

TESTE DE HIBRIDAÇÃO ARTIFICIAL NO AMENDOIM¹

ROSEANE CAVALCANTI DOS SANTOS², FRANCISCO JOSÉ CORREIA FARIAS²,
JOSÉ DE ALENCAR NUNES MOREIRA² e PÉRICLES DE ALBUQUERQUE MELO FILHO³

RESUMO - A hibridação artificial do amendoim *Arachis hypogaea* L. é um dos métodos mais utilizados para se conseguir variabilidade genética em programas de melhoramento. Entretanto, existem alguns aspectos ligados à planta que dificultam o manejo e o sucesso na obtenção de híbridos. Neste trabalho foram testadas duas técnicas de hibridação artificial no amendoim: uma convencional e outra modificada e descritas informações sobre o manejo, que favorecem o sucesso na obtenção de híbridos viáveis nos cruzamentos. O experimento foi conduzido em casa telada durante os anos de 1990 e 1991, na sede do Centro Nacional de Pesquisa de Algodão - CNPA -, em Campina Grande, PB. Utilizaram-se como progenitores genótipos dos grupos Valência e Virgínia, os quais foram plantados em vasos de plástico contendo uma mistura de solo de textura franco-arenosa. Não foi revelada diferença estatística entre as técnicas avaliadas pelo teste do qui-quadrado (χ^2) a 5% de probabilidade. A adoção da técnica modificada é mais recomendada, uma vez que reduz em torno de 50% a mão-de-obra utilizada e evita traumatismo em decorrência da manipulação das estruturas florais.

Termos para indexação: *Arachis hypogaea*.

ARTIFICIAL HYBRIDIZATION TEST IN PEANUT

ABSTRACT - Artificial hybridization is an usual method to obtain genetic variability in peanut (*Arachis hypogaea* L.) plant-breeding programs. There are, however, some morphological aspects which make it difficult to obtain hybrids. A green house trial was set out in 1990 and 1991 at Centro Nacional de Pesquisa de Algodão, Campina Grande, PB, Brazil, to study the efficiency of two artificial hybridization techniques in peanuts, a conventional and a modified one. Genotypes of Valência and Virginia groups were used as progenitors. They were grown in plastic containers in a sand-loam texture soil. The result showed that no significant difference was obtained between techniques (chi-square test at 0,5 level). The modified technique can be recommended, because it requires 50% less manual work and reduces hand injury on flower structures.

Index terms: *Arachis hypogaea*.

INTRODUÇÃO

A estrutura floral do amendoim (*Arachis hypogaea* L.), com o pistilo e estames protegidos sobre a quilha, permite que a planta seja altamente autopolinizável. Reforçando esta tendência, soma-se, ainda, a ocorrência de flores cleistogâmicas, as quais se situam na parte basal das plantas do tipo ereto e precoce (Umen, 1973).

Segundo Nigam et al. (1990), a hibridação natural no amendoim ocorre a uma taxa menor que 1%, embora nos trabalhos de Knauff et al. (1987) tenham sido encontrados até 10% de polinização cruzada, resultante das atividades das abelhas em determinados locais e estações do ano. A hibridação artificial no amendoim é uma das maneiras mais utilizadas para conseguir variabilidade genética nos programas de melhoramento. Dois aspectos ligados à planta dificultam, no entanto, o manejo e o sucesso na obtenção de híbridos: o tamanho dos botões florais, geralmente pequenos, com dimensões de 6 a 10 mm, e o "peg" (ginóforo), estrutura visível aos 4-8 dias

¹ Aceito para publicação em 1º de fevereiro de 1994

² Enga.-Agra., Fitomelhorista, EMBRAPA/CNPA, Caixa Postal 174, CEP 58107-720 Campina Grande, PB.

³ Eng.-Agr., Fitotecnista, UFRPE, Caixa Postal 2071, CEP 52171-030 Recife, PE.

após a fertilização e que carrega o óvulo fertilizado ou as futuras sementes. O "peg", por ser dotado de geotropismo positivo, dificulta o trabalho do operador com relação à sua identificação depois que penetra na superfície do solo. Por esta razão, em certas cultivares, principalmente nas que apresentam inflorescência composta, é necessário muito cuidado na hora de identificar o "peg" híbrido.

Segundo alguns autores, o sucesso na eficiência dos cruzamentos na hibridação artificial no amendoim depende da técnica adotada e das modificações nas condições ambientais e manejo pós-fertilização. Hildebrand (1974) demonstrou que hibridações artificiais no amendoim, que causam a emasculação e a polinização ao mesmo tempo, ou seja, só pela manhã ou à tarde, têm dado bons resultados. Entretanto, nas hibridações realizadas no CNPA tem-se observado que o procedimento dessas duas etapas no período da manhã, entre as 6 e as 8 h, apenas 11% de vagens híbridas têm sido conseguidas, ao passo que no período da tarde, entre as 16 e as 18 h, já foram obtidos até 72% de eficiência (Santos, 1991).

Segundo alguns autores, a percentagem de sucesso na hibridação artificial no amendoim varia entre 39 a 70%, dependendo da técnica utilizada e da eficiência do operador (Norden & Rodriguez, 1971; Lim & Gumpil, 1984; Kale & Mouli, 1984; Santos, 1991). Acrescente-se, ainda, a esses fatores, o estado hídrico e sanitário das plantas.

Neste trabalho foram avaliadas duas técnicas de hibridação: uma, convencional, e outra, modificada, e descritos alguns aspectos sobre o manejo na hibridação do amendoim, com o objetivo de recomendar a maneira mais viável e eficiente de conseguir híbridos intervarietais.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido em casa telada durante o primeiro e o segundo semestres de 1990 e o primeiro semestre de 1991, na base física do CNPA, em Campina Grande, PB. Foram escolhidos como genitores três genótipos do grupo Valência e um genótipo do grupo Virgínia, todos com características agronômicas aceitáveis e portadores de genes marcadores capazes de expressar, logo na primeira geração, o sucesso da técnica utilizada.

Para a identificação dos híbridos na geração F₁, utilizou-se como marcador a cor do caulículo (arroxeadado x verde), o qual é condicionado por um par de genes, sendo a cor arroxeadada dominante sobre a verde (Jadhav & Shinde, 1979). Este caráter pode ser melhor visualizado a partir do décimo dia após a germinação. Escolheram-se os genótipos de caulículo verde para funcionarem como genitor materno. O plantio foi efetuado em vasos de plástico (30 cm de altura x 28 cm de diâmetro), contendo uma mistura de solo de textura franco-arenosa. Em cada vaso foram colocadas três sementes, sendo o desbaste efetuado aos 20 dias após o plantio (dap), deixando-se, a partir daí, duas plantas/vaso. Foram estudadas duas técnicas de hibridação: a primeira, denominada convencional, constou da emasculação dos botões florais à tarde, um dia antes da antese, e polinização na manhã do dia seguinte; a segunda, modificada, consistiu de emasculação e polinização realizadas no mesmo dia e durante a tarde. Os detalhes das partes florais e da flor completa do amendoim encontram-se nas Fig. 1 e 2. Em ambas as técnicas utilizadas a emasculação teve início às 16 h. A polinização, quando realizada pela manhã,

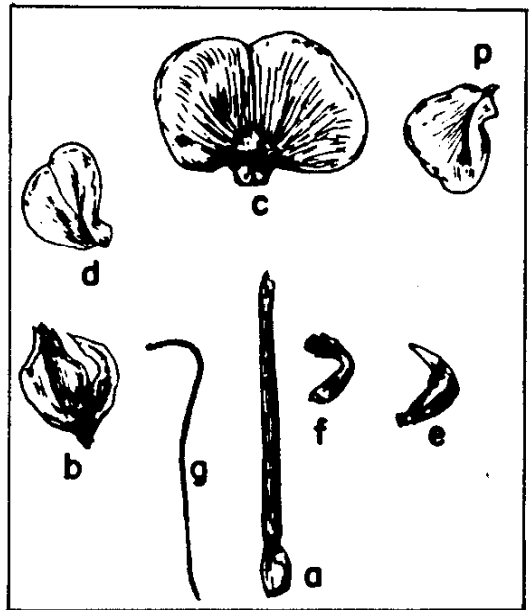


FIG. 1. Partes florais do amendoim mostrando: a) hipanto; b) sépalos; c) estandarte; d) asas; e) quilha; f) estames; g) estilo e estigma. Adaptado de Nigam et al. (1990).

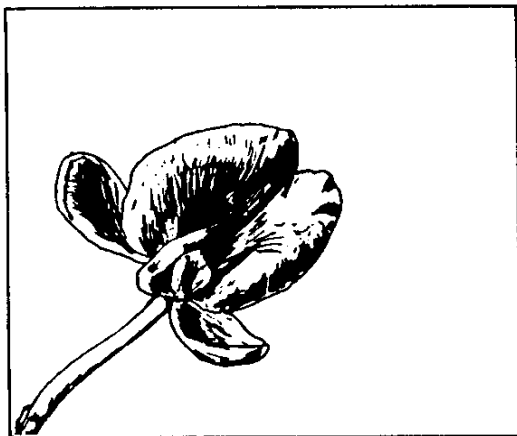


FIG. 2. Flor completa do amendoim. Adaptado de Nigam et al. (1990).

teve início às 6,30 h, e à tarde, a partir das 16,30 h. Durante o período de ensaio, a temperatura e a umidade relativa do ar dentro da casa telada situaram-se em torno de 27,30°C e 77%, respectivamente. As capinas foram realizadas sempre que se fez necessário. O procedimento da hibridação adotada baseou-se em Nigam et al. (1990) para a técnica convencional (A) e Hildebrand (1974) para a modificada (B), ambas com algumas alterações, que serão descritas a seguir:

Emasculação

Foram escolhidos botões com cerca de 4 a 6 mm de comprimento, com as pétalas semivisíveis sob as sépalas, e que apresentassem tubo do cálice maior que 15 mm. Com auxílio de uma pinça de ponta fina retirou-se o cálice que ficava na parte ventral do botão, separando-se, a seguir, a asa e o estandarte, para que a quilha ficasse exposta. Com a ponta da pinça puxou-se a quilha para a frente, de modo a expor as anteras e o estigma. Foram retiradas todas as anteras com a pinça, e passou-se um pincel fino (pelo de camelo) para retirar qualquer grão de pólen que porventura se encontrasse sob o estigma. A seguir, procedeu-se à recomposição do botão floral ou à imediata polinização, dependendo da técnica avaliada. Etiquetou-se o botão para identificação do futuro cruzamento e, em seguida, irrigaram-se todos os vasos trabalhados.

Polinização

Imergiu-se o estilete sobre um vidro pequeno com água destilada, e o mesmo foi deslizado delicadamente, sobre o estigma. Esta operação facilita a aderência dos grãos de pólen. Foram escolhidas, de cada planta genitora masculina, as flores que tinham pólen em abundância, as quais foram colocadas em placa-de-petri. Foram recolhidos, os grãos de pólen com o estilete, e colocados, a seguir, bem distribuídos, sobre o estigma. Retirou-se todo botão, flor ou “peg” que estivesse junto da axila onde a flor foi cruzada. Identificou-se a flor polinizada com um número de registro na etiqueta e na planilha de acompanhamento para hibridação. Após cada polinização, imergiu-se o estilete em uma solução de álcool para evitar contaminação e irrigaram-se, na base de cada vaso, as plantas trabalhadas.

Cerca de seis dias após a fertilização, o “peg” começou a se desenvolver. Este foi marcado com fio de cobre e etiquetado para facilitar a identificação da vagem híbrida na colheita.

Foram feitos 70 cruzamentos para cada uma das técnicas avaliadas durante 20 dias. Na colheita, as vagens híbridas foram acondicionadas em sacos de papel, previamente identificadas e tratadas para posterior avaliação dos marcadores e da eficiência de cada técnica estudada.

Os dados obtidos nos três períodos, relativos ao número de cruzamentos viáveis e inviáveis, foram acumulados e analisados através do teste χ^2 (qui-quadrado), a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A floração teve início aos 28 dap nos genótipos do grupo Valência, sendo o pico de florescimento atingido aos 35 dap. Esses genótipos continuaram a produzir flores por um período de 60 dias, embora na última semana a intensidade de floração tenha diminuído consideravelmente. No genótipo do grupo Virginia, de ciclo mais tardio, a floração teve início aos 37 dap, tendo o florescimento se prolongado por cerca de 70 dias após o seu início. As vagens híbridas dos materiais deste grupo foram colhidas aos 120 dap, enquanto que as do grupo Valência foram colhidas aos 95 dap. Os resultados obtidos a partir das duas técnicas utilizadas encontram-se na Tabela 1. O termo “viáveis” indica os cruzamentos que desenvolveram os “pegs” e produziram vagens. Os

TABELA 1. Número de cruzamentos viáveis e não viáveis nas técnicas de hibridação convencional e modificado. Campina Grande, PB, 1992.

Técnicas	Cruzamentos		Total
	Viáveis	Não viáveis	
Convencional	33	31	64
Modificado	36	33	69
Total	69	64	133

$X^2 = 0,0047$ ns.

índices de pega para as técnicas A e B não diferiram estatisticamente entre si, pelo teste qui-quadrado a 5% de probabilidade.

Embora a eficiência dos métodos se tenha situado em torno de 50%, a utilização da técnica modificada oferece algumas vantagens com relação à convencional. Uma delas refere-se à redução de traumatismo nos botões florais, em decorrência de sua menor manipulação nos atos da emasculação e da polinização. Geralmente, quando o botão floral é traumatizado na emasculação, a flor torna-se pouco vigorosa no dia seguinte e dificilmente desenvolve o "peg". Outra vantagem refere-se à praticidade e à redução do tempo gasto pelo operador para efetuar a hibridação. Quando realizada no mesmo dia, a operação, que leva, em média, quatro minutos, pode ser realizada em maior número, levando-se em consideração o melhor aproveitamento dos grãos de pólen quanto à sua viabilidade e às condições favoráveis de temperatura dentro da casa de vegetação a partir das 17,00 h. Hildebrand (1974) defende a conveniência, para o operador, da hibridação no amendoim realizada no mesmo dia, enfatizando que a emasculação e polinização podem ser efetuadas também no período da manhã. Neste caso, o horário da operação deve ser o mais cedo possível, para que se evite trabalhar em botões cujos grãos de pólen já tenham amadurecido, viabilizando, desta forma, a autopolinização. Lim & Gumpil (1984) reportaram que a deiscência das anteras no amendoim inicia-se a partir das 5,45 h. Segundo estes autores, a hora da emasculação é um importante fator no sucesso da hibridação. Norden & Rodriguez (1971) e Kale & Mouli

(1984) recomendam que na hibridação artificial do amendoim se proceda à emasculação a partir das 17,00 h, no verão. Em dias nublados ou chuvosos, entretanto, poucos botões florais desenvolveram-se nas axilas foliares, e o seu crescimento é geralmente retardado. Nesta estação, a emasculação pode ser feita a partir das 21,00 h às 22,00 h. Kale & Mouli (1984) relatam, ainda, que o período ideal para hibridação no amendoim é nas estações chuvosas, com o máximo de umidade.

CONCLUSÃO

Apesar de as técnicas A e B não diferirem estatisticamente entre si, a utilização da técnica modificada apresenta-se como mais prática e viável do que a convencional, uma vez que reduz o tempo de operação gasto com a hibridação e diminui a ação traumática nas flores, e também porque reduz a manipulação das estruturas florais.

REFERÊNCIAS

- HILDEBRAND, G.L. A note on artificial hybridization of the groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Rhodesian Journal of Agricultural Research*, v.12, p.195-196, 1974.
- JADHAV, G.D.; SHINDE, N.N. Genetic studies in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Indian Journal Agricultural Research*, v.13, n.2, p.93-96, 1979.
- KALE, D.M.; MOULI, C. Hybridization technique in groundnut. *Indian Journal of Genetic*, v.44, n.3, p.379-384, 1984.
- KNAUFT, D.A.; NORDEN, A.J.; GORBERT, D.W. Peanut. In: FEHR, W.R.; FEHER, E.L.; JESSEM, H.J. (Eds.) *Principles of cultivar development*, New York: Macmillan, 1987. v.2, p.346-384.
- LIM, E.S.; GUMPIL, J.S. The flowering, pollination and hybridization of groundnuts *Arachis* sp. *Per-tanika*, v.7, n.2, p.61-66, 1984.
- NIGAM, J.N.; RAO, M.J.V.; GIBBONS, R.W. *Artificial hybridization in groundnut*. India: ICRISAT, 1990. 24p. (ICRISAT. Information Bulletin, 29).

NORDEN, A.J.; RODRIGUEZ, V.A. Artificial hybridization of peanuts. *Oléagineux*, v.3, p.159-162, 1971.

Grande: EMBRAPA-CNPA, 1991. 15p. Seminário.

SANTOS, R.C. dos. **Considerações gerais sobre a genética e melhoramento do amendoim.** Campina

UMEN, D.P. **Biology of peanut flowering.** New Delhi: American Publish, 1973. 77p.