPECIES

#### Abstract

Thirty-one  $F_1$  and  $F_2$  progenies involving 2 *Solanum tuberosum* haploids (US-W 3 and US-W 4) and 13 *Solanum* diploid species were studied to determine the incidence of male, female and self-fertility.

This work was carried out in the field, greenhouse and laboratory. The female fertility tests were made by the use of bulked pollen of at least 4 plants with which each plant in the family was pollinated. These tests were conducted in the field. Male fertility was measured by means of pollen shed, stainability, germinability and seed set following controlled sib-matings in the field. Using the decapitation technique the self fertility tests were carried out in an air-conditioned greenhouse.

Most of the plants, 82.8%, flowered; 68.8% of the plants were female fertile and 61.7% were male fertile. A high degree of self incompatibility was found in the populations studied and 18.5% of the plants tested set fruits.

Pollen shedding is an efficient method to evaluate male fertility, as is pollen germinality but the latter is more complicated. Pollen stainability tends to overestimate the actual male fertility.

Different selections of *S. phureja* showed distinct behavior in respect to levels of fertility of their progenies.

Differences in fertility were detected among the progenies involving the two *S. tuberosum* haploids. The F<sub>1</sub> and F<sub>2</sub> offspring involving US-W 3 are, with few exceptions, highly fertile; those involving US-W 4 range in fertility from low to very high.

The overall fertility shown by the populations studied suggests that this material will be profitable for conducting genetic and cytogenetic studies as well as for breeding potatoes at the diploid level.