

Eficiência na obtenção de híbridos por meio da técnica de resgate de embriões para desenvolvimento de cultivares de uvas sem sementes no semiárido brasileiro: 2011-2012

Patrícia Coelho de Souza Leão¹, Visêldo Ribeiro de Oliveira¹, Bruna Thais Gonçalves Nunes², Bruna Emanuelle Souza Martins²

Resumo

Na Embrapa Semi-Árido, cruzamentos têm sido realizados entre cultivares de videiras apirênicas estenoespermocárpicas, objetivando a seleção de plantas com melhores características agrônomicas e melhor adaptadas à região semiárida brasileira. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência na obtenção de híbridos por meio da técnica de hibridação e resgate de embriões de videira durante o período 2011-2012. Cachos provenientes de cruzamentos entre cultivares de uvas sem sementes foram coletados no período de 7 a 8 semanas após a polinização e levados ao Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido para o isolamento das sementes-traço. Foram realizados 12, 8 e 2 cruzamentos que produziram cachos, respectivamente em cada semestre entre 2011-2012. A taxa de pegamento dos cachos foi de 61,9; 62,5 e 56,5%, obtendo-se frequências de embriões resgatados de 18,4; 15,0 e 49,7% e de embriões germinados de 44,2; 14,1 e 99%, respectivamente nos ciclos de cruzamentos realizados no 1º semestre de 2011, 2º semestre de 2011 e 1º semestre de 2012, observando-se grande variação em função dos genitores utilizados nos cruzamentos e das condições de campo e de laboratório, em que os trabalhos foram realizados em cada período do ano.

Introdução

O Vale do São Francisco consolidou-se nas últimas décadas como a principal região produtora de uvas finas de mesa do país, responsável por 99% das exportações nacionais desta fruta, alcançando em 2012 uma área cultivada de 9.200 ha e 285.000 toneladas (AGRIANUAL, 2013).

As principais cultivares de uvas de mesa são Itália Muscat, Benitaka, Red Globe, Thompson Seedless, Sagraone e Crimson Seedless, estas três últimas caracterizam-se por serem uvas sem sementes, que apresentam, especialmente em condição tropical semiárida, características indesejáveis como baixa fertilidade de gemas, suscetibilidade a rachadura de bagas e doenças, e demandam elevado custo de produção. As dificuldades na adaptação e no manejo têm levado os produtores a buscar novas alternativas de cultivares de uvas sem sementes. As primeiras cultivares desenvolvidas pela Embrapa Uva e Vinho foram BRS Clara, BRS Linda e BRS Morena, e, mas recentemente, BRS Vitória, mas que não alcançaram até o momento expressão econômica nesta região.

Para dar subsídio e sustentabilidade à viticultura do Vale do São Francisco e somando-se aos esforços do programa de melhoramento da Embrapa Uva e Vinho, teve início em 2004, um programa de melhoramento de uvas de mesa na Embrapa Semiárido que têm como principal objetivo, a obtenção de híbridos de uvas de mesa sem sementes, de elevada produtividade e qualidade de frutos, fácil manejo e resistentes às principais doenças de videira em condições semiáridas, especialmente o cancro bacteriano (*Xanthomonas campestris* pv. *viticola*).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência dos cruzamentos realizados durante o período 2011-2012 e o número de híbridos obtidos por meio da técnica de resgate de embrião.

Material e Métodos

Foram utilizados dois grupos de genótipos nos cruzamentos: 1) cultivares de uva sem sementes de alto valor comercial ou que apresentam características desejáveis para incorporação em nova cultivar; 2) cultivares e híbridos com e sem sementes que apresentam características agrônomicas desejáveis e/ou tolerância as principais doenças da videira. Os resultados apresentados referem-se aos cruzamentos realizados durante os períodos de 2011-2012. A coleta de pólen, emasculação e polinização dos cachos foi realizada segundo Leão e Borges (2009). Nos cruzamentos entre dois genitores de uvas sem sementes, utilizou-se a técnica

¹ Pesquisador Embrapa Semiárido, Caixa Postal 23, Zona Rural, Petrolina, PE, patricia.leao@embrapa.br

² Estudantes bolsistas Embrapa Semiárido/CNPq

de resgate de embriões que consistiu na coleta das bagas de sete a oito semanas após a polinização, retirada dos embriões imaturos e inoculação em meio de cultura no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido. Sementes imaturas foram removidas assepticamente e transferidas para meio de cultura de Galzy (GALZY, 1964). Todos os meios foram suplementados com 2,0 g.L⁻¹ de carbono ativado ou 150 mg.L⁻¹ de polivinilpirrolidone, 6,5 g.L⁻¹ de agar, 30 g.L⁻¹ de sacarose, 0,1 g.L⁻¹ de inositol, sendo o pH ajustado para 5,9 com 0,1 M NaOH ou HCl 0,1 M, antes da autoclavagem. Após a assepsia, as sementes foram inoculadas em tubos de ensaio contendo 15 ml de meio, sendo cultivadas sob luz fluorescente (35-40 µmol m². s⁻¹), com 16 h de fotoperíodo de 25 ± 2°C.

Após 40 dias da inoculação das sementes, realizou-se o resgate dos embriões, que foram inoculados em meio de cultura WPM (Lloyd e McCown, 1980), sacarose (30g.L⁻¹), Inositol (0,1g.L⁻¹), Glicina 0,002 (0,1g.L⁻¹), BAP 225µL (Sol. Estoque 1mg.mL⁻¹), PVP (0,1 g.L⁻¹), Ágar (6,5 g.L⁻¹), ajustando-se o pH para 5,9.

Foram avaliados a frequência observada e relativa de cachos desenvolvidos, embriões resgatados e embriões germinados em cada ciclo de cruzamentos realizados nos períodos correspondentes .

Resultados e Discussão

No primeiro semestre de 2011 foram realizados 17 cruzamentos entre genitores sem sementes, mas apenas em 12, houve alguma formação de frutos. Obteve-se uma média de 61,9% de cachos desenvolvidos. O percentual de pegamento de cada cruzamento pode ser observado na Tabela 1, e variou de 16,7 até 100%. No cruzamento 'Jupiter' X 'Thompson Seedless' foram polinizados 10 cachos sendo obtidos 100% de formação de frutos. Nos cruzamentos 'Feal' X 'Crimson' e 'BRS Clara' X 'Feal' apesar da formação de frutos, não se obteve nenhum embrião decorrente da inoculação. A percentagem de embriões resgatados variou de 2,7% a 36,4%, com uma frequência relativa de 18,4%, obtendo-se 44,2% de embriões germinados (Tabela 1).

No segundo semestre de 2011 foram realizados um total de nove cruzamentos entre genitores sem sementes, dos quais em quatro cruzamentos não se obteve nenhuma formação de frutos. Esses cruzamentos foram: 'Vênus' X 'Thompson Seedless', 'BRS Clara' X 'Jupiter', 'BRS Clara X 'Thompson Seedless' e 'Thompson Seedless' X 'BRS Linda', repetindo os resultados negativos da cultivar 'BRS Clara' como genitor feminino já observado no semestre anterior. Isto possivelmente ocorreu em função da dificuldade de emasculação dos botões florais, que se desprendem muito facilmente da inflorescência nesta cultivar. Foram obtidos uma percentagem média de 62,5% de cachos desenvolvidos, destacando-se 'CG351 x Thompson Seedless' com 90,9% de pegamento dos cachos. De um total de 1083 sementes-traço inoculadas, foram resgatados 163 embriões e 23 embriões germinaram, com frequências relativas de 15,0% e 14,1%, respectivamente, observando-se, portanto uma queda no número de embriões resgatados e germinados, comparado ao semestre anterior (Tabela 2).

No primeiro semestre de 2012 foram realizados quatro cruzamentos entre genitores sem sementes, mas apenas dois deles produziram cachos, com uma frequência de 56,5% de cachos desenvolvidos. Foram inoculadas 1038 sementes traço, obtendo-se 516 embriões resgatados, com uma eficiência no processo de resgate de 49,7% e de 99% na frequência de embriões germinados, resultados superiores ao observado nos semestres anteriores (Tabela 3).

Os resultados apresentados evidenciaram grande variabilidade entre os genótipos utilizados nos cruzamentos e o semestre do ano em que eles foram realizados. Valdez (2005) também observaram uma variação de 6% a 35% de embriões germinados em função dos genitores utilizados nos cruzamentos. A frequência de embriões resgatados nos dois semestres de 2011 estiveram abaixo da média de 34,5% obtidos por Amaral et al. (2001) mas por outro lado, em 2012, as frequências de embriões resgatados e germinados foram superiores aos valores obtidos por aqueles autores. As variações nas frequências observadas entre os genitores dos cruzamentos demonstram uma resposta genótipo-dependente, mas que também foi influenciada pelas condições (ambiente de campo e laboratório, habilidade dos estudantes, etc) em que o trabalho foi realizado em cada período do ano.

Referências Bibliográficas

AGRIANUAL: anuário da agricultura brasileira. São Paulo: Instituto FNP, 2013. P.471-480.

LEÃO, P. C. S. de; BORGES, R. M. E. Leão, **Melhoramento genético da videira**. Petrolina: Embrapa Semiárido, 2009. 61 p.: il. (Embrapa Semiárido. Série Documentos, 224).

AMARAL, A. L. do; OLIVEIRA, P. R. D. de; CZERMAINSKI, A. B. C.; CAMARGO, U. A. Estádios de desenvolvimento de embriões na obtenção de plantas em cruzamentos entre genitores apirenos de videira. **Rev. Bras. Frutic.** 2001, vol.23, n.3, pp. 647-651.

VALDEZ, J. G. Immature embryo rescue of grapevine (*Vitis vinifera* L) after an extended period of seed trace culture. **Vitis** 2005. Vol.44, n.1, pp.17-23.

Incluir referências Galzy (1964) e Lloyd e McCown(1980)

Tabela 1. Frequências observadas e relativas (%) de cachos desenvolvidos, embriões resgatados e germinados no ciclo de cruzamentos do 1º semestre de 2011

Cruzamentos	Frequência Observada				Frequência relativa (%)		
	Cachos Desenvolvidos	Sementes inoculadas	Embriões resgatados	Embriões germinados	Cachos desenvolvidos/ cachos polinizados	Embriões resgatados/ Sementes inoculadas	Embriões germinados/ Embriões resgatados
Jupiter X Thompson	10	200	39	11	100,0	19,5	28,2
Jupiter X Crimson	3	118	43	13	37,5	36,4	30,2
Jupiter X Sugraone	1	75	18	4	50,0	24	22,2
A Dona X Thompson	1	27	0	0	100,0	0	0
Early Muscat X Sugraone	8	128	0	0	72,7	0	0
Feal X Thompson	1	75	2	1	50,0	2,7	50,0
Vênus X Crimson	2	19	0	0	16,7	0	0
Feal X Sugraone	1	50	0	0	50,0	0	0
Feal X Crimson	1	0	0	0	50,0	0	0
Princess X Feal	5	100	14	4	71,4	14	28,6
Marroo Seedless X Feal	4	326	76	53	100,0	23	69,7
BRS Clara X Feal	5	0	0	0	62,5	0	0
A 1105 X Feal	2	102	14	5	100,0	13,7	35,7
TOTAL	44	1220	206	91	61,9	18,4	44,2

Tabela 2. Frequências observadas e relativas (%) de cachos desenvolvidos, embriões resgatados e germinados no ciclo de cruzamentos do 2º semestre de 2011.

Cruzamentos	Frequência Observada				Frequência relativa (%)		
	Cachos Desenvolvidos	Sementes inoculadas	Embriões resgatados	Embriões germinados	Cachos desenvolvidos/ cachos polinizados	Embriões resgatados/ Sementes inoculadas	Embriões germinados/ Embriões resgatados
CG 351 X Thompson	10	704	89	23	90,9	12,6	25,8
Thompson X ADona	6	200	36	0	50,0	18	0
A1105 X Thompson	2	75	11	0	50,0	14,7	0
Thompson X Feal	6	79	19	0	54,5	24	0
Thompson X Vênus	1	25	8	0	50,0	32	0
TOTAL	25	1083	163	23	62,5	15,05	14,1

Tabela 3. Frequências observadas e relativas (%) de cachos desenvolvidos, embriões resgatados e germinados no ciclo de cruzamentos do 1º semestre de 2012.

Cruzamentos	Frequência Observada				Frequência relativa (%)		
	Cachos Desenvolvidos	Sementes inoculadas	Embriões resgatados	Embriões germinados	Cachos desenvolvidos/ cachos polinizados	Embriões resgatados/ Sementes inoculadas	Embriões germinados/ Embriões resgatados
CG 351 X BRS Linda	9	151	39	39	75,0	25,8	100,0
Marroo X A 1581	17	887	477	473	94,4	53,8	99,2
TOTAL	26	1038	516	512	56,5	49,7	99,2