

# PÓLEN 2N E MECANISMOS MEIÓTICOS DE FORMAÇÃO EM *Solanum commersonii* ssp<sup>1</sup>

## 2n Pollen and meiotic mechanisms of Formation in *Solanum commersonii* ssp

Livia Gracielle Oliveira Tomé<sup>2</sup>, Alexandre Alonso Alves<sup>3</sup>, Caio César Salgado<sup>4</sup>,  
Lisete Chamma Davide<sup>5</sup>, César Augusto Brasil Pereira Pinto<sup>6</sup>

### RESUMO

*Solanum commersonii* subsp. *commersonii* Dun. e *Solanum commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. ( $2n=2x=24$  - 1EBN) não podem ser diretamente cruzadas com a batata cultivada de *S. tuberosum* subsp. *tuberosum* L. ( $2n=4x=48$  - 4 EBN) em razão da barreira da ploidia e do número de equilíbrio do endosperma (EBN). No entanto, a produção de pólen não reduzido por *S. commersonii* ssp. ( $2x=2n=24$  - 1EBN), permite o cruzamento desta com dihaplóides de batata e com as espécies diplóides *S. phureja* Juz.&Bukasov. e *S. chacoense* Bitt., que possuem 2 EBN. Conduziu-se este trabalho, com o objetivo de determinar o mecanismo meiótico e a frequência dos grãos de pólen não reduzidos em cinco clones de *Solanum commersonii* ssp. Foram avaliados três clones de *S. commersonii* subsp. *commersonii* (SCC) e dois de *S. commersonii* subsp. *malmeanum* (SCM). Nas avaliações, duzentos grãos de pólen viáveis foram corados (carmin acético 2%) e mensurados, sendo considerados não reduzidos aqueles com o diâmetro igual ou superior a 25  $\mu$ m. O clone *Solanum commersonii* subsp. *commersonii* Dun. (SCC 100) produz 26.1% de pólen não reduzido, por fusos fundidos e fusos paralelos, o qual pode ser utilizado em programas de melhoramento.

**Termos para indexação:** Batata, pólen não reduzido, melhoramento genético vegetal.

### ABSTRACT

*Solanum commersonii* subsp. *commersonii* Dun. and *Solanum commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. ( $2n=2x=24$  - 1EBN) cannot be directly crossed with the cultivated *Solanum tuberosum* subsp. *tuberosum* L. ( $2n=4x=48$  - 4EBN) species due to ploidy barriers and endosperm balance number (EBN). However, non-reduced pollen production by the wild species *S. commersonii* ssp. ( $2x=2n=24$  - 1EBN), allows the crossing of these species with dihaploids of potato and with the diploids species, *S. phureja* Juz.&Bukasov. and *S. chacoense* Bitt., all with 2EBN. The aim of this work was to determine the meiotic mechanism and frequency of non-reduced pollen production of five clones of *S. commersonii* ssp. Three different clones of *S. commersonii* subsp. *commersonii* Dun. (SCC) and two of *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. (SCM) were evaluated. In the evaluation, two hundred viable pollen grains were stained (2% acetic carmin) and measured. The pollen grains measuring 25  $\mu$ m in diameter or more were considered non-reduced. The clone *Solanum commersonii* subsp. *commersonii* Dun. (SCC 100) produces 26.1% of non-reduced pollen grains caused by parallel spindles and fusion spindles, which may be used in breeding program.

**Index terms:** Potato, non-reduced pollen, plant breeding.

(Recebido em 4 de novembro de 2005 e aprovado em 10 de abril de 2007)

### INTRODUÇÃO

Uma das alternativas para aumentar a base genética da batata cultivada *S. tuberosum* subsp. *tuberosum* L. é a realização de cruzamentos com espécies silvestres diplóides ( $2n=2x=24$ ), que fornecem alelos de interesse e aumentam o nível de diversidade e interações alélicas a partir do germoplasma exótico para a batata cultivada

(PELOQUIN & ORTIZ, 1992). O conjunto das espécies diplóides representa mais de 70% das espécies das quase 200 espécies de *Solanum* (HAWKES, 1990). Entre elas, destacam-se *Solanum commersonii* subsp. *commersonii* Dun. e *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt., que possuem alelos de resistência a baixas temperaturas, resistência à murcha bacteriana causada por *Ralstonia solanacearum* e à podridão mole e canela preta causadas

<sup>1</sup>Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor apresentada à Universidade Federal de Lavras.

<sup>2</sup>Bióloga – Departamento de Biologia Geral/DBG – Universidade Federal de Viçosa/UFV – Avenida P.H. Rolfs, s/n – 36570-000 – Viçosa, MG – liviatome@yahoo.com.br

<sup>3</sup>Engenheiro Agrônomo, Mestre em Genética e Melhoramento – Departamento de Fitopatologia/DFP – Universidade Federal de Viçosa/UFV – Avenida P.H. Rolfs, s/n – 36570-000 – Viçosa, MG – aalonsoalves@yahoo.com.br

<sup>4</sup>Biólogo – Departamento de Biologia Geral/DBG – Universidade Federal de Viçosa/UFV – Avenida P.H. Rolfs, s/n – 36570-000 – Viçosa, MG – caiocesio@yahoo.com.br

<sup>5</sup>Doutora em Genética e Melhoramento de Plantas – Departamento de Biologia/DBI – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras/MG – lcdavide@ufla.br

<sup>6</sup>PhD em Genética e Melhoramento de Plantas – Departamento de Biologia/DBI – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37200-000 – Lavras/MG – cesarbrasil@ufla.br

por *Erwinia carotovora*, além de apresentar um alto teor de matéria seca (CARPUTO, 2003; ROCHA et al., 2000).

No entanto, *S. commersonii* subsp. *commersonii* Dun. e *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. ( $2n=2x=24-1$  EBN) não podem ser diretamente cruzadas com a subespécie cultivada da *S. tuberosum* subsp. *tuberosum* L. ( $2n=4x=48-4$  EBN) em razão da barreira da ploidia e do número de equilíbrio do endosperma (EBN). A produção de pólen não reduzido pela espécie silvestre permite o cruzamento com dihaplóides de *S. tuberosum* L. e com as espécies diplóides *S. phureja* Juz.&Bukasov. e *S. chacoense* Bitt., que possuem 2 EBN. Esses cruzamentos têm sido utilizados para a introgressão de genes de interesse de espécies silvestres para a subespécie cultivada ( $2n=4x=48-4$  EBN) (CARPUTO et al., 1997).

Os grãos de pólen não reduzidos ou mutantes meióticos são formados a partir de mutações na meiose. Entre os mecanismos que formam os mutantes meióticos estão os fusos paralelos e fundidos que promovem a restituição da primeira divisão meiótica, transmitindo cerca de 80% da heterozigosidade parental à progênie (HANNEMAN JUNIOR, 1999). Outros dois mecanismos, a citocineses prematuras I e II ocasionam a formação de micrósporos não reduzidos pela omissão da segunda divisão meiótica, após a telófase I ou após a prófase II, respectivamente. Nesses dois últimos mecanismos, os micrósporos formados são geneticamente idênticos à restituição da segunda divisão meiótica, transmitindo cerca de 40% da heterozigosidade parental à progênie (MOK & PELOQUIN, 1975).

A identificação de clones que produzem grãos de pólen não reduzidos, em determinada frequência, é de grande interesse para os programas de melhoramento genético por possibilitar a introgressão de alelos de espécies silvestres para a batata cultivada (OLIVEIRA et al., 1995).

Neste trabalho, objetivou-se determinar o mecanismo meiótico e a frequência dos grãos de pólen não reduzidos em cinco clones de *Solanum commersonii* subsp. *commersonii* Dun. e *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt.

#### MATERIALE MÉTODOS

O material silvestre utilizado foi representado por três clones de *S. commersonii* subsp. *commersonii* Dun. SCC 07, SCC 176, SCC 100 e dois clones de *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. SCM 60 SCM 57. Os tubérculos são provenientes do Banco Ativo de Germoplasma da Batata e Parentes Silvestres do Centro de Pesquisa Agropecuária de Clima Temperado (CPACT), da Empresa

Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), Pelotas, RS.

Os tubérculos, com aproximadamente 40 gramas, foram coletados e plantados em vasos plásticos (nº 6) contendo substrato Plantmax®. As plantas foram mantidas em casa-de-vegetação, sob 16 horas de fotoperíodo e irrigadas diariamente na capacidade de campo. Para as medições dos grãos de pólen foram coletadas cinco flores por clone, no período da manhã, às 9 horas, cujas anteras foram fixadas em solução de etanol e ácido acético, na proporção de 3:1 (v/v), sendo realizadas 3 trocas de 10 min cada. Após este processo, as anteras foram extraídas dos botões florais e esmagadas para liberação dos grãos de pólen, os quais foram corados com solução de carmim acético 2%. Foram avaliadas cinco lâminas por táxon e, de cada lâmina, foram medidos os diâmetros de duzentos grãos de pólen viáveis, sendo considerados não reduzidos aqueles que apresentavam diâmetro igual ou superior a 25µm de acordo com Quin et al. (1974) e Ramanna (1974). As medições foram realizadas com uma ocular micrometrada, em objetiva de 20 X.

As avaliações dos mecanismos meióticos foram realizadas seguindo a técnica proposta por Oliveira et al. (1995) nos clones de *S. commersonii* subsp. *commersonii* Dun. e *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. Os botões florais de cada táxon foram fixados em solução de etanol e ácido propiônico 3:1 (v/v) e corados com solução de carmim propiônico 2%. Foram avaliadas seis lâminas de cada material, e 100 meiócitos por lâmina.

O delineamento foi o inteiramente casualizado (DIC) com cinco repetições para frequência e diâmetro de grãos de pólen e seis para mecanismos meióticos. Os dados foram analisados pelo programa estatístico SISVAR, sendo das médias comparadas pelo teste de Scott & Knott (1974).

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O clone SCC 100 apresentou a maior número de polens não reduzidos com frequência de 16 a 26 % superior aos demais clones. A produção de pólen não reduzido também foi observada nos clones SCC 07 (9.4%) e SCC 176 (0.7%). Os clones SCM 57 e SCM 60 não apresentaram polens com diâmetro superior a 25 µm (Tabela 1).

O clone SCC 176, apresentou frequência muito baixa de pólen não reduzido (0.7%). Entretanto, mecanismos de formação de pólen não reduzido foram observados nas avaliações meióticas (Tabela 1; Figura 1) em uma frequência razoável. Portanto, o emprego deste clone ainda depende de hibridizações com a cultivar *S. tuberosum* subsp. *tuberosum* L. para confirmar a sua utilização como produtor de pólen não reduzido (IOVENE et al., 2004).

Tabela 1 – Freqüências relativas à produção de pólen não reduzido dos clones de *Solanum commersonii* subsp. *commersonii* Dun. (SCC) e *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. (SCM) e dos mecanismos meióticos envolvidos.

Clone	Freqüência de pólen não reduzido	Freqüência de mecanismos
SCC 07	9.4% b	18% fusos paralelos
SCC 100	26.1% a	14% fusos paralelos e fundidos
SCC 176	0.7% b	10% fusos fundidos
SCM 57	0.0% b	27% fusos paralelos
SCM 60	0.0% b	22% fusos paralelos

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si, pelo Teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Os clones SCM 57 e SCM 60, da mesma forma, apesar de não terem apresentado polens não reduzidos, possuem mecanismos meióticos (fusos paralelos) que, possivelmente, podem conduzi-los à formação de pólen não reduzido, apresentando inclusive os maiores percentuais de células com fusos paralelos (27% e 22%, respectivamente) entre os clones avaliados (Tabela 1). Mas, nesses clones, nas medições de diâmetros de grãos de pólen, não foram detectados polens superiores a 25  $\mu$ m (Tabela 1), dimensão sugerida por Quin et al. (1974). Este resultado pode ter sido decorrente do efeito da grande variabilidade genotípica, penetrância incompleta e baixa expressividade dos alelos de formação de pólen 2n, além da variação ambiental, nestes clones (PELOQUIN et al., 1999).

Na tabela 2, nota-se que houve grande amplitude nas dimensões dos grãos de pólen dos clones estudados.

Maior diâmetro médio foi observado no clone SCC 100, sendo seguido pelo clone SCC 07 e os demais clones não diferiram estatisticamente entre si. Mendes (1994) detectou resultados semelhantes em clones de *S. commersonii* subsp. *commersonii* Dun. e *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. 19.3 e 18.91, respectivamente.

Os clones de *S. commersonii* subsp. *commersonii* Dun. apresentaram tendência de terem amplitude de diâmetro superiores aos observados em *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. Os clones SCC variaram de 13.68 a 35.52, enquanto, os clones SCM variam de 11.4 a 23.9 (Tabela 2). Esta tendência pode apontar que a subespécie *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. não apresenta grãos de pólen com diâmetros que satisfaçam o valor de 25  $\mu$ m sugerido por Quinn et al. (1974) e Ramanna (1974), isto implicaria na proposição de um novo limite para discriminação de grãos de pólen não reduzidos para esta subespécie.

O estudo da freqüência de grãos de pólen não reduzidos pode apontar clones silvestres de batata promissores para o cruzamento com a cultivar *S. tuberosum* subsp. *tuberosum* L. No entanto, para a confirmação seria necessário cruzamentos de campo controlados com *Solanum phureja* Juz.&Bukasov. ou *S. chacoense* Bitt., as quais possuem 2EBN. Se fosse obtida progênie híbrida, estaria confirmado que houve a produção de grãos de pólen não reduzidos. Esta observação torna-se possível, uma vez que espécies diplóides que possuem 1EBN, quando produtoras de pólen não reduzidos, passam a se comportar como se possuíssem 2EBN (HANNEMANN JUNIOR, 1999). Esse tipo de teste foi realizado por Masuelli et al. (1992) em cruzamentos usando (i) *S. commersonii* Dun. ( $2n=2x=24$ , 1EBN), como genitor feminino e *S. gourlayi* Haw. ( $2n=2x=24$ , 2EBN), como genitor masculino, e (ii) *S.*

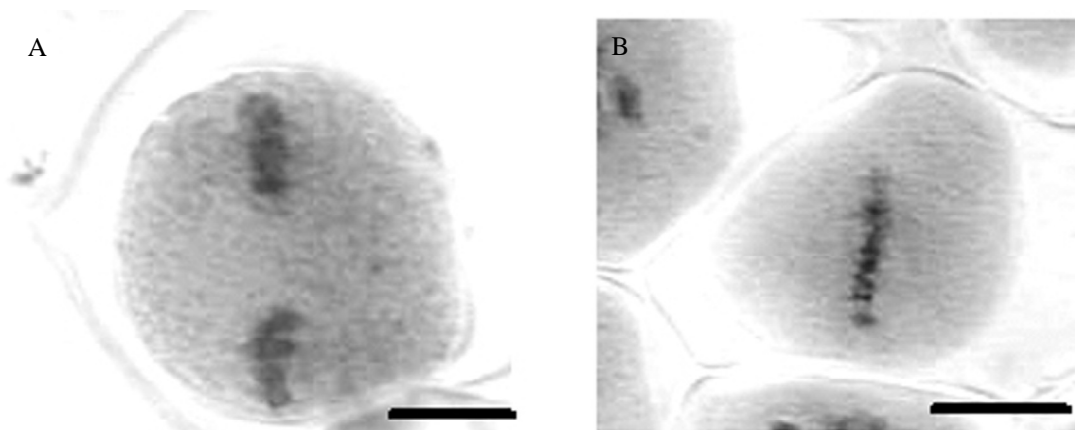


Figura 1 – Meiócitos do clone SCC 100 e SCC 176, A e B, respectivamente. A- fusos paralelos; B- fusos fundidos. Barra = 5 $\mu$ m.

Tabela 2 – Diâmetro médio dos grãos de pólen dos clones de *Solanum commersonii* subsp. *commersonii* Dun. (SCC) e *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. (SCM), valores médios de grãos de pólen reduzidos e não reduzidos.

Clones	Valores extremos de diâmetros		Diâmetro médio de pólen 2n	Diâmetro médio dos polens n
	Máximo	Mínimo		
SCC 07	33.46	13.68	26.92	20.36 b
SCC 100	35.52	15.32	27.34	21.31 a
SCC 176	28.86	14.12	26	19.33 c
SCM 57	23.90	12.12	-	18.59 c
SCM 60	23.70	11.64	-	18.49 c

Médias seguidas da mesma letra na vertical não diferem entre si, pelo Teste Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

*acaule* Bitt. (2n=4x=48, 2EBN), como genitor feminino e *S. commersonii* Dun. (2n=2x=24, 1EBN), como genitor masculino. Nas avaliações das progênies desses cruzamentos controlados seriam consideradas a quantidade de plantas polinizadas, a quantidade de frutos por planta, a frequência de produção de pólen não reduzido nos descendentes, bem como a ocorrência de mecanismos para a sua formação.

Quanto à utilização dos clones avaliados para o melhoramento da batata, baseado na produção de polens não reduzidos, o clone SCC 100 é o mais indicado para a introgressão de genes de interesse. Os demais clones ainda necessitam trabalhos futuros para o seu emprego em programas de melhoramento.

### CONCLUSÃO

Os clones de *Solanum commersonii* subsp. *commersonii* Dun. e *S. commersonii* subsp. *malmeanum* Bitt. apresentam grande variação no diâmetro dos polens. A produção de pólen não reduzido observado, principalmente, no clone SCC 100 é decorrente dos mecanismos de fusos paralelos e fusos fundidos.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CARPUTO, D. Cytological and breeding behavior of pentaploids derived from 3x X 4x crosses in potato. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, v. 106, n. 5, p. 883-888, Mar. 2003.

CARPUTO, D.; BARONE, A.; CARDI, T.; SEBASTIANO, A.; FRUSCIANTE, L.; PELOQUIN, S. J. Endosperm balance number manipulation for direct *in vivo* germplasm introgression to potato from a sexually isolated relative (*Solanum commersonii* Dun.). **Proceedings of National Academy of Science**, New York, v. 94, n. 22, p. 12013-12017, Oct. 1997.

HANNEMAN JUNIOR, R. E. The reproductive biology of the potato and its implication for breeding. **Potato Research**, Wageningen, v. 42, n. 1, p. 283-312, 1999. Supplement.

HAWKES, J. G. **The potato, evolution, biodiversity and genetic resources**. London: Belhaven, 1990.

IOVENE, M.; BARONE, A.; FRUCIANTE, L.; MONTI, L.; CARPUTO, D. Selection for aneuploid potato hybrids combining a low wild genome content and resistance traits from *Solanum commersonii*. **Theoretical Applied Genetic**, New York, v. 109, p. 1139-1146, 2004.

MASUELLI, R. W.; CAMADRO, E. L.; MENDIBURU, A. O. 2n gametes in *Solanum commersonii* and cytological mechanisms of triplandroid formation in triploid hybrids of *Solanum commersonii* X *Solanum gourlayi*. **Genome**, Ottawa, v. 35, n. 5, p. 864-869, Oct. 1992.

MENDES, M. da S. **Viabilidade do grão de pólen de *Solanum ssp.*** 1994. 76 f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1994.

MOK, D. W. S. A.; PELOQUIN, S. J. The inheritance of three mechanisms of diplandroid (2n pollen) formation in diploid potatoes. **Heredity**, Baltimore, v. 35, n. 2, p. 295-302, 1975.

OLIVEIRA, M. N. de; DAVIDE, L. C.; PINTO, C. A. B. P. Mechanisms of 2n potato pollen formation in dihaploid *Solanum tuberosum* L. x *S. chacoense* Bitt. Bitt. Hybrid clones. **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 18, n. 3, p. 445-450, Sept. 1995.

PELOQUIN, S. J.; BOITEAUX, L.; CARPUTO, D. Meiotic mutants in the potato-valuable variants. **Genetics**, Madison, v. 153, n. 4, p. 1493-1499, Dec. 1999.

PELOQUIN, S. J.; ORTIZ, R. Techniques for introgressing unadapted germplasm to breeding populations. In: STALKER, T. P.; MURPHY, J. P. (Eds.). **Plant breeding populations in 1990s**. Wallingford: CAB International, 1992. p. 485-507.

QUINN, A. A.; MOK, D. W. S.; PELOQUIN, S. J. Distribution and significance of diplandroids among the diploid Solanums. **American Potato Journal**, Orono, v. 51, n. 1, p. 16-21, Jan. 1974.

RAMANNA, M. S. The origin of unreduced microspores due to aberrant cytokinesis in the meiocytes of potato

and its genetic significance. **Euphytica**, Wageningen, v. 23, n. 1, p. 20-23, 1974.

ROCHA, B. H.; AUGUSTIN, E.; SILVA, J. B. da; PEREIRA, A. S. da. Associação entre isoenzimas e matéria seca em batata silvestre. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 12, p. 2415-2421, dez. 2000.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Raleigh, v. 30, n. 3, p. 507-512, Sept. 1974.