

Comunicado 165

Técnico

ISSN 9192-0099
Setembro, 2007
Brasília, DF

Obtenção de três eventos - elite através da hibridação entre *A. hypogaea* e anfidiplóides sintéticos e sua inserção no programa de melhoramento da Embrapa

Alessandra Pereira Fávero¹

Taís Falleiro Suassuna²

O amendoim é a quarta oleaginosa mais plantada no mundo, utilizada na produção de óleo, confeitos, doces ou para consumo *in natura*. A produção mundial está em aproximadamente em 36 milhões de toneladas ao ano (FAOSTAT, 2005). O Brasil possui cerca de 113 mil ha plantados com amendoim, com produção na safra 2005/2006 de 268 mil toneladas, sendo 80 mil ha plantados no Estado de São Paulo (70,8% da área total brasileira plantada com amendoim), com uma produção de 208 mil toneladas (77,6% da produção brasileira de amendoim). A produtividade média brasileira é de 2,4t/ha (Companhia Nacional de Abastecimento, 2007).

No setor produtivo e de processamento brasileiro, são observadas alterações principalmente devido a adoção e investimentos em novas tecnologias, como a utilização de cultivares do tipo rasteiro, mecanização total da lavoura e aquisição de secadores artificiais (Godoy, 2001).

Um dos principais problemas da cultura do amendoim em todo o mundo é o ataque de doenças fúngicas de parte aérea, como a mancha barrenta (*Phoma arachidicola*), mancha castanha (*Cercospora arachidicola*), mancha preta (*Cercosporidium personatum*), ferrugem (*Puccinia arachidicola*) e verrugose (*Sphaceloma arachidis*). As perdas em produção decorrentes da incidência destas doenças podem chegar a mais de 50% (Godoy et al., 1999b).

¹ Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

² Embrapa Algodão

O gênero *Arachis* é estudado com intensidade crescente devido ao grande potencial demonstrado por algumas de espécies silvestres no melhoramento do amendoim (*Arachis hypogaea* L.). Várias destas espécies possuem resistência a pragas e doenças superiores aos encontrados em *A. hypogaea* (Stalker & Moss, 1987).

Estudos de compatibilidade em cruzamentos são fundamentais para confirmar a possibilidade de incorporação dos acessos a programas de melhoramento. Neste estudo, um conjunto de acessos foi inter cruzado visando a introgressão de genes de resistência a doenças fúngicas no amendoim cultivado, como observado também em Fávero et al. (2006).

O objetivo do presente trabalho foi cruzar espécies pertencentes aos dois genomas, duplicar cromossomos destes híbridos estéreis obtidos e cruzar os anfidiplóides sintéticos com *Arachis hypogaea*, visando a

introgressão de genes de resistência às doenças no amendoim cultivado, além de transferir à Embrapa Algodão os híbridos desenvolvidos para que fossem avaliados em condições controladas e/ou a campo. Os melhores materiais serão selecionados e introduzidos nos programas de melhoramento de amendoim da Embrapa.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Departamento de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"-ESALQ/USP e na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Os acessos envolvidos no trabalho estão listados na Tabela 1 e foram fornecidos pelo Banco Ativo de Germoplasma de *Arachis* da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia.

Tabela 1. Acessos de espécies de *Arachis* utilizadas no presente trabalho, código de acesso, nome da espécie, código BRA.

Acesso	Espécie	BRA
K 30076	<i>A. ipaënsis</i> Krapov. & W. C. Gregory	036234
Mdi 1538	<i>A. hypogaea</i> subsp. <i>fastigiata</i> var. <i>hirsuta</i>	037397
Mdi 1678	<i>A. hypogaea</i> subsp. <i>fastigiata</i> var. <i>aequatoriana</i>	037435
V 14167	<i>A. duranensis</i> Krapov. & W. C. Gregory	036200
V 12548	<i>A. hypogaea</i> subsp. <i>hypogaea</i> var. <i>hypogaea</i>	030708

Cruzamentos

Durante o período de abril de 2000 a junho de 2001, foram feitos cruzamentos entre espécies de genomas distintos. Foi utilizada a espécie *A. duranensis* (genoma "A") como genitor masculino e a espécie *A. ipaënsis* (genoma "não-A") como genitor feminino.

Poliploidização de cromossomos

As estacas com aproximadamente 20 cm de comprimento foram isoladas de plantas em crescimento, colocadas em tubos de ensaio com colchicina a 0,2% fechados com filme plástico PVC e submetidos a condições controladas de luz branca fluorescente e

temperatura controlada entre 28 a 30°C por 8h. Aproximadamente 10 estacas foram feitas por genótipo. Posteriormente as estacas foram lavadas em água corrente por 20 minutos, cortadas em bisel no seu último internódio. Aplicou-se o hormônio enraizador ácido indol-butírico (IBA) e as estacas foram levadas ao telado para o plantio em copos plásticos com substrato que foram acondicionados em bandejas envoltas em um saco plástico transparente para manter a umidade do ambiente onde permaneceram por 20 dias aproximadamente. A contagem dos cromossomos de estacas do anfidiplóide sintético foi feita de acordo com a metodologia citada em Fávero et al. (2004)

Cruzamentos entre *A. hypogaea* e anfidiplóide sintético

Algumas estacas tratadas com colchicina e retiradas de híbridos entre *A. ipaënsis* e *A. duranensis* foram identificadas como possuidoras de células tetraplóides. Os cruzamentos foram feitos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, em condições de telado entre outubro de 2002 a março de 2003 para o anfidiplóide (*A. ipaënsis* e *A. duranensis*) e entre novembro de 2003 a abril de 2004 para o anfidiplóide (*A. aff. magna* e *A. aff. diogo*). Os acessos de *A. hypogaea* foram utilizados como genitores femininos foram: Mdi 1538, Mdi 1560, Mdi 1678 e V 12548.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Cruzamentos realizados e obtenção de híbridos

Após 24 polinizações, obteve-se cinco plantas híbridas de *A. ipaënsis* x *A. duranensis*. Estas plantas possuíam uma viabilidade de pólen de 0,98%.

Tratamento com colchicina e obtenção de flores tetraplóides

As combinações híbridas K 30076 x V 14167 (*A. ipaënsis* e *A. duranensis*) tiveram suas células duplicadas depois de oito de exposição à colchicina respectivamente. Como os tecidos tratados são somáticos, foi comum a ocorrência de plantas quiméricas. Estas plantas quiméricas produziram sementes, pois possuíam flores tetraplóides. A partir destas sementes, foi possível obter plantas totalmente tetraplóides, pois surgiram da fusão de gametas com $n=20$. As plantas originárias de sementes possuíam flores com 97,74% de pólen corado.

Cruzamentos efetuados entre *Arachis hypogaea* e os anfidiplóides sintéticos.

Na Tabela 2 é possível observar os tipos e número de cruzamentos efetuados entre acessos de *Arachis hypogaea* e os anfidiplóides sintéticos, número de plantas no telado, número de plantas híbridas e a porcentagem de sucesso. Após a polinização cruzada de 166 flores, foi possível a obtenção de 16 indivíduos híbridos acondicionados em telado.

Os cruzamentos em que se observaram híbridos foram:

A. hypogaea subsp. *hypogaea* var. *hirsuta* Mdi 1538 x [*A. ipaënsis* x *A. duranensis*]^c,
A. hypogaea subsp. *hypogaea* var. *hypogaea*

V 12548 x [*A. ipaënsis* x *A. duranensis*]^c, *A. hypogaea* subsp. *fastigiata* var. *aequatoriana* Mdi 1678 x [*A. ipaënsis* x *A. duranensis*]^c.

Um marcador morfológico importante detectado foi a observação de flores amarelas nos híbridos entre o

anfidiplóide e *A. hypogaea*. Os cultivares de *A. hypogaea* utilizados no trabalho têm flores de cor laranja assim como *A. ipaënsis*. *Arachis duranensis* sempre foi usado como genitor masculino e seus híbridos sempre possuíram flores amarelas.

Tabela 2. Combinações efetuadas para os cruzamentos entre acessos de *Arachis hypogaea* e os anfidiplóides sintéticos, número de polinizações realizadas, número de plantas híbridas e porcentagem de sucesso (realização de polinizações em relação à obtenção de híbridos).

Acessos de <i>A. hypogaea</i>		Anfidiplóides sintéticos	Número de polinizações	Número de plantas híbridas	% de sucesso
Mdi 1538	X	(K 30076 x V 14167) ^c	68	11	16,18
Mdi 1560	X	(K 30076 x V 14167) ^c	21	1	4,76
V 12548	X	(K 30076 x V 14167) ^c	77	4	5,19
Total			166	16	8,71

^c Híbrido com duplicação de cromossomos via uso de colchicina

* Híbridos identificados em amostras de sementes

O sucesso na obtenção dos híbridos oriundos do cruzamento entre *A. hypogaea* e o anfidiplóide *A. ipaënsis* x *A. duranensis* pode ser um indício da maior proximidade entre essas espécies silvestres e *A. hypogaea*. No âmbito de estudos de evolução do amendoim cultivado, a obtenção de híbridos entre *A. hypogaea*, *A. ipaënsis* e *A. duranensis* foi de fundamental importância na validação de diversos trabalhos em caracterização molecular, morfológica e citogenética publicados até o momento (Kockert et al., 1991 e 1996; Krapovickas & Gregory, 1994; Fernández & Krapovickas, 1994, Fávero et al., 2006) em que *A. ipaënsis* e *A. duranensis* são considerados os principais candidatos a ancestrais do amendoim cultivado.

Singh & Smartt (1998) afirmaram que enquanto não fosse obtido um híbrido

fértil entre *A. ipaënsis* e *A. duranensis* e o amendoim cultivado não é possível confirmar a ancestralidade de *A. hypogaea*. Mediante os resultados deste trabalho, foi possível obter híbridos a partir de cruzamentos entre três variedades diferentes de *A. hypogaea* com o anfidiplóide sintético e fértil *A. ipaënsis* x *A. duranensis*.

Transferências dos híbridos entre *A. hypogaea* e os anfidiplóides sintéticos para o Centro de Produto

No ano de 2007, foram transferidos os seguintes híbridos (Tabela 3) entre *A. hypogaea* e os anfidiplóides sintéticos para o Centro de Produto que trabalha com melhoramento de amendoim, a Embrapa Algodão, em Campina Grande, Paraíba, sob responsabilidade da Dra. Taís Suassuna. A

finalidade é avaliar estes genótipos em condições controladas e/ou a campo quanto às resistências às doenças fúngicas de parte aérea, causadas por isolados da região

nordeste. Os mais resistentes serão selecionados e inseridos no programa de melhoramento de amendoim da Embrapa.

Tabela 3. Tipos de cruzamentos, geração e número de sementes ou estacas enviadas para a Embrapa Algodão.

Cruzamento	Geração	No. de sementes ou estacas
<i>A. hypogaea</i> Mdi 1538 x [K 30076 x V 14167] ^c	F1	20 estacas
<i>A. hypogaea</i> Mdi 1678 x [K 30076 x V 14167] ^c	F1	20 estacas
<i>A. hypogaea</i> V 12548 x [K 30076 x V 14167] ^c	F1	20 estacas

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que é possível obter híbridos entre espécies silvestres de genoma "A" e "B" estéreis, assim como duplicar cromossomos via utilização de colchicina,

gerar híbridos entre *A. hypogaea* e anfidiplóides sintéticos férteis diferentes dos utilizados para gerar a cultivar COAN, gerando novas combinações híbridas e ampliando a variabilidade genética a ser utilizada em programas de melhoramento.

of cultivated peanut through crossability studies among *Arachis ipaensis*, *A.*

6 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. Safras. Séries Históricas. Disponível em <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/AmendoimTotalSerieHist.xls> Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, acessado em 19/12/2007.

FAOSTAT, <http://faostat.fao.org/>, acessado em junho de 2005.

FÁVERO, A.P. ; CUCO, S.M.; AGUIAR-PERECIN, M.R.L.; VALLS, J.F.M.; VELLO, N.A.. Rooting in leaf petioles of *Arachis* for cytological analysis. *Cytologia*, v. 69, n. 2, p. 215-219, 2004.

FÁVERO, A. P. ; SIMPSON, C. E.; VALLS, J. F. M.; VELLO, N. A. Study of the evolution

duransensis, and *A. hypogaea*. *Crop Science*, v. 46, p. 1546-1552, 2006.

FERNÁNDEZ, A.; KRAPOVICKAS, A. Cromosomas y evolución en *Arachis* (Leguminosae). *Bonplandia*, v. 8, n. 1-4, p. 187-220, 1994.

GODOY, I.J.; MORAES, S.A.; SIQUEIRA, W.J.; PEREIRA, J.C.V.A.; MARTINS, A.L.M.; PAULO, E.M.. Produtividade, estabilidade e adaptabilidade de cultivares de amendoim em três níveis de controle de doenças foliares. *Pesq. Agrop. Brasil*. 34 (7): 1183-1191. 1999.

GODOY, I.J. Problemas e perspectivas do melhoramento genético do amendoim no Brasil. In: *Anais Londrina/IAPAR*, 2001... III

SIRGEALC - Simpósio de Recursos Genéticos para a América Latina e Caribe. IAPAR: Londrina. p. 43-46.

KOCKERT, G.; HALWARD, T.; BRANCH, W. D.; SIMPSON, C. E. RFLP variability in peanut (*Arachis hypogaea* L.) cultivars and wild species. **Theoretical and Applied Genetic**, v.81, p.565-570, 1991.

KOCKERT, G.; STALKER, H. M.; GIMENES, M.; GALGARO, L.; LOPES, C. R.; MOORE, K. RFLP and cytogenetic evidence on the origin and evolution of allotetraploid domesticated peanut, *Arachis hypogaea* (Leguminosae). **American Journal of Botany**, v. 83, p. 1282-1291, 1996.

KRAPOVICKAS, A.; GREGORY, W. C. Taxonomia del género *Arachis* (Leguminosae). **Bonplandia**, v.8, n.1-4, p.1-186, 1994.

SINGH, A. K.; SMARTT, J. The genome donors of the groundnut/peanut (*Arachis hypogaea* L.) revisited. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 45, p.113-118, 1998.

STALKER, H. T.; MOSS, J. P. Speciation, cytogenetics and utilization of *Arachis* species. **Advances in Agronomy**, v.41, p.1-40, 1987

Comunicado Técnico, 165

Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Exemplares desta edição podem ser adquiridos na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia Serviço de Atendimento ao Cidadão Parque Estação Biológica, Av. W/5 Norte (Final) – Brasília, DF CEP 70770-900 – Caixa Postal 02372 PABX: (61) 3448-4673 Fax: (61) 3340-3624 <http://www.cenargen.embrapa.br> e-mail:sac@cenargen.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2007):

Comitê de Publicações

Presidente: Sergio Mauro Folle
Secretário-Executivo: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*

Membros: Arthur da Silva Mariante
Maria da Graça S. P. Negrão
Maria de Fátima Batista
Maurício Machain Franco
Regina Maria Dechechi Carneiro
Sueli Correa Marques de Mello
Vera Tavares de Campos Carneiro

Expediente

Supervisor editorial: *Maria da Graça S. P. Negrão*
Normalização Bibliográfica: *Maria Iara Pereira Machado*
Editoração eletrônica: *Maria da Graça Simões Pires Negrão*