

Obtenção de Híbridos de Uvas sem Sementes por Meio da Técnica de Resgate de Embriões Durante o Período 2014-2015

Obtaining Hybrid Seedless Grape by Embryo Rescue Technique During the Period 2014-2015

Bruna Thais Gonçalves Nunes¹; Alyny Dayany das Dores Pedroso²; Nataniel Franklin de Melo³; Patrícia Coelho de Souza Leão⁴.

Resumo

Este trabalho teve como objetivo avaliar a eficiência dos cruzamentos realizados no ciclo do segundo semestre de 2014, como também o efeito de épocas de inoculação e resgate de embriões na obtenção de híbridos de uvas de mesa. Foram utilizados oito genótipos de uvas sem sementes para a realização dos cruzamentos, mas apenas no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'Jupiter' os cachos foram coletados 6, 7 e 8 semanas após a polinização, objetivando o isolamento e inoculação in vitro de sementes-traço (óvulos). Os tratamentos relativos à época de resgate dos embriões foram impostos aos 45 e 60 dias após a inoculação dos óvulos. Foram avaliados a percentagem de cachos frutificados, sementes-traço obtidas, embriões imaturos resgatados e embriões germinados. Obteve-se uma média de 37,6% de cachos frutificados, dos quais 835 sementes-traço foram isoladas e inoculadas in vitro, obtendo-se 52,8% de embriões germinados. A inoculação

¹Estudante de Biologia, Universidade de Pernambuco (UPE), bolsista CNPq/PIBIC, Embrapa Semiárido Petrolina, PE.

²Estudante de Biologia, UPE, estagiária da Embrapa Semiárido Petrolina, PE.

³Biólogo, D.Sc. Ciências Biológicas, pesquisador da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, nataniel.melo@embrapa.br.

⁴Engenheira-agrônoma, D.Sc. Genética e Melhoramento de Plantas, pesquisadora da Embrapa Semiárido, Petrolina, PE, patricia.leao@embrapa.br.

dos óvulos na sétima e oitava semana após a polinização resultou em maiores números de embriões resgatados e germinados.

Palavras-chave: videira, melhoramento genético, hibridação, apirenia.

Introdução

O resgate de embriões em videiras (*Vitis vinifera* L.) estenospermocárpicas foi primeiramente sugerido por Ramming (1983), mas foi somente a partir de estudos desenvolvidos nos Estados Unidos e em Israel que a técnica passou a ser amplamente utilizada (AMARAL, 2001).

A cultura de embrião de videira permite o cruzamento entre variedades apirênicas, pois, nestas, o embrião imaturo aborta no início do desenvolvimento, não permitindo a formação da semente (EMERSHAD; RAMMING, 1984). Essa técnica consiste na coleta e cultivo in vitro de sementes-traço, 6 e 8 semanas após a polinização, e posterior resgate do embrião e germinação em meio de cultura específico, gerando plântulas com novas combinações genéticas (MELO, 2004).

Resultados obtidos por Tsoleva et al. (1998) mostram que a percentagem de plantas obtidas em F_1 provenientes de sementes-traço varia de 16,7% a 33,3%, dependendo do cruzamento.

Estudos realizados com diferentes genótipos de videira identificaram que o tempo de maturação dos genótipos tem influência sobre a quantidade de embriões resgatados (POMMER et al. 1995).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência da técnica de resgate de embriões in vitro e os efeitos da época de inoculação dos óvulos e do resgate de embriões na obtenção de híbridos de uvas de mesa durante o ciclo do segundo semestre de 2014.

Material e Métodos

O trabalho foi realizado no segundo semestre de 2014, quando foram coletados grãos de pólen de quatro genótipos de videira: 'A Dona', 'Marroo Seedless', 'Princess' e 'Jupiter' (Tabela 1), sendo armazenados em refrigerador à temperatura aproximada de 5 °C.

Sete genótipos foram utilizados como genitores femininos (Tabela 1), realizando-se os cruzamentos nas plantas do Banco Ativo de

Germoplasma (BAG) de Videira, nos Campos Experimentais de Mandacaru e de Bebedouro, da Embrapa Semiárido, utilizando-se o procedimento clássico de emasculação do genitor feminino e polinização.

O cruzamento 'Marroo Seedless' x 'Jupiter' foi utilizado para a avaliação das diferentes épocas de inoculação dos óvulos e resgate de embriões por apresentar maior percentagem de pegamento de frutos. Os cachos foram colhidos 6, 7 e 8 semanas após a polinização, quando se realizou a coleta das bagas para isolamento e realização da inoculação dos óvulos.

A inoculação e resgate de embriões foram realizados no Laboratório de Biotecnologia da Embrapa Semiárido. O meio de cultura para a inoculação das sementes-traço foi feito de acordo com Galzy (1964), adicionado-se PVP (0,0015 g/L), inositol (0,1 g/L) e glicina (0,002g/L), e o resgate de embriões em meio WPM (LLOYD; MCCOWN, 1981) adicionado de BAP (1 mg/mL) e PVP (0,1g/L). O resgate de embriões foi realizado aos 45 e 60 dias após a inoculação.

O experimento foi caracterizado como fatorial 3 x 2 (três períodos de inoculação x dois períodos de resgate dos embriões), em delineamento inteiramente casualizado com quatro repetições, onde a parcela foi constituída por dez embriões resgatados.

Foram avaliados a percentagem de cachos frutificados, sementes-traço inoculadas, embriões imaturos resgatados e embriões germinados. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

Dos nove cruzamentos realizados, sete resultaram na formação de frutos, com percentagem média de pegamento de 37,6%, desde variação entre 10% e 80%, de acordo com os genitores (Tabela 1). Nos cruzamentos 'BRS Linda' x 'Jupiter', 'CNPUV 8' x 'Princess' e 'Jupiter' x 'Princess', não houve formação de óvulos (Tabela 1), enquanto nos cruzamentos 'Seleção CNPUV 8' x 'A Dona' e 'Feal' x 'A Dona', houve formação de óvulos, porém, os mesmos não continham embriões.

Embriões foram resgatados em apenas dois cruzamentos: 'CG 351' x 'Jupiter' e 'Marroo Seedless x Jupiter', com valores percentuais de 20,3% e 46,6%, respectivamente (Tabela 1), que correspondeu a uma média de 31%, próxima da média geral de 34,5%, obtida por Carmargo et al. (1999).

Tabela 1. Frutificação em campo e desenvolvimento in vitro de embriões imaturos de videira (*Vitis vinifera* L.), provenientes de cruzamentos realizados no segundo semestre de 2014 - Campos experimentais de Mandacaru, Juazeiro, BA e Bebedouro, Petrolina, PE

Cruzamentos (♀ x ♂)	Nº Cachos Polinizados	Frutificados (%)	Óvulos Inocu- lados	Embriões Resgatados (%)	Embriões Germinados (%)
A 1105 x A Dona	9	0	0	0	0
BRS Linda x Jupiter	18	5 (27,7%)	0	0	0
CG 351 x Jupiter	11	6 (54,5%)	226	46 (20,3%)	6 (13,04%)
Feal x A Dona	13	8 (61,5%)	32	0	0
Jupiter x Princess	10	5 (50%)	0	0	0
Marroo x Jupiter	10	8 (80%)	465	217 (46,6%)	133(61,2%)
CNPUV 8 x A Dona	10	5 (50%)	112	0	0
CNPUV 8 x Jupiter	10	0	0	0	0
CNPUV 8 x Princess	10	1 (10%)		0	0
TOTAL	101	38	835	263	139
(%)		37,6%		31%	52,8%

Na Tabela 2 podem-se observar os resultados obtidos para o número de embriões resgatados e germinados, comparando-se três épocas de inoculação dos óvulos e duas épocas de resgate de embriões no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'Jupiter'. Esses resultados apresentaram diferença estatística na época de inoculação das sementes, observando-se na sexta semana os menores números de embriões resgatados e embriões germinados. Nas coletas realizadas na sétima e oitava semana, obtiveram-se os maiores valores para números de embriões resgatados e germinados, quando comparado aos resultados da sexta semana.

Quanto ao tempo de resgate de embriões, não foi observada diferença estatística. Segundo Camargo et al. (1999), os cachos devem ser colhidos de seis a oito semanas após a polinização, momentos antes do aborto do embrião.

Tabela 2. Número de embriões resgatados e germinados no cruzamento 'Marroo Seedless' x 'Jupiter' submetidos a diferentes épocas de inoculação e resgate de embrião in vitro na Embrapa Semiárido.

Tratamentos	Nº médio de Embriões Resgatados ¹	Nº médio de Embriões Germinados ¹
Seis semanas ²	2,5 b	1,13 b
Sete semanas	4,75 a	3,63 a
Oito semanas	4,5 a	3,00 a
Média	2,17	1,83
CV (%)	17,06	21,59
45 dias ³	4,33 a	2,67 a
60 dias	3,50 a	2,50 a

¹Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

²Semanas após a polinização.

³Dias após a inoculação dos óvulos.

Conclusões

Houve grande variação quanto à eficiência da técnica para desenvolvimento de híbridos de videira entre os cruzamentos realizados, o que pode estar relacionado a uma resposta genótipo-dependente, como também pode ter sido influenciado pelas condições ambientais de campo e laboratório.

A inoculação dos óvulos na sétima e oitava semana após a polinização resultou em maiores números de embriões resgatados e germinados no cruzamento 'Maroo Seedless' x 'Jupiter'.

Referências

- AMARAL, A. L.; OLIVEIRA, P. R. D. de; CZERMAINSKI, A. B. C.; CAMARGO, U. A. Embryo growth stages on plant obtention from crosses between seedless grape parents. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 3, p. 647-651, 2001.
- CAMARGO, U. A.; AMARAL, A. L. do; OLIVEIRA, P. R. D. de. Uvas sem sementes: uso da biotecnologia na busca de novas cultivares apirênicas. **Biotecnologia: Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 2, n. 10, p. 108-112, 1999.
- EMERSHAD, R. L.; RAMMING, D. W. In-ovulo embryo culture of *Vitis vinifera* L. cv. 'Thompson Seedless'. **American Journal of Botany**, New York, v. 71, n. 6, p. 873-877, 1984.
- GALZY, R. Technique de thermothérapie des viroses de la vigne. **Annales des Épiphyties**, Paris, v. 15, n. 3, p. 245-256, 1964.
- LLOYD, G.; MCCOWN, B. Commercially-feasible micropropagation of Mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot tip culture. **International Plant Propagation Society Proceedings**, Bellefonte, v. 30, p. 421-427, 1981.
- MELO, N. F. de. Contribuição da biotecnologia no desenvolvimento da viticultura no Vale do São Francisco. In: SEMINÁRIO NOVAS PERSPECTIVAS PARA O CULTIVO DA UVA SEM SEMENTES NO VALE DO SÃO FRANCISCO, 2004, Petrolina. **Palestras...** Petrolina: Embrapa Semi-Árido, 2004. (Embrapa Semi-Árido. Documentos, 185).
- POMMER, C. V.; RAMMING, D. W.; EMERSHAD, R. L. Influence of grape genotype, ripening season, seed trace size, and culture date on in ovule embryo development and plant formation. **Bragantia**, Campinas, v. 54, n. 2, p. 237-249, 1995.
- TSOLOVA, V.; ATANASSOV, A.; TRIFONOVA, D.; VALTCHEV, V. The primary results from study of F1 and L1 plants in vitro embryo culture of seedless grapes. In: SYMPOSIUM INTERNATIONAL ON GRAPEVINE GENETICS AND BREEDING, 7., 1998, Montpellier. **Proceedings...** Leuven: ISHS, 1998. p. 5-13
- RAMMING, D.W. Embryo culture. In: MOORE, J.N.; JANICK, J. (Ed.) **Methods in fruit breeding**. West Lafayette: Purdue University Press, 1983. cap. 9, p. 136-144