

UTILIZAÇÃO DE ESPÉCIES DIPLOÍDES DO GÊNERO GOSSYPIUM EM ESTUDOS E MELHORAMENTO PARA RESISTÊNCIA À SECA DE ALGODOEIROS TETRAPLÓIDES¹

JOSÉ GOMES DE SOUZA², JORGE VIEIRA DA SILVA³ e FRANCISCO ALVES NETO⁴

RESUMO - Linhas monossômicas, cada uma para um cromossomo diferente adicionado ao *Gossypium hirsutum* a partir de espécies diplóides selvagens, foram estudadas no que diz respeito aos traços fisiológicos ligados à resistência à seca. Quatorze linhas com bom vigor e características fisiológicas excepcionais foram identificadas num conjunto de trinta e separadas em dois grupos, segundo apresentavam alto ou baixo potencial hídrico após um tratamento de seca. Estes dois grupos estão sendo usados em um programa de seleção recorrente para resistência à seca, visando facilitar a transferência de genes das espécies diplóides selvagens para o *G. hirsutum* cultivado.

Termos para indexação: *Gossypium hirsutum*, monossômicos, melhoramento de plantas.

USE OF DIPLOID SPECIES OF GOSSYPIUM IN STUDIES AND BREEDING OF TETRAPLOID COTTON FOR DROUGHT RESISTANCE

ABSTRACT - Monosomic lines for several chromosomes added to *Gossypium hirsutum* from diploid wild species were tested for several physiological traits linked with drought resistance. Fourteen lines with good vigour and outstanding physiological characteristics were identified out of thirty and separated in two groups according to their high or low water potential after drought treatment. These two groups are being used in a recurrent selection program for drought resistance in order to facilitate the transfer of genes from diploid wild species to cultivated *G. hirsutum*.

Index terms: *Gossypium hirsutum*, monosomics, plant breeding.

INTRODUÇÃO

A variabilidade genética do algodoeiro cultivado é relativamente reduzida, embora o gênero *Gossypium* ocupe áreas em quatro continentes, com mais de trinta espécies selvagens, cuja separação é muito antiga e cujos genótipos respectivos são já altamente incompatíveis (Fryxell 1979).

O algodoeiro cultivado no Brasil é um alotetraplóide, ao passo que a maioria das espécies selvagens é constituída de diplóides.

Como os algodoeiros selvagens ocupam uma posição ecológica correspondendo a áreas

de alta aridez, pareceu importante incorporar essa adaptação ao algodoeiro cultivado, embora o cruzamento seja especialmente difícil. Para contornar essa dificuldade, foi usada a técnica de linhagens de adição, formando monossômicos de um cromossoma de origem diplóide (Hau 1981a e b). Do ponto de vista fisiológico, já foi verificado que as descendências de alguns destes monossômicos, ainda que não possuindo mais o cromossoma suplementar, tinham recebido deste o material genético, conferindo resistência à seca Silva & Poisson 1969, Poisson 1970).

O objetivo do presente trabalho foi a utilização de métodos fisiológicos na avaliação das descendências de linhas de adição e triplos híbridos para melhoramento futuro para resistência à seca, constituindo núcleos de variabilidade genética para esta característica na forma de populações complexas.

¹ Aceito para publicação em 7 de dezembro de 1990

² Eng.-Agr., EMBRAPA/Centro Nacional de Pesquisa do Algodão (CNPA), Caixa Postal 174, CEP 58100 Campina Grande, PB.

³ Eng.-Agr., Universidade Paris VII, 2 P1, Jussieu, 75005 Paris, França.

⁴ Técnico em laboratório, CNPA/EMBRAPA.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em casa de vegetação, pertencente ao Centro Nacional de Pesquisa do Algodão (CNPA), da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), localizado em Campina Grande, PB.

Embora não se dispusesse de monossômicos de todos os cromossomas de *Gossypium*, ao número básico de 13, nem provenientes de todas as espécies selvagens, foram ensaiados os indicados mais adiante. Além disto, foram testados os descendentes de triplos híbridos incorporando *G. anomalum*, de maneira a constituir um allotetraploide artificial. Usaram-se, assim, as linhas indicadas na Tabela 1, cujas sementes foram plantadas em vasos de plástico contendo aproximadamente 4 kg de material de solo. Foram realizados dois desbastes, aos oito e quinze dias após o plantio, ficando duas plantas por vaso. Semanalmente, cada vaso foi irrigado com 250 ml de solução nutritiva de Hoagland, modificada por Johnson et al. (1957), citado por Epstein (1971). Foi usado o delineamento de blocos ao acaso com 36 tratamentos correspondentes às linhas referidas na Tabela 1 com três repetições. Determinaram-se no experimento acima as variáveis: resistência protoplasmica e potencial hídrico da folha, visando caracterizar as linhas quanto à resistência celular à dessecção e à manutenção de água nos tecidos.

Foi também medida a velocidade de crescimento da raiz, em outro experimento, cujas sementes, após a germinação, foram plantadas em sacos de 30 cm x 5 cm com solo, inclinados de maneira a proporcionar a visualização da raiz com 30 repetições e, após quatro dias, foi realizada a medida do comprimento da raiz (Souza et al. 1983). Na medida da resistência protoplasmica, quatro discos de 1,2 cm de diâmetro, retirados de terceira folha a partir do ápice de plantas com 35 dias, foram lavados duas vezes com água desmineralizada e colocados em 5 ml de água desmineralizada a 50°C/45 minutos (Souza et al. 1984). O fosfato inorgânico liberado do protoplasma após o rompimento foi medido nos 5 ml de água, usando-se o método de Ames (1966).

O potencial hídrico foi feito na quarta folha, a partir do ápice, aos 60 dias, com uma câmara de pressão (PMS instrument company Corvallis, Oregon), às 15 h, em plantas irrigadas, e à mesma hora, três dias após a suspensão da irrigação nas plantas tratadas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A primeira seleção efetuada sobre as plantinhas em germinação permitiu eliminar todas aquelas cuja falta de vigor, fraco poder germinativo e baixa velocidade de crescimento radicular, as tornaram inaptas à constituição de populações complexas com vistas à produção

TABELA 1. Linhas de adição e triplos híbridos utilizados.

Nº 1 LA 001	Cromossoma III	<i>G. anomalum</i>
Nº 2 LA 002	Cromossoma VI	<i>G. anomalum</i>
Nº 3 LA 003	Dissônica do cromossoma VI estável	<i>G. anomalum</i>
Nº 4 LA 004	Cromossoma VIII	<i>G. anomalum</i>
Nº 5 LA 005	Cromossoma I	<i>G. stocksii</i>
Nº 6 LA 006	Cromossoma III	<i>G. stocksii</i>
Nº 7 LA 008	Cromossoma I	<i>G. longicalyx</i>
Nº 8 LA 009	Cromossoma II	<i>G. longicalyx</i>
Nº 9 LA 010	Cromossoma III	<i>G. longicalyx</i>
Nº 10 LA 011	Cromossoma IV	<i>G. longicalyx</i>
Nº 11 LA 012	Cromossoma V	<i>G. longicalyx</i>
Nº 12 LA 013	Cromossoma VI	<i>G. longicalyx</i>
Nº 13 LA 014	Cromossoma VII	<i>G. longicalyx</i>
Nº 14 LA 015	Cromossoma VIII	<i>G. longicalyx</i>
Nº 15 LA 016	Cromossoma IX	<i>G. longicalyx</i>
Nº 16 LA 017	Cromossoma X	<i>G. longicalyx</i>
Nº 17 LA 018	Cromossoma XI	<i>G. longicalyx</i>
Nº 18 LA 019	Cromossoma XII	<i>G. longicalyx</i>
Nº 19 LA 020	Cromossoma I	<i>G. australis</i>
Nº 20 LA 021	Cromossoma III	<i>G. australis</i>
Nº 21 LA 022	Cromossoma IV	<i>G. australis</i>
Nº 22 LA 023	Cromossoma V	<i>G. australis</i>
Nº 23 LA 024	Cromossoma VI	<i>G. australis</i>
Nº 24 LA 025	Cromossoma VII	<i>G. australis</i>
Nº 25 LA 026	Cromossoma VIII	<i>G. australis</i>
Nº 26 LA 027	Cromossoma IX	<i>G. australis</i>
Nº 27 LA 028	Cromossoma XII	<i>G. australis</i>
Nº 28 LA 029	Cromossoma XIII	<i>G. australis</i>
Nº 29 LA 030	Cromossoma II	<i>G. sturtianum</i>
Nº 30 LA 031	Cromossoma VIII	<i>G. sturtianum</i>
Nº 31 VC 095		
Nº 32 VC 096	Descendências do triplo híbrido	
Nº 33 VC 097	<i>herbaceum</i> x <i>anomalum</i> x <i>hirsutum</i>	
Nº 34 VC 098		
Nº 35 VC 099		
Nº 36 SU-CR ₅	(variedade local)	

de material genético para estudos futuros de fisiologia da resistência à seca (Tabela 2). Os triplos híbridos com contribuição genética de *G. anomalum* foram particularmente inferiores e foram eliminados.

No entanto, todas as linhagens forneceram um número suficiente de plantas para o estabelecimento do experimento em casa de vegetação, sobre a resistência protoplasmica, a variação de potencial hídrico e o crescimento vegetativo e reprodutivo. Dois cromossomas contribuem de maneira importante para a resistência protoplasmica à desidratação: o cromossoma III (Silva & Poisson 1969) e o cromossoma VIII. Deve-se notar, no que diz res-

peito à resistência protoplasmica (menor valor de fosfato inorgânico corresponde a uma maior resistência protoplasmica), que ela é maior nas linhas possuindo o cromossoma III de origem africana do que nas linhas em que a origem desse cromossoma é australiana (Tabela 3). Para o cromossoma VIII, verifica-se a mesma distinção entre linhas com adição de origem africana ou australiana, sendo, porém, notório que a resistência protoplasmica é superior à que é proporcionada pela adição do cromossoma de origem africana (Tabelas 3 e 4).

Comparando as espécies fornecedoras de cromossomas de adição, cujas linhas foram

TABELA 2. Crescimento da raiz em cm durante os primeiros cinco dias. Campina Grande, PB, 1985.

Cromossoma	Espécie que contribui com o cromossoma de adição				
	<i>G. anomalum</i>	<i>G. stocksii</i>	<i>G. longicalyx</i>	<i>G. australe</i>	<i>G. sturtianum</i>
II			25,6±3,8		
III	21,1±3,8	24,2±3,6	21,0±6,0	19,7±4,0	21,3±5,9
IV			19,0±3,3	20,1±4,1	
V			26,2±4,1	23,1±3,0	
VI			21,0±4,3	23,4±5,5	
VIII	26,4±4,1		23,8±3,9	22,6±4,7	25,0±4,5
IX			23,5±4,5	24,4±3,0	

Testemunha SU 0450-8909 = 21,1±6,8.

TABELA 3. Contribuição do cromossoma de adição III à resistência à seca. Campina Grande, PB, 1985.

Espécie fornecedora	Genótipo	Origem	Resistência protoplasmica ^a	Crescimento de raiz em 5 dias (cm)	Abaixamento de potencial hídrico em 3 dias (bars)
<i>G. anomalum</i>	B ₁	África	55	21,1	- 10,0
<i>G. stocksii</i>	E ₁	África	58	24,2	- 7,0
<i>G. longicalyx</i>	F ₁	África	56	21,0	- 9,7
<i>G. australe</i>	C ₃	Austrália	73	19,7	- 13,7
<i>G. sturtianum</i>	C ₁	Austrália	76	21,3	- 9,7

^a Nanomoles de Pi liberado por cm⁻² de área de folha.

Testemunha SU 0450-8909:65

DMS = ± 39

P = 0,05.

TABELA 4. Contribuição do cromossoma de adição VIII à resistência à seca. Campina Grande, PB, 1985.

Espécie fornecedora	Resistência protoplasmática nanomoles Pi cm ⁻²	Crescimento de raiz em 5 dias (cm)	Abaixamento do potencial hídrico em 3 dias (bars)
<i>G. anomalum</i>	35	26,4	-10,0
<i>G. longicalyx</i>	39	23,2	-15,0
<i>G. australe</i>	61	22,6	-12,0
<i>G. sturtianum</i>	51	25,0	-8,3

NB. Ver legenda da Tabela 3.

selecionadas, verificou-se que os cromossomas III, IV, V, VI, VIII e IX são os que mais contribuíram para a resistência protoplasmática com expressão variável segundo a origem (Tabela 5). As outras linhas de adição destas espécies não foram retidas, por apresentarem resultados inferiores. Das espécies *G. anomalum*, *G. sturtianum* não se dispunha de linhas de adição de todos os cromossomas que eram disponíveis de *G. longicalyx* e de *G. australe*. Os valores das linhas retidas para a constituição de populações complexas de origem *G. longicalyx* e *G. australe* são indicados nas Tabelas 6 e 7.

Com efeito, o *G. longicalyx* é uma espécie de grande eficacidade fotossintética (El-Sharkawy et al. 1965) e *G. australe* é muito resistente à seca (Silva 1969). Nem todas as linhas indicadas nas Tabelas 1 e 4 foram consideradas na formação das populações complexas, pois foram utilizados critérios múltiplos conjugando velocidade de crescimento de raiz, resistência protoplasmática e variação de potencial hídrico da folha com a suspensão da irrigação (assim, a linha de adição do cromossoma II de *G. longicalyx* foi conservada, embora apresente uma fraca resistência protoplasmática, pois é particularmente eficaz em outras características). O abaixamento do potencial hídrico após a suspensão da irrigação foi variável segundo a origem do cromossoma de adição (Tabela 8). Mesmo que tivessem sido utilizados para a comparação pares de planta de tamanho e desenvolvimento o mais semelhantes possível, os valores foram particularmente va-

TABELA 5. Comparação da contribuição dos diferentes cromossomas de adição à resistência protoplasmática nas linhas selecionadas. Campina Grande, PB, 1985.

Cromosoma	Espécie que contribui com o cromossoma de adição				
	<i>G. anomalum</i>	<i>G. stocksii</i>	<i>G. longicalyx</i>	<i>G. australe</i>	<i>G. sturtianum</i>
II				84	
III	55	58	56	73	76
IV			42	43	
V			41	34	
VI	63		44	61	51
VIII	35		39	61	
IX			60	35	

NB. Ver legenda da Tabela 3.

TABELA 6. População a constituir por cruzamentos piramidal a partir de linhas de adição de cromossomas de *G. longicalyx*.

Cromossoma	Resistência protoplasmática nanomoles Pi cm ⁻²	Crescimento de raiz em 5 dias (cm)	Abaixamento do potencial hídrico (bars)
III	56	21,0	-9,7
IV	42	19,0	-8,3
V	41	26,2	-17,0
VI	44	21,0	-13,7
VIII	39	23,8	-15,0
IX	60	23,5	-7,8

NB. Ver legenda da Tabela 3.

TABELA 7. População a constituir por cruzamentos piramidal a partir de linhas de adição de cromossomas de *G. australe*.

Cromossoma	Resistência protoplásmica nanomoles Pi cm ⁻²	Crescimento de raiz em 5 dias (cm)	Abaixamento do potencial hídrico (bars)
III	73	19,7	-13,7
IV	43	20,1	- 7,5
V	34	23,1	-11,8
VI	61	23,4	-10,3
VIII	61	22,6	-12,0
IX	35	24,4	- 9,0

NB. Ver legenda da Tabela 3.

TABELA 8. Abaixamento do potencial hídrico foliar após suspensão da irrigação 3 dias (bars).

Cromosoma	Espécies fornecendo o cromossoma de adição				
	<i>G. anomalam</i>	<i>G. stockii</i>	<i>G. longicalyx</i>	<i>G. australe</i>	<i>G. sturtianum</i>
II			- 6,2		
III	-10,0	-7,0	- 9,7	-13,7	-9,8
IV			- 8,3	- 7,5	
V			-17,0	-11,8	
VI			-13,7	-10,3	
VIII			-15,0	-12,0	- 8,3
IX			- 7,8	- 9,0	

Testemunha SU 0450-8909 = 9,8

DMS = 2,7

P = 0,05

TABELA 9. Parâmetros fisiológicos de resistência à seca de linhas de adição de cromossomas de algodoeiros selvagens diplóides no algodoeiro cultivado *Gossypium hirsutum* L.

1º Grupo							
Número da linha	Origem	Número do cromossoma	Genótipo	Resistência protoplásrica nanomoles Pi cm ⁻²	Crescimento de raiz em 5 dias (cm)	Abaixamento de potencial hídrico (bars)	
1	<i>G. anomalam</i>	III	B ₁	55	21,1	-10,0	
4	<i>G. anomalam</i>	VIII	B ₁	35	26,4	-10,0	
11	<i>G. longicalyx</i>	V	F ₁	41	26,2	-17,0	
12	<i>G. longicalyx</i>	VI	F ₁	44	21,0	-13,6	
14	<i>G. longicalyx</i>	VIII	F ₁	39	23,8	-15,0	
22	<i>G. australe</i>	V	C ₃	34	23,1	-11,8	
25	<i>G. australe</i>	VIII	C ₃	61	22,6	-12,0	

riáveis. Essa variação não dependeu, no entanto, de variação na importância da parte aérea que conduziria a uma diferença de capacidade de transpiração, pois não existiu correlação entre essa massa aérea e o abaixamento do potencial hídrico da folha após suspensão de irrigação ($r^2 = 0,072$ NS).

Assim, dois grupos de linhas foram isolados: um, formado das que abaixaram pouco o potencial hídrico (provavelmente um melhor controle de transpiração, Tabela 6), e o segundo, formado das plantas que abaixaram mais o potencial hídrico da folha (Tabela 7). Não é, porém, de excluir que estas diferenças sejam devidas a diferenças do modelo de elasticidade da parede celular, que conduziriam a modificações do potencial para conteúdo hídrico semelhante (Noy-Meir & Ginzburg 1967 e 1969).

As linhas identificadas no grupo I (Tabela 9) e grupo II (Tabela 10) estão sendo cruzadas em dispositivo piramidal, de maneira a constituir populações complexas (Mayo 1980).

No entanto, pareceu interessante constituir duas outras populações complexas, por cruzamento piramidal, compreendendo a primeira as linhas de adição com participação do cromossoma III (Tabela 2), e a segunda, as linhas possuindo o cromossoma VIII (Tabela 4).

TABELA 10. Parâmetros fisiológicos de resistência à seca de linhas de adição de cromossomas de algodoeiros selvagens diplóides no algodoeiro cultivado *Gossypium hirsutum* L.

Número da linha	Origem	Número do cromossoma	Genótipo	Resistência protoplasmática nanomoles Pi cm ⁻²	Crescimento de raiz em 5 dias (cm)	Abaixamento de potencial hídrico (bars)
6	<i>G. stocksii</i>	III	E ₁	58	24,2	-7,0
8	<i>G. longicalyx</i>	II	F ₁	84	25,6	-6,2
10	<i>G. longicalyx</i>	IV	F ₁	42	19,0	-8,3
15	<i>G. longicalyx</i>	IX	F ₁	60	23,5	-7,8
21	<i>G. australis</i>	IV	C ₃	43	20,1	-7,5
26	<i>G. australis</i>	IX	C ₃	35	24,4	-6,3
30	<i>G. sturtianum</i>	VIII	C ₁	51	25,0	-8,3
Testemunha <i>G. hirsutum</i> SU 0450/8909				65	21,0	-9,8

CONCLUSÃO

Foi, assim, possível constituir uma população de base, reunindo genes favoráveis, originários de várias espécies diplóides, e esta população será utilizada no melhoramento futuro para o estudo da resistência à seca.

AGRADECIMENTOS

Ao Dr. Ehou Koto e ao Instituto das Savanas, do Ministério da Pesquisa Científica da República da Costa do Marfim a amável oferta do material genético utilizado neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- AMES, B.N. Assay of inorganic phosphate, total phosphate and phosphatases. In: COLOWICK, S.P.; KAPLAN, N.O. **Methods of enzymology**. New York: Academic Press, 1966. v.8, p.115-118.
- EL-SHARKAWY, M.; HESKETH, M.J.; MURAMOTO, H. Leaf photosynthetic rates and other growth characteristics among 26 species of *Gossypium*. **Crop Science**, v.5, p.517-521, 1965.
- EPSTEIN, E. **Mineral nutrition of plants: principles and perspectives**. New York: John Wiley and sons, 1971. 412p.
- FRYXELL, P.A. **The natural history of the cotton tribe (Malvaceae, tribe Gossypiae)**. Texas: A & M University Press, 1979. 245p.
- HAU, B. Lignées d'addition sur l'espèce *Gossypium hirsutum* L. I. Utilisation de l'hybridation interspécifique et de la méthode des lignées d'addition pour l'amélioration du cotonnier. **Cotton et Fibres Tropicales**, v.36, n.3, p.247-258, 1981a.
- HAU, B. Lignées d'addition sur l'espèce *Gossypium hirsutum* L. II. Description phénotypique de quelques lignées d'addition monosomique de *Gossypium anomalum* et de *Gossypium stocksii*. **Cotton et Fibres Tropicales**, v.36, n.4, p.286-296, 1981b.
- MAYO, O. **The theory of plant breeding**. [S.l.]: Clarendon Press, 1980. p.293.
- NOY-MEIR, I.; GINZBURG, B.Z. An analysis of the water potential isotherm in plant tissue. I. - The theory. **Australian Journal of Biological Sciences**, v.20, p.695-721, 1967.
- NOY-MEIR, I.; GINZBURG, B.Z. An analysis of the water potential isotherm in plant tissue. II. Comparative studies on leaves of different types. **Australian Journal of Biological Sciences**, v.22, p.35-52, 1969.
- POISSON, C. Contribution à l'étude de l'hybridation interspécifique dans le genre *Gossypium*: transfert de matériel génétique

que de l'espèce sauvage diploïde *G. anomatum* à l'espèce cultivée *G. hirsutum*. Paris: Sciences Onsay, 1970. 76p. Tese Doutorado.

SILVA, J.V. da. Comparaison entre cinq espèces de *Gossypium* quant à l'activité de la phosphatase acide après un traitement osmotique. Étude de la vitesse de solubilisation et de formation de l'enzyme. *Zeitschrift fuer Pflanzenphysiologie*, v.60, p.385-387, 1969.

SILVA, J.V. da; POISSON, C. Solubilisation d'enzymes hydrolytiques chez *Gossypium hirsutum*, *G. anomatum* et des dérivés de l'hybridation

entre ces deux espèces. *Cand. S. Genetics Cyt.*, v.11, p.582-586, p.1969.

SOUZA, J.G. de; SILVA, J.V. da; BARREIRO NETO, M.; GILES, J.A. Velocidade de crescimento de raiz como parâmetro de resistência à seca no algodoeiro. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, Brasília, v.18, n.2, 169-172, fev. 1983.

SOUZA, J.G. de; SILVA, J.V. da; GILES, J.A.; BARREIRO NETO, M. Selection for water stress tolerance in upland cotton in the northeast of Brazil. *Tropical Agriculture*, Trinidad, v.61, n.1, p.1-4, Jan. 1984.