

NOTAS CIENTÍFICAS

Produção de híbridos de amendoim forrageiro por meio de hibridação artificial⁽¹⁾

Marilda Augusta Peres Oliveira⁽²⁾ e José Francisco Montenegro Valls⁽³⁾

Resumo – O objetivo deste trabalho foi a obtenção de híbridos de amendoim forrageiro por meio da hibridação artificial. O experimento foi realizado na Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia, durante a época de florescimento dos acessos de *Arachis pintoi* Krap. & W. C. Gregory e de *A. repens* Handro. Cerca de 700 polinizações produziram 27 segmentos de frutos, com taxas de fecundação que variaram entre 1,1 e 12,9%, considerando-se todas as combinações híbridas. Os híbridos intra-específicos de *A. pintoi* produziram sementes F₂, e os interespecíficos não produziram semente. A técnica de hibridação utilizada nas espécies forrageiras necessitou de ajustes, devido a diferenças observadas em relação ao amendoim cultivado, entre elas o hábito de crescimento.

Termos para indexação: *Arachis pintoi*, amendoim silvestre, método de melhoramento, melhoramento de plantas, leguminosa.

Production of forage peanut hybrids through artificial hybridization

Abstract – The purpose of this work was to obtain forage peanut hybrids through artificial hybridization. The experiment was conducted in a screenhouse at Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia during the flowering period of *Arachis pintoi* Krap. & W. C. Gregory and *A. repens* Handro accessions. About 700 pollinations produced 27 fruit segments and the fertilization rates ranged from 1.1 to 12.9% for all cross combinations. The intraspecific hybrids produced F₂ seeds, which did not occur to the interspecific hybrids. To effect the hybridization technique, adjustments were necessary to forage *Arachis* species, in relation to cultivated peanut, since differences in the growth habit were verified.

Index terms: *Arachis pintoi*, wild peanut, breeding methods, plant breeding, legume.

A hibridação artificial, técnica largamente utilizada para expor a variabilidade genética (Santos et al., 1994), tem sido apontada como causa dos avanços

⁽¹⁾ Aceito para publicação em 10 de setembro de 2001.

Extraído da dissertação de doutorado apresentada pelo primeiro autor à Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP. Financiada pela Capes.

⁽²⁾ Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), Caixa Postal 02372, CEP 70770-900 Brasília, DF. E-mail: marilda_oliveira@hotmail.com

⁽³⁾ Embrapa-Cenargen. Bolsista do CNPq. E-mail: valls@cenargen.embrapa.br

no melhoramento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.). A biologia floral encontrada na maioria das espécies silvestres de *Arachis* é considerada favorável à autofecundação, embora uma taxa de 10% de polinização cruzada tenha sido relatada em alguns acessos de *A. glabrata* Bentham, os quais têm apresentado altos níveis de heterozigose (Simpson et al., 1994).

Krapovickas & Gregory (1994) observaram variação na morfologia das flores entre as espécies de *Arachis* e uma característica importante como a prolificidade em espécies anuais e perenes foi relacionada com tipos morfológicos distintos de estigma. Além da morfologia do estigma, a germinabilidade do pólen tem sido examinada com intuito de verificar a existência de barreiras reprodutivas nos cruzamentos. A porcentagem de fertilidade nos híbridos permite avaliar barreiras genéticas, que podem ter grande importância na especiação de espécies simpátricas (Krapovickas & Gregory, 1994). O comportamento reprodutivo das espécies do gênero *Arachis* tem sido investigado por meio de cruzamentos em várias seções do gênero (Conagin & Tella, 1972; Gregory & Gregory, 1979).

O objetivo deste trabalho foi produzir híbridos intra-específicos e interespecíficos com potencial forrageiro, utilizando a técnica de hibridação artificial.

O ensaio foi realizado em casa de vegetação telada da Embrapa-Centro Nacional de Pesquisa de Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), utilizando-se como material vegetal sete acessos pertencentes à coleção do Banco de Germoplasma de *Arachis* (Tabela 1). O material vegetal constituiu-se de plantas de *A. pintoii* e *A. repens*, formadas a partir de estolhos dos acessos originais coletados e mantidos no Banco Ativo de Germoplasma (BAG), desenvolvidos em vasos. Após aproximadamente 20 dias, com surgimento dos primeiros botões florais, foram iniciados os cruzamentos. A técnica de hibridação artificial utilizada foi adaptada de Nigam et al. (1990).

O telado, local onde foram realizados os cruzamentos, apresentava boa ventilação, luminosidade e bom isolamento para evitar a entrada de insetos e abelhas. Os vasos foram adaptados usando suportes de madeira forrados com sacos de plástico com diâmetro de 60 cm e 70 cm de altura, com capacidade de aproximadamente 80 L de solo, objetivando a acomodação dos estolhos em contato com a superfície da terra. Podas regulares também foram realizadas para manter os estolhos circundando o suporte, permitindo o contato dos

Tabela 1. Acessos de germoplasma de *Arachis pintoii* e *A. repens* utilizados nos cruzamentos e respectivos códigos, estados de origem e coordenadas dos locais de coleta.

Acessos parentais ⁽¹⁾	Códigos de acesso	Estados brasileiros	Latitude	Longitude
<i>A. pintoii</i>				
GK12787	BRA-013251	BA	15°52' S	39°8' W
V13167	BRA-030490	MG	16°21' S	46°54' W
V13338	BRA-034100	GO	15°26' S	47°21' W
V13468	BRA-031984	GO	13°18' S	46°18' W
V6791-wf	BRA-031097	GO	15°26' S	47°21' W
<i>A. repens</i>				
Nc1579	BRA-029220	MG	15°10' S	44°22' W
Nc1578	BRA-029211	GO	20°6' S	44°52' W

⁽¹⁾GK: W.C. Gregory & A. Krapovickas; Nc: N.M.S. Costa; V: J.F. M. Valls e colaboradores.

estolhos com a superfície da terra, bem como o desenvolvimento do “peg” e sua entrada no solo, por causa de seu geotropismo positivo. A escolha das plantas utilizadas como progenitores masculinos e femininos baseou-se na divergência de descritores morfológicos, sendo a cor do estandarte da flor uma das principais características. As hibridações intra-específicas realizadas foram V13468 x GK12787, V13167 x GK12787, V13338 x GK12787, V13468 x V13167, V13167 x V6791-wf, e as interespecíficas foram GK12787 x Nc1579 e V13167 x Nc1578. A emasculação foi realizada entre as 17h e 19h. As anteras foram retiradas, e as peças florais, como estandarte, asa e quilha, foram recolocadas delicadamente. O botão floral emasculado foi então identificado com um fio de cobre finíssimo e maleável preso ao entrenó onde estava localizada a inflorescência com o botão emasculado. A identificação foi feita em uma pequena etiqueta.

As polinizações foram realizadas entre as 8h e 10h30, descartando-se os botões emasculados que apresentavam danos e mutilações, pois dificilmente seriam fecundados. Escolheu-se o vaso do progenitor feminino onde seriam realizados os primeiros cruzamentos, e então, foram coletadas flores de uma única planta do progenitor masculino. Retirou-se o pólen da flor do progenitor masculino, depositando-o sobre o estigma do progenitor feminino. As inflorescências foram observadas diariamente, até o surgimento dos “pegs” híbridos, que, ao atingirem comprimentos entre 3 e 5 cm, receberam a marcação com o fio de cobre e a etiqueta que antes marcava a inflorescência.

A colheita das sementes híbridas foi realizada removendo-se a planta toda do vaso, peneirando-se a terra e retornando a planta ao vaso com terra nova. As sementes supostamente híbridas, consideradas dormentes, foram submetidas a tratamentos para a quebra de dormência em câmaras de etileno (Toole et al., 1964) com variação de temperatura. As plântulas, ao emitirem os primórdios foliares, foram colocadas em saco de plástico de 10 cm de largura e 20 cm de altura, e com estádio de quatro folíolos foram transplantadas para vasos maiores e levadas para o telado.

Ajustes da técnica de hibridação artificial descrita por Nigam et al. (1990) foram necessários, pois o hábito de crescimento do *A. pintoi* e *A. repens* é estolonífero, diferente do amendoim cultivado, onde predomina o hábito ereto. Nas flores onde se realizou o cruzamento entre *A. pintoi* e *A. repens*, o surgimento do “peg” ocorreu entre 13 e 17 dias após as polinizações. As sementes dessas espécies completaram seu período de maturação fisiológica entre 4 e 5 meses após os cruzamentos. Do total de 700 polinizações, 27 sementes (segmentos unisseminados dos frutos) foram obtidas, o que representa 3,9% de fertilização (Tabela 2), mas houve grande variação, entre 1,1 e 12,9% de fertilização, entre as diferentes combinações híbridas. Os híbridos F₁ intra-específicos de *A. pintoi* mostraram-se bastante vigorosos, e por autofecundação produziram sementes F₂. Os híbridos interespecíficos F₁ não produziram frutos, e foram considerados estéreis; no entanto, isso não constituiu limitação para o seu uso, pois essas espécies são multiplicadas vegetativamente.

A dormência, o aborto de embriões e a má formação de frutos podem ter contribuído para a baixa fertilização, com perda de grande quantidade de sementes híbridas. A dificuldade na realização dos cruzamentos existe por causa da pouca informação sobre seu comportamento reprodutivo, e o período

Tabela 2. Combinações híbridas entre acessos de *Arachis pintoi* e *A. repens*, número de cruzamentos realizados, número de sementes híbridas e porcentagem de fecundação.

Progenitor feminino	Progenitor masculino	Nº de cruzamentos	Nº de sementes híbridas	Porcentagem de fecundação ⁽¹⁾
V13468	GK12787	82	6	7,3
V13167	GK12787	107	5	4,7
V13338	GK12787	79	3	3,8
V13468	V13167	81	2	2,5
V13167	V6791-wf	109	2	1,8
GK12787	Nc1579	54	7	12,9
V13167	Nc1578	188	2	1,1
Total		700	27	3,9

⁽¹⁾Porcentagem de fecundação = 100xNº de sementes híbridas/Nº de cruzamentos.

de antese e deiscência não foram estabelecidos para espécies da secção *Caulorrhizae*. Aspectos da biologia floral, como a grande quantidade e o longo comprimento de pêlos nos estigmas, verificados em alguns acessos, também podem ter dificultado ou mesmo impedido a germinação de grãos de pólen.

Agradecimentos

Ao Instituto de Biociências/Unesp/Botucatu, pelo apoio técnico; à Capes pelo apoio financeiro.

Referências

- CONAGIN, C. H. T. M.; TELLA, R. de. Melhoramento do amendoim comum (*Arachis hypogaea* L.), por meio de cruzamentos e de tratamentos pela colchicina. **Bragantia**, Campinas, v. 31, p. 109-113, 1972.
- GREGORY, M. P.; GREGORY, W. C. Exotic germplasm of *Arachis* L. interespecific hybrids. **Journal of Heredity**, Raleigh, v. 70, p. 185-193, 1979.
- KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, W. C. Taxonomía del género *Arachis* (Leguminosae). **Bonplandia**, Corrientes, v. 8, p. 1-186, 1994.
- NIGAM, S. N.; RAO, M. J. V.; GIBBONS, R. W. **Artificial hybridization in groundnut**. Patancheru: International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, 1990. 24 p. (Information Bulletin, 29).
- SANTOS, R. C. dos; FARIAS, F. J. C.; MOREIRA, J. de A. N.; MELO FILHO, P. de A. Teste de hibridação artificial no amendoim. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 29, n. 6, p. 923-927, jun. 1994.
- SIMPSON, C. E.; VALLS, J. F. M.; MILES, J. W. Reproductive biology and the potential for genetic recombination in *Arachis*. In: KERRIDGE, P. C.; HARDY, B. (Ed.). **Biology and agronomy of forage *Arachis***. Cali: Centro Internacional de Agricultura Tropical, 1994. p. 43-52. (Publication, 240).
- TOOLE, V. K.; BAILEY, W. K.; TOOLE, E. H. Factors influencing dormancy of peanut seeds. **Plant Physiology**, Washington, v. 39, p. 822-832, 1964.