

## DESENVOLVIMENTO DE HÍBRIDOS TRIPLÓIDES EXPERIMENTAIS DE MELANCIA

FLÁVIO DE FRANÇA SOUZA<sup>1</sup>; MANOEL ABILIO DE QUEIROZ<sup>2</sup> & RITA DE CÁSSIA SOUZA DIAS<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal Rural de Pernambuco, PPGb, Rua Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, 52171-900 Recife-PE. E-mail: fsfranca@yahoo.com.

<sup>2</sup>Embrapa Semi-Árido, Caixa Postal 23. 56300-970, Petrolina-PE. Fone: (81) 3862 1711. Fax: (81) 3862 1744. E-mail: mabilio@cpatsa.embrapa.br

**(Desenvolvimento de híbridos triplóides experimentais de melancia)** – O presente trabalho objetivou o desenvolvimento de híbridos triplóides de melancia. Sementes das linhagens diplóides L-7, L-9 e CPATSA-C foram tratadas com solução de colchicina a 0,2 % por 24 horas. As plantas tetraplóides foram identificadas através da contagem de cloroplastos por par de células-guarda do estômato foliar e pela avaliação morfológica de suas progênes. Foram obtidas 2,7 % de plantas tetraplóides: duas da linhagem CPATSA-C, duas da linhagem L-09 e três da linhagem L-07. Após dois ciclos de autofecundação, foram selecionadas as linhagens tetraplóides 'LT7-48.1', 'LT9-24.1' e 'LTCC-24', que foram cruzadas com linhagens das cultivares diplóides 'Crimson Sweet', 'Pérola', New Hampshire Midget' e 'Charleston Gray'. Foram obtidas sementes triplóides de todos os cruzamentos, resultando na síntese de 12 híbridos experimentais. As técnicas utilizadas na indução de poliploidia, na identificação das plantas tetraplóides e na hibridação das linhagens foram estabelecidas e poderão ser usadas na síntese de híbridos triplóides em um programa de melhoramento de melancia.

**PALAVRAS CHAVE:** Melancia sem sementes, *Citrullus lanatus*, poliploidia, tetraplóides, hibridação, avaliação morfológica

**(Development of experimental triploid hybrids in watermelon)** – This work was designed in order to obtain experimental triploid watermelon hybrids. Seeds of the lines L-7, L-9 and CPATSA-C were treated with 0.2 % colchicine solution for 24 hours. The tetraploid plants were identified through counting the number of chloroplast per pair of guardian cells of the stomata of the leaf and through the morphological evaluation of their progenies. After two cycles of self-fertilization, the progenies 'LT7-48.1', 'LT9-24.1' and 'LTCC-24' were selected and crossed with diploid selfed progenies of the cultivars 'Crimson Sweet', 'Pérola', New Hampshire Midget' and 'Charleston Gray'. They were obtained 2,7 % of tetraploid plants, being two from the CPATSA-C line, two from the L-09 line and three from the L-07 line. Seeds were obtained from all crosses, resulting in the synthesis of 12 experimental triploid hybrids. The techniques used in the tetraploidization and identification of the tetraploid plants, as well as for hybridization diploid and tetraploid lines were established and can be used for synthesizing new hybrids in a watermelon breeding program.

**KEY WORDS:** Seedless watermelon, *Citrullus lanatus*, poliploidy, tetraploid lineages, hybridization, morphological evaluation

## INTRODUÇÃO

A melancia (*Citrullus lanatus*) é uma olerícola de considerável importância econômica em vários países, inclusive no Brasil. Nos últimos anos, tem-se notado um considerável aumento da participação das cultivares sem sementes de melancia nos principais mercados mundiais. Essas cultivares surgem como uma excelente alternativa para os produtores de hortaliça (Maynard, 1989). Acredita-se que esta tendência possa vir a se concretizar também no Brasil, desde que sejam disponibilizadas aos produtores sementes de genótipos

competitivos, com boas características de fruto, por um preço acessível.

Os poucos híbridos triplóides à venda no mercado nacional são importados e suas sementes são comercializadas por preços bastante elevados. Grande parte deles apresenta problemas de adaptação, sobretudo com relação à produção e à qualidade de frutos. Além disso, esses são bastante suscetíveis aos principais estresses bióticos da cultura nas condições ambientais brasileiras.

As primeiras experiências visando à obtenção da melancia sem sementes foram iniciadas no Japão, ainda

na década de 1930. Em 1947 foi produzido o primeiro híbrido sem sementes relatado na literatura científica (Kihara, 1951). À luz dos resultados apresentados pelos cientistas japoneses, vários híbridos triplóides foram desenvolvidos em vários países, como os Estados Unidos (Wall, 1960; Andrus *et al.*, 1971), Filipinas (Torres, 1956), Itália (Bianchi & Marchesi, 1958, *apud* Marro & Ricci, 1967), Checoslováquia (Veneni & Bartalos, 1965, *apud* Kiss, 1967), Hungria (Kiss, 1967), entre outros. No Brasil, a primeira tentativa, que se tem registro, do desenvolvimento de cultivares de melancia sem sementes, foi realizada pela Embrapa Hortaliças, no início da década de 90, em convênio com centros de pesquisa do Japão (Tasaki, 1991).

A melancia sem sementes é produzida em plantas triplóides estéreis, cujas sementes são obtidas através do cruzamento entre plantas tetraplóides (parental feminino) e diplóides (Kihara, 1951). As plantas tetraplóides são obtidas através do tratamento de sementes (Kiss, 1967; Stoner & Johnson, 1965) ou plântulas (Kihara, 1951; Torres, 1956, Marro & Ricci, 1967) diplóides com colchicina. Um método alternativo para obtenção de plantas tetraplóides é a regeneração “*in vitro*”, através de folhas cotiledonares (Compton *et al.*, 1996).

Os métodos que visam à obtenção de plantas tetraplóides apresentam baixa eficiência. Portanto, quando utilizados, torna-se necessário o emprego de técnicas que identifiquem os indivíduos poliploidizados. A identificação do nível de ploidia pode ser feita através da análise citogenética (Guerra, 1983; Assis, 1994), da citometria de fluxo (Zhang & Rhodes, 1994) ou, ainda, com base em determinadas características da planta, tais como aspectos morfológicos (Kihara, 1951; Stoner & Johnson, 1965; Lower & Johnson, 1969; Andrus *et al.* 1971; Karchi *et al.*, 1981), tamanho do grão de pólen (Lower & Johnson, 1969), número de cloroplastos por par de células-guarda, tamanho e densidade dos estômatos foliares (Fassuliotis & Nelson, 1992; Qin & Rotino, 1995; Compton *et al.*, 1996).

A obtenção de sementes triplóides, em melancia, é realizada através da polinização manual sendo que muitas alternativas têm sido testadas com a intenção de tornar esta etapa mais exequível. Estas alternativas incluem, entre outros artifícios, a aplicação de substâncias químicas para provocar macho esterilidade (Mohr *et al.*, 1955), a emasculação dos parentais tetraplóides, o uso de marcadores genéticos (Wall, 1960) e o desenvolvimento de linhagens tetraplóides macho-estéreis (Love *et al.*, 1986).

Diante da necessidade de desenvolver genótipos de melancia mais adaptados às condições brasileiras, um efetivo programa de melhoramento tem sido conduzido na Embrapa Semi-Árido. O programa tem utilizado germoplasma das melhores cultivares comerciais e dos

acessos do Banco Ativo de Germoplasma de Cucurbitáceas para o Nordeste do Brasil, sendo que muitos avanços foram alcançados (Queiróz, 1993; Dias & Queiróz, 1995; Queiróz & Souza, 1998; Queiróz *et al.*, 1999; Souza & Queiróz, 1999; Souza *et al.*, 1999).

Este trabalho tem por objetivo relatar a metodologia empregada, pela Embrapa Semi-Árido, no desenvolvimento de genótipos tetraplóides de melancia e na síntese de híbridos triplóides experimentais.

## METODOLOGIA

Na obtenção das plantas tetraplóides foram utilizadas as linhagens diplóides L-07, L-09 e CPATSA-C. As duas primeiras foram desenvolvidas na Embrapa Semi-Árido, a partir do melhoramento da cultivar ‘Crimson Sweet’ (Dias & Queiróz, 1992). Ambas são resistentes ao oídio (*Sphaerotheca fuliginea*), que é uma das principais doenças fúngicas da melancia na região, e apresentam boas características de planta e fruto. A linhagem CPATSA-C constitui-se de uma progênie de autofecundação de um acesso do banco de germoplasma de melancia da Embrapa Semi-Árido, coletado no município de Petrolina – PE. Esta linhagem apresenta plantas muito vigorosas, tardias, prolíficas, bastante tolerantes a doenças, e frutos de qualidade inferior, sobretudo com relação ao teor de açúcar e cor da polpa.

Para a indução de poliploidia, 100 sementes das linhagens L-07 e L-09 e 60 sementes da linhagem CPATSA-C foram colocadas em placas de Petri contendo solução de colchicina a 0,2 %. As placas foram mantidas no escuro por 24 horas. Após este período a solução de colchicina foi removida e as sementes foram lavadas três vezes em água destilada. As sementes foram levadas à casa de vegetação, onde foram plantadas em bandejas de isopor com 128 células, preenchidas com substrato à base de húmus e vermiculita. Três semanas após o semeio, as plântulas foram transferidas para sacos plásticos contendo solo esterilizado e adubado.

Para identificação das plantas tetraplóides, inicialmente realizou-se a contagem do número de cloroplastos por par de células-guarda da epiderme foliar. Em todas as plantas, foram coletados fragmentos de três folhas totalmente expandidas. A epiderme inferior das amostras foi removida, colocada numa lâmina sobre uma gota de água destilada, coberta com uma lamínula e observada ao microscópio óptico. Dez estômatos eram escolhidos ao acaso e a quantidade de cloroplastos no seu interior era registrada. Como alguns autores têm relatado que plantas diplóides de melancia têm, em média, 11 cloroplastos por estômato e plantas tetraplóides têm cerca de 19 (Compton *et al.*, 1996;

McCuiston & Elmstron, 1993), os indivíduos que apresentaram média de cloroplastos por estômato inferior a 13 foram considerados diplóides e descartados.

As plantas restantes foram transplantadas em um campo da Estação Experimental de Bebedouro, pertencente à Embrapa Semi-Árido, localizada em Petrolina – PE, para serem autofecundadas.

Após a colheita, três sementes, de cada fruto autofecundado, foram germinadas em placa de Petri. As raízes foram coletadas e pré-tratadas com colchicina a 0,1 % por 1 h em temperatura ambiente e, depois, por 5 h a 10 °C (refrigerador). Após retiradas da solução de colchicina, as raízes foram fixadas com Carnoy (3 partes de álcool etílico e 1 parte de ácido acético glacial) por 24 h em temperatura ambiente e depois estocadas a -20 °C (“freezer”). As lâminas foram preparadas pela técnica do esmagamento, com congelamento rápido e coradas pelo GIEMSA a 2 % (Guerra, 1983). A observação das células em metáfase foi realizada com microscópio óptico.

As plantas que não foram precisamente identificadas pelos métodos anteriores (contagem de cloroplastos e análise citogenética), tiveram suas sementes plantadas, para a realização de um teste de progênie. O semeio foi realizado em bandejas e o transplântio no campo ocorreu após 15 dias. As progênies foram observadas quanto a forma, espessura e intensidade de coloração das folhas; desenvolvimento do caule e espessura da casca dos frutos, entre outras características. Realizou-se a contagem do número de cloroplastos por estômato foliar (NCE) e foram registrados o diâmetro médio do pecíolo (DMP), diâmetro médio do caule (DMC), a largura média da folha (LMF), comprimento médio da folha (CMF),

comprimento médio de internó e número de sementes por fruto (NSF). Todas as plantas foram autofecundadas.

As plantas tetraplóides, identificadas no teste de progênie, foram submetidas a um terceiro ciclo de autofecundação para multiplicação das sementes e aumento da estabilidade genética das linhagens. Foram estabelecidas em campo, 25 plantas da linhagem LT7, 80 plantas da linhagem LT9 e 27 plantas da linhagem LTCC. Foram registrados o número de autofecundações realizadas, o número de frutos por planta e o número de sementes por fruto.

Para a obtenção das sementes triplóides, foi realizado outro experimento, no qual efetuaram-se cruzamentos entre três linhagens tetraplóides, sendo uma de LT7, outra

de LT9 e outra de LTCC, denominadas ‘LT7-48.1’ (1), ‘LT9-24.1’ (2) e ‘LTCC-24’ (3), e quatro linhagens de autofecundação das cultivares diplóides ‘Crimson Sweet’ (4), ‘Pérola’ (5), ‘New Hampshire Midget’ (6) e ‘Charleston Gray’ (7). Sementes das sete linhagens foram plantadas em bandejas de isopor como descrito anteriormente. Todas as plântulas obtidas das sementes tetraplóides foram transplantadas. No caso das progênies diplóides, foram plantadas apenas 10 plantas de cada. As flores foram isoladas um dia antes da antese e as polinizações foram realizadas manualmente, segundo a técnica descrita por Dias *et al.* (1999). As plantas diplóides foram usadas apenas como parental masculino. Todas as polinizações foram registradas e o índice de pegamento foi medido através do quociente entre o número de frutos colhidos e número de polinizações realizadas. Após a colheita, as sementes foram extraídas manualmente (Dias & Macedo, 1999), secas à sombra, contadas e embaladas em sacos de papel. Durante a contagem, foram eliminadas as sementes sem embrião.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Indução de poliploidia em sementes de melancia*

Das 260 sementes tratadas com a solução de colchicina, foram obtidas 224 plantas. Destas, apenas 34 plantas de L-07, 19 de L-09 e 25 de CPATSA-C foram identificadas como prováveis tetraplóides, através da contagem de cloroplastos em estômatos foliares. Muitas plantas apresentaram problemas de autoesterilidade, não desenvolvendo frutos de autofecundação, mesmo após inúmeras tentativas. Foram obtidos frutos de polinização controlada em apenas 22 plantas de L-07, 11 plantas de L-09 e três plantas de CPATSA-C (Tabela 1).

*Identificação das plantas tetraplóides* – A análise citogenética mostrou-se bastante trabalhosa e pouco

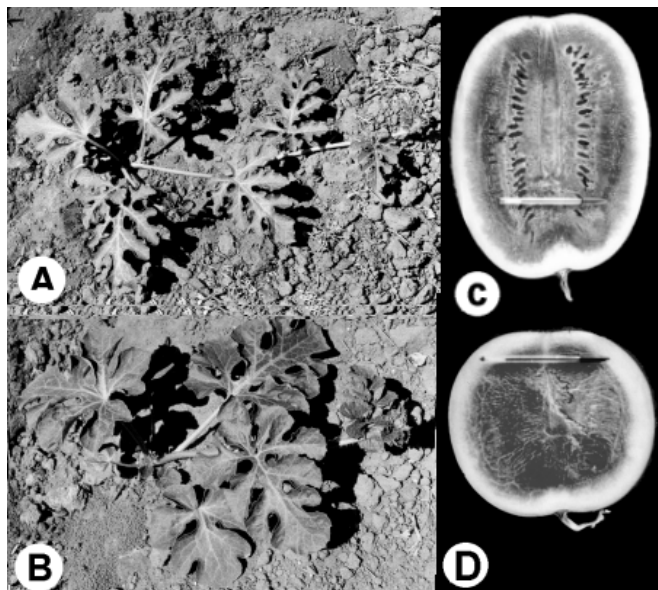


Figura 1. Aspectos gerais da morfologia de plantas e frutos diplóides (A e C) e tetraplóides (B e D) de melancia.

Tabela 1. Avaliação do nível de ploidia de plantas de melancia através da contagem de cloroplastos por estômato foliar, análise citogenética e teste de progênie. Petrolina (PE), Embrapa Semi-Árido, 1998.

Indicadores	Linhagens <sup>A</sup>			Total
	L7	L9	LCC	
Número de sementes tratadas com colchicina	100	100	60	260
Número de sementes que germinaram	100	92	32	224
Número de plantas com mais de 13 cloroplastos/estômato foliar	34	19	25	78
Número de plantas que produziram frutos de autofecundação	22	11	3	36
Número de plantas analisadas pelo método citogenético <sup>B</sup>	11	8	0	19
Número de plantas submetidas ao teste de progênie	11	3	3	17
Número de plantas tetraplóides <sup>C</sup>	3	2	2	7

A: L7 = Linhagem 7, L9 = Linhagem 9 e LCC = Linhagem CPATSA C; B: Todas as plantas foram diplóides; C: Resultado do teste de progênie

eficaz na identificação das plantas tetraplóides, principalmente, tendo-se em vista o grande número de amostras que deveriam ser analisadas. Das 33 plantas, das linhagens L-07 e L-09, avaliadas por essa técnica, 19 tiveram o número de cromossomos determinado, sendo que todas foram diplóides (Tabela 1). Devido à baixa eficácia observada nas demais linhagens, as plantas da linhagem CPATSA-C não foram submetidas à análise citogenética.

No teste de progênie, a identificação das plantas tetraplóides foi bastante simples, uma vez que estas apresentaram características morfológicas bastante distintas das correspondentes diplóides. Tais diferenças manifestaram-se logo no início do desenvolvimento das plantas, o que permitiu o reconhecimento precoce dos indivíduos tetraplóides. Das 16 progênes testadas, três de L-07 (L7-48, L7-27 e L7-10), duas de L-09 (L9-20 e L9-24) e duas de CPATSA-C (LCC-24 e LCC-25) apresentaram folhas mais espessas, mais arredondadas e coloração mais intensa que as demais progênes (Figura 1). Nestas plantas, os caules às vezes, apresentaram-se retorcidos, com crescimento lento e com menor número de ramificações. Essas progênes apresentaram flores maiores e frutos mais arredondados, com casca mais espessa (Figura 1). As sementes foram mais arredondas, com casca espessa e de aspecto grosseiro. As sete progênes apresentaram número médio de cloroplastos por estômato superior a 20 unidades, distinguindo-se das demais que apresentaram, em média, cerca de 11 cloroplastos por estômato foliar (Tabela 2). Estes resultados estão de acordo com aqueles apresentados por McCuiston & Elmstrom (1993) e Compton *et al.* (1996). As progênes da linhagem CPATSA-C, nos dois níveis de ploidia, apresentaram comportamento diferenciado. Na progênie LCC-22, registrou-se uma média de 14 cloroplastos por estômato foliar, enquanto nas progênes L-CC24 e LCC-25 as médias foram superiores a 27 cloroplastos por estômato.

As progênes L7-10, L7-27, L7-48, L9-20 e L9-24 apresentaram número médio de sementes por fruto autofecundado, variando de 18 a 67, enquanto que nas demais progênes destas linhagens foram obtidas de 320 a 733 sementes por fruto (Tabela 2). Nas progênes LCC-24 e LCC-25, foram obtidas, em média, 256 e 188 sementes por fruto, respectivamente. No entanto, na progênie LCC-22 foi obtida uma média de 858 sementes por fruto, demonstrando mais uma vez, a existência de variabilidade genética entre as linhagens. A redução do número de sementes nos frutos tetraplóides tem sido relatada em alguns trabalhos (Andrus *et al.*, 1971; Karchi *et al.*, 1981).

Nas progênes L7-10, L7-27, L7-48, L9-20, L9-24, LCC-20 e LCC-24 a relação largura/diâmetro da folha, o diâmetro médio do pecíolo (DMP) e o diâmetro médio do caule (DMC) foram superiores em relação às



Figura 2. Aspecto interno e externo de frutos da linhagem tetraplóide LT7-48.1 (esquerda), da linhagem diplóide Pérola (direita) e do híbrido triplóide (centro), resultante do cruzamento entre as duas linhagens. Escala = 10cm.

Tabela 2. Avaliação morfológica em progênes de plantas de melancia tratadas com colchicina. Petrolina (PE), Embrapa Semi-Árido, 1998.

Progênes	NCE <sup>1</sup>	LMF (cm)	CMF (cm)	LMF/CMF	DMP (mm)	DMC (mm)	CMI (cm)	NSF
L7-10	20,4 b	18,27 c	15,00 b	1,22 c	6,59 b	7,65 a	10,05 b	18
L7-14	11,3 d	16,37 d	15,20 b	1,08 d	5,21 c	5,40 c	10,00 b	384
L7-15	11,3 d	15,27 e	14,37 b	1,06 d	5,47 c	5,18 c	10,10 b	560
L7-23	11,4 d	17,97 c	16,60 a	1,08 d	5,41 c	5,22 c	10,20 b	399
L7-27	20,2 b	19,80 b	15,83 b	1,26 c	6,49 b	7,82 a	10,30 b	30
L7-28	11,8 d	18,50 c	17,93 a	1,03 d	6,10 b	6,25 b	10,60 b	386
L7-31	11,4 d	16,60 d	15,20 b	1,09 d	5,91 c	5,80 b	9,68 b	402
L7-38	11,2 d	17,27 d	16,57 a	1,04 d	5,54 c	5,41 c	9,20 b	342
L7-39	11,7 d	17,90 c	16,87 a	1,06 d	5,13 c	4,87 c	11,67 b	733
L7-46	11,7 d	17,57 d	16,20 b	1,09 d	5,45 c	6,20 b	11,20 b	320
L7-48	20,1 b	19,63 b	15,27 b	1,28 b	6,88 b	7,21 a	10,00 b	23
L9-07	11,1 d	16,27 d	15,67 b	1,04 d	4,91 c	5,08 c	10,33 b	337
L9-20	20,6 b	23,43 a	17,60 a	1,34 a	7,89 a	7,97 a	10,57 b	48
L9-24	20,4 b	23,33 a	17,97 a	1,30 b	7,55 a	8,25 a	7,61 b	67
LCC-22	14,0 c	10,43 g	11,10 c	0,94 e	3,00 d	3,67 d	15,11 a	858
LCC-24	27,4 a	12,67 f	11,90 c	1,07 d	5,11 c	5,33 c	13,33 a	256
LCC-25	27,8 a	13,43 f	12,67 c	1,06 d	5,11 c	5,56 c	12,44 a	188

<sup>1</sup>NCE: Número médio de cloroplastos por par de células guarda do estômato foliar; LMF: Largura média da folha; CMF: Comprimento médio da folha; DMP: Diâmetro médio de pecíolo; DMC: Diâmetro médio de caule; CMI: Comprimento médio de internó; NSF: Número de sementes por fruto.

<sup>2</sup> Médias com a mesma letra na coluna, não diferem ao nível de 5 % de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott.

progênes diplóides correspondentes (Tabela 2). Portanto, estas características podem ser consideradas como bons parâmetros para diferenciar plantas largura/comprimento da folha em plantas tetraplóides de melancia.

As sete progênes, quando cruzadas com plantas diplóides, produziram sementes triplóides, as quais deram origem a plantas que produziram frutos sem sementes (Figura 2), confirmando assim tratarem-se de progênes tetraplóides. Considerando o número de sementes diplóides tratadas com colchicina e a quantidade de plantas tetraplóides identificadas, a eficiência do tratamento foi de 2,7 % que, apesar de ser um valor baixo, encontra-se dentro dos níveis relatados por diversos pesquisadores que utilizaram outras técnicas. Kiss (1967) relata que, entre 1959 e 1963, foram tratadas 5.600 sementes tendo sido obtidas apenas 51 plantas tetraplóides (0,91 %). Neste caso, a colchicina a 0,5 %, era aplicada por 48 a 52 horas. Apenas 10 % das sementes germinavam, no entanto, de 8 a 10 % das plantas remanescentes eram tetraplóides. Torres (1956) relata que no Japão o tratamento de meristemas com colchicina resultou numa eficiência de 5 %. Marro & Ricci (1967) observaram que utilizando três diferentes vias de aplicação de colchicina (lanolina, água e algodão) e mantendo-se a mesma concentração, houve uma variação de 4,1 a 24,7 % na eficiência de

obtenção de tetraplóides. Lower & Johnson (1969) relataram que variando a concentração e obtiveram taxas de 0-6 %. A indução de poliploidia através do tratamento de sementes é menos eficiente que o tratamento de gemas apicais em plântulas, pois o tecido meristemático nas sementes é menos acessível e injúrias químicas podem afetar a germinação. No entanto, a aplicação de colchicina nas sementes é uma técnica mais prática e segura, que pode inclusive resultar em uma quantidade suficiente de plantas para o desenvolvimento de boas linhagens tetraplóides. Além disso, como a colchicina é aplicada em todos os indivíduos de uma só vez, pode-se realizar o tratamento simultâneo de um grande número de amostras com reduzido emprego de mão-de-obra.

A discrepância entre o número de plantas identificadas como prováveis tetraplóides pela primeira contagem de cloroplastos (78) e o número de plantas tetraplóides realmente obtidas (7) deve-se ao fato de que muitas das plantas eram na verdade quimeras, as quais podem apresentar elevado número de cloroplastos por estômato, mas produzem progênes diplóides. Além disso, 54 % das plantas não produziram frutos (42) de modo que não tiveram o nível de ploidia determinado. McCuiston & Elmstrom (1993) observando o número de cloroplastos em plantas de melancia recém induzidas com colchicina, relataram que de 36 a 75 % das plantas

tetraplóides obtidas eram quimeras que produziram progênies diplóides.

**Autofecundação das plantas tetraplóides** – No terceiro ciclo de autofecundação, foram obtidos 44 frutos autofecundados em 132 plantas. No genótipo LT7 foram obtidos, em média, 0,20 fruto autofecundado por planta e 41,8 sementes por fruto. Na linhagem LT9 foram obtidos, em média, 0,24 fruto autofecundado por planta e 50,6 sementes por fruto. Na linhagem LTCC foram obtidos, em média, 0,59 fruto autofecundado por planta e 239,1 sementes por fruto.

No processo de autofecundação das linhagens LT7, LT9 e LTCC, foram verificadas as seguintes percentagens de pegamento: 3,0 %; 6,2 % e 7,4 %, respectivamente (Tabela 3). Estes resultados revelam um alto nível de autoesterilidade das plantas tetraplóides. Lower & Johnson (1969) comparando a fertilidade de plantas diplóides e tetraplóides de melancia, não obtiveram nenhum fruto de autofecundação em plantas tetraplóides recém induzidas, após 131 polinizações, enquanto 55,5 % das autofecundações realizadas em plantas diplóides resultaram no desenvolvimento de frutos. Analisando os grãos de pólen dos dois genótipos, os autores observaram uma grande quantidade de anormalidades no desenvolvimento do tubo polínico nos indivíduos tetraplóides. Estudos preliminares revelaram a ocorrência de irregularidades meióticas nas plantas tetraplóides contribuindo para a formação de grãos de pólen inviáveis (Shimotsuma, 1961). Não foram observadas diferenças significativas entre diplóides e tetraplóides em relação à formação dos óvulos (Kikirwood, *apud* Lower & Johnson, 1969). Lower & Johnson (1969), relatam também que apesar das anormalidades observadas na microesporogênese, mais de dois terços do pólen tetraplóide germinaram em condições de laboratório. Os autores concluíram que a autoesterilidade nas plantas tetraplóides de melancia é de natureza parcialmente fisiológica, resultante da duplicação do número de cromossomos.

Em termos gerais, os problemas reprodutivos das plantas tetraplóides dificultam a manutenção das

linhagens, no entanto, a autoesterilidade executa um eficiente processo de seleção, pois os indivíduos com maiores problemas de irregularidades reprodutivas não deixam descendentes. Esta característica auxilia na estabilização genética das linhagens, que gradativamente apresentarão níveis superiores de fertilidade.

Com relação ao número de sementes por fruto, as linhagens LT7 e LT9 apresentaram baixo desempenho, comparando-as com a linhagem LTCC (Tabela 3). Torres (1956) relatou que cerca de 40 a 50 sementes eram obtidas por fruto nas primeiras gerações das linhagens tetraplóides que desenvolveu. Segundo Andrus *et al.* (1971), a seleção massal contribuiu para elevar, de 75 para 150, o número médio de sementes por fruto das linhagens tetraplóides desenvolvidas no programa de melhoramento conduzido pela Universidade de Charleston (EUA). A elevação da fertilidade em autotetraplóides está possivelmente associada à redução da formação de multivalentes na meiose (Shimotsuma, 1961).

**Obtenção das sementes triplóides** – Foram obtidas sementes de todos os cruzamentos. A linhagem tetraplóide LT7-48.1 (1) produziu em média 1,1 fruto/planta e 43,1 sementes por fruto. O pegamento médio foi de 22,4 %. A linha tetraplóide LT9-24.1 (2) produziu 1,5 fruto/planta e 87,8 sementes por fruto. O pegamento médio foi de 24,7 %. A linha tetraplóide LTCC-24 (3) produziu 2,2 frutos/planta e 189,9 sementes por fruto, com um pegamento médio de 55,9 % (Tabela 3).

De modo geral, as linhas tetraplóides LT7-48.1 e LT9-24.1 mostraram baixo desempenho com relação à produção de sementes por fruto. No entanto, o número de frutos por planta foi bastante incrementado no caso dos cruzamentos com linhagens diplóides. Este resultado está associado à utilização do pólen diplóide que praticamente não apresenta anormalidades meióticas. Acredita-se que o avanço das autofecundações nas linhas tetraplóides possa melhorar ainda mais este desempenho. Torres (1956) relata que nos primeiros cruzamentos realizados para obtenção de

Tabela 3. Percentagem média de pegamento, número médio de frutos por planta, e número médio de sementes por fruto, obtidos em plantas tetraplóides de melancia por meio de autofecundação e cruzamento com plantas diplóides. Petrolina (PE), Embrapa Semi-Árido, 1998.

Linhagens	Autofecundação das plantas tetraplóides			Cruzamento entre plantas tetraplóides e diplóides		
	% de pegamento	Núm. médio fruto/planta	Núm. médio sem/fruto	% de pegamento	Núm. médio fruto/planta	Núm. médio sem/fruto
LT7	3,0	0,20	41,8	22,0	1,1	43,1
LT9	6,2	0,24	50,6	24,7	1,5	87,8
LTCC	7,4	0,59	239,1	55,9	2,2	189,9

sementes triplóides apenas 15,3 % das polinizações resultaram em frutos, no entanto, utilizando gerações mais avançadas das mesmas linhas tetraplóides, até 62,5 % de pegamento foi alcançado.

Os resultados apresentados neste trabalho mostram a viabilidade da obtenção de plantas tetraplóides de melancia, a partir de germoplasma adaptado, utilizando-se a técnica de indução de poliploidia pelo tratamento de sementes com colchicina. A identificação das plantas tetraplóides recém induzidas pode ser realizada em duas etapas, nas quais a primeira, refere-se ao descarte das plantas diplóides através da contagem do número de cloroplastos por estômato foliar e a

segunda refere-se à avaliação morfológica das progênes de autofecundação obtidas nas plantas selecionadas na fase anterior. Estas técnicas poderão ser utilizadas para a síntese de novos híbridos triplóides em programas de melhoramento de melancia.

### AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão da bolsa de mestrado, à Embrapa Semi-Árido, à FACEPE e ao Banco do Nordeste pelo suporte financeiro.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDRUS, C. F., V. S. SESHADRI & P. C. GRIMBAL. 1971. *Production of seedless watermelons*. USDA Technical Bulletin 1425, 12p., Washington, DC
- ASSIS, J. G. DE A. 1994. Estudos Genéticos no gênero *Citrullus*. Universidade. Estadual Paulista, Jaboticabal, Dissertação Mestrado.
- COMPTON, M. E., D. J. GRAY, G. W. ELMSTROM. 1996. Identification of tetraploid regenerants from cotyledons of diploid watermelon culture *in vitro*. *Euphytica* 87: 165-172.
- DIAS, R. DE C. S. & H. A. MACEDO. 1999. Extração e secagem em sementes de polinização controlada em melancia. XIV Encontro de Genética do Nordeste, Recife, PE, *Resumos*, p. 68.
- DIAS, R. DE C. S., H. A. MACEDO & J. B. ANJOS. 1999. Técnica de polinização controlada em melancia e melão. XIV Encontro de Genética do Nordeste, Recife, PE, *Resumos*, p. 67.
- DIAS, R. DE C. S. & M. A. DE QUEIRÓZ. 1992. Melhoramento genético de melancia. Obtenção de progênes tolerantes ao oídio (*Sphaerotheca fuliginea*) e com boas características de fruto. *Hort. Bras.* 10 (1): 53.
- DIAS, R. DE C. S. & M. A. DE QUEIRÓZ. 1995. Avaliação de gerações avançadas de melancia em condições irrigadas. XI Encontro de Genética do Nordeste, Natal, RN, *Resumos*, p. 72.
- FASSULIOTIS, G. & B. V. NELSON. 1992. Regeneration of tetraploid muskmelons: differences from two diploid muskmelon genotypes. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 117 (5): 863-866.
- GUERRA, M. 1983. O uso de *Giemsa* na citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandeamento. *Ci. Cult.* 35 (2): 190-193.
- KARCHI, Z., A. GOVERS & H. NERSON. 1981. 'Alena' watermelon. *HortScience* 16(4): 573.
- KIHARA, H. 1951. Triploid watermelon, *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 58: 217-230.
- KISS, A. 1967. The production and experimental growing of triploid watermelons. *Acta Agron. Acad. Sci. Hung.* 16 (1-2): 121-132.
- LOVE, S. L., B. B. RHODES & P. E. NUGENT. 1986. Controlled pollination transfer of a nuclear male-sterile gene from a diploid to a tetraploid watermelon line. *Euphytica* 35: 633-638.
- LOWER, R. L. & K. W. JOHNSON. 1969. Observations on sterility of induced autotetraploid watermelons. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 91 (4): 367-369.
- MARRO, M. & A. RICCI. 1967. Ricerche sulla poliploidia delle angurie (*Citrullus vulgaris*). *Riv. Ortoflorofrutt. Ital.* 50: 581-594.
- MAYNARD, D. N. 1989. Growing seedless watermelons: a new opportunity and challenge. *Citrus Veget. Mag.* 52 (9): 78-79.
- MCCUISTION, F. & G. W. ELMSTROM. 1993. Identifying polyploids of various cucurbits by stomatal guard cell chloroplast number. *Proc. Florida State Hort. Soc.* 106: 155-157.
- MOHR, H. C., H. T. BLACKHURST & E. R. JENSEN. 1955. F<sub>1</sub> hybrid watermelons from open-pollinated seed by use of a genetic marker. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 65: 399-404.
- QIN, X. & G. L. ROTINO. 1995. Chloroplast number in guard cells as ploidy indicator of *in vitro*-grown androgenic pepper plantlets. *Pl. Cell Tissue Organ Cult.* 41: 145-149.
- QUEIRÓZ, M. A. DE. 1993. Potencial do germoplasma de curcubitáceas no Nordeste brasileiro. *Hort. Bras.* 11 (1): 7-9.
- QUEIRÓZ, M. A. DE & F. DE F. SOUZA. 1998. Seleção de linhagens de melancia para o cultivo irrigado no semi-árido brasileiro. XIII Encontro de Genética do Nordeste, Feira de Santana, BA, *Resumos*, p.368.
- QUEIRÓZ, M. A. DE, M. A. J. F. FERREIRA, R. M. E. BORGES & F. DE F. SOUZA. 1999. Potencial de obtenção de linhagens de melancia com diferentes padrões de frutos a partir de uma população segregante. XIV Encontro de Genética do Nordeste, Recife, PE, *Resumos*, p. 66.
- SHIMOTSUMA, M. 1961. Cytogenetical studies in the genus *Citrullus*, V. Chromosome conjugation and fertility in induced autotetraploids. *Jap. J. Genet.* 36 (3-4): 63-71.
- SOUZA, F. DE F. & M. A. DE QUEIRÓZ. 1999. Obtenção e seleção de linhagens tetraplóides de melancia. XXI Encontro Regional de Botânica, Vitória, ES, *Resumos*, p. 31.
- SOUZA, F. DE F., M. A. DE QUEIRÓZ & R. C. S. DIAS. 1999. Obtenção de híbridos experimentais de melancia sem sementes. XXXIX Congresso Brasileiro de Olericultura, Tubarão, SC, *Resumos*, p. 370.
- STONER, A. K. & K. W. JOHNSON. 1965. Overcoming autosterility of autotetraploids watermelons. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 86: 621-625.
- TASAKI, S. 1991. Variedades de variedades – um trocadilho ? *Hort. Bras.* 9 (2): verso da capa.
- TORRES, J. P. 1956. The seedless watermelon has come to stay in Philippines. *Arenata* 3: 48-56.
- WALL, J. R. 1960. Use of marker genes in producing triploid watermelons. *Proc. Am. Soc. Hort. Sci.* 76: 577-581.
- ZHANG, X. P. & B. RHODES. 1994. A new morphological marker in watermelon, juvenile albino (*ja*). *Rep. Cucurbit Coop.* 17: 101.