

Identificação de linhas macho-estéreis e mantenedoras da macho-esterilidade na cultivar de cebola BRS Alfa São Francisco.

Carlos Antonio F. Santos¹; Daniela Lopes Leite², Gilmara Mabel Santos^{1,3}; Nivaldo D. Costa¹; Denilson Anthonisen²; Manoel Abílio de Queiroz⁴ e Valter Rodrigues Oliveira⁵.

¹Embrapa Semi-Árido. Caixa Postal 23. 56302-970. Petrolina, PE. E-mail: casantos@cpatsa.embrapa.br;

²Embrapa Clima Temperado Caixa Postal 403, Pelotas, RS; ³Bolsista DCR do CNPq; ⁴UNEB Campus Juazeiro, Caixa Postal 171, Juazeiro, BA; ⁵Embrapa Hortaliças, Caixa Postal 218, Brasília, DF.

RESUMO

O plantio de híbridos de cebola é bastante reduzido no Nordeste brasileiro, uma vez que as sementes custam até quatro vezes o preço das sementes de cultivares de polinização aberta e muitos foram desenvolvidos em outros países, apresentando susceptibilidade para algumas doenças da região. A identificação de linhas macho-estéreis e mantenedoras da macho-esterilidade dentro da cultivar BRS Alfa São Francisco é discutida no presente trabalho, com o objetivo final de desenvolver híbridos adaptados às condições tropicais do Nordeste brasileiro e resistentes ao *Colletotrichum gloesporioides*. Considerou-se duas etapas: 1) *screening* visual para a identificação de plantas macho-estéreis e seu pareamento ao acaso com plantas férteis, e 2) *screening* com *primers* de DNA para a identificação de citoplasma estéril e fértil. O *screening* visual de inflorescências no campo possibilitou a identificação de 90 pares, observando-se uma frequência de 2,0% de plantas macho-estéreis e de 1,68 inflorescência/planta macho-estéril. O par P16E1 x P16F1 apresentou a situação necessária para a produção de híbridos de cebola, qual seja: 1) plantas macho-estéreis, quando cruzadas com as mantenedoras da macho-esterilidade (Nmsms), produzindo progênies estéreis (Smsms) e 2) plantas férteis, mantenedoras, produzindo progênies férteis (Nmsms). *Screening* com *primers* específicos de DNA comprovou a presença de citoplasma estéril na linha P16E1 e citoplasma fértil na linha P16F1. Estes resultados são muito promissores, uma vez que a parte mais difícil para a produção do híbrido de cebola amarela parece ter sido superada e que um híbrido experimental poderá estar disponível dentro de 18 meses para a região Nordeste do Brasil.

Palavras-chaves: *Allium cepa*, híbrido, cebola amarela.

ABSTRACT- Identification of male-sterile and maintainer lines within the BRS Alfa São Francisco onion cultivar.

Onion hybrid growing is extremely reduced in the Northeast of Brazil, due to threefold to fourfold of seed price and to lower adaptation of many overseas developed hybrids that

have showed susceptibility to a key fungus disease in the region when compared to local open-pollinated cultivars. The identification of male-sterile and maintainer onion lines within the BRS Alfa São Francisco cultivar is presented in this report, with a final goal to develop an onion hybrid adapted to the high temperatures and tolerant to *Colletotrichum gloesporioides* in the Brazilian tropical semi-arid region. It was considered two steps: 1) visual *screening* to identify and to pair male-sterile plants with surrounding fertile plants, and 2) molecular *screening* with published DNA *primers* to identify male and sterile cytoplasm. The field visual *screening* resulted in 90 pairs, resulting in a frequency of 2,0% of male-sterile plants within the onion population and 1.68 umbel/male-sterile plant. The pair P16E1 x P16F1 showed the necessary condition to onion hybrid production: 1) male-sterile plants, when crossing to maintainer lines (Nmsms), yielding male-sterile progenies (Smsms) and 2) fertile plants, maintainers, yielding fertile progenies (Nmsms). *Screening* with specific DNA *primers* resulted in the presence of amplified DNA in the P16E1 progenies and absence of amplified DNA in the P16F1 progenies. These results were very enthusiastic because the most challenging step to develop onion hybrids may be overcome and that an onion experimental hybrid may be soon available to be cultivated in Northeast of Brazil.

Keywords: *Allium cepa*, hybrid, yellow onion.

INTRODUÇÃO

O plantio de híbridos de cebola é bastante reduzido no Nordeste brasileiro, conseqüência do alto custo das sementes, pelo menos quatro vezes o preço das sementes de cultivares de polinização aberta. Muitos dos híbridos foram desenvolvidos em outros países, apresentando susceptibilidade à doenças, como o mal-de-sete-voltas. Segundo Dowker (1990), a superioridade dos híbridos tem sido de até 192% em relação ao parental mais produtivo e de até 367% em relação a algumas cultivares de polinização cruzada.

A produção de híbridos de cebola requer a identificação de linhas macho estéreis, mantenedoras da macho-esterilidade e polinizadora com boa capacidade de combinação. Na literatura essas linhas são conhecidas como A, B, e C, respectivamente.

A identificação de linhas macho-estéreis e mantenedoras da macho-esterilidade dentro da cultivar BRS Alfa São Francisco é discutida no presente trabalho. O objetivo final do trabalho é o desenvolvimento de híbridos adaptados às condições tropicais do Nordeste brasileiro, que apresentem tolerância às altas temperaturas e à principal doença da cebola na região, o mal-de-sete-voltas (*Colletotrichum gloesporioides*).

MATERIAL E MÉTODOS

Uma população da cultivar BRS Alfa São Francisco foi avaliada visualmente para a presença de plantas que não apresentavam pólen. Plantas da proximidade, que apresentavam pólen, foram pareadas para cada uma das inflorescências da planta macho-estéril. As duas inflorescência foram protegidas com saco de papel comum e polinizações manuais foram efetuadas a cada dois dias. Após a polinização manual de um par de inflorescência as mãos dos polinizadores eram lavadas com álcool etanol, de forma a evitar contaminações entre pares. Adotou-se a identificação seqüencial do número de plantas identificadas na população, seguido da letra E=estéril ou F=fértil, mais um número seqüencial para a inflorescência da planta estéril. Por exemplo: P27E2 e P27F2 significa inflorescência estéril 2 da planta 27 pareada com a inflorescência fértil de uma planta nas proximidades da planta estéril 27.

Na colheita, as inflorescências eram devidamente separadas e identificadas, postas para terminarem o processo de maturação fisiológica, beneficiadas e as sementes acondicionadas individualmente em sacos de papel. Os pacotes de sementes de cada par foram mantidos juntos com cliques, para facilitar na etapa subsequente de produção de bulbos. Os bulbos de uma família foram mantidos separados em sacos de papel durante a vernalização e foram levados ao campo de modo a formar uma linha da inflorescência estéril ao lado da inflorescência fértil do par. Toda a etapa de identificação manual de campo foi realizada na Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE.

No segundo cruzamento teste, uma análise adicional foi incluída: *screening* com *primers* de DNA específicos para identificação de citoplasma estéril ou fértil, conforme procedimento descrito por Engelke et al. (2003). As análises com *primers* de DNA foram realizadas no laboratório de eletroforese da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O procedimento de *screening* em campo possibilitou a formação de 90 pares de plantas macho-estéreis e plantas férteis, o que resultou numa freqüência de, aproximadamente, 2,0% de plantas macho-estéreis dentro da população e de 1,68 inflorescência/planta macho-estéril. Após a semeadura, transplantio, colheita, vernalização e plantio em campo, progênies de setenta pares, dos noventa iniciais, foram novamente avaliadas para a macho-esterilidade e fertilidade.

Na observação visual de inflorescências no campo foi identificada uma linha que apresentava a situação necessária para a produção de híbridos de cebola, qual seja: um par de 1) planta macho-estéril produzindo progênies macho-estéreis (Smsms), quando

cruzada a plantas mantenedoras da macho-esterilidade, e 2) planta fértil, mantenedora, produzindo progênes férteis (Nmsms). Nesta condição, observou-se que o P16E1 x P16F1 apresentou a situação necessária de macho-esterilidade x fertilidade. Dois pares foram novamente formados dentro do par P16E1 x P16F1, sob a denominação P16E1E1 x P16F1F1 e P16E1E2 x P16F1F2, para um terceiro cruzamento teste.

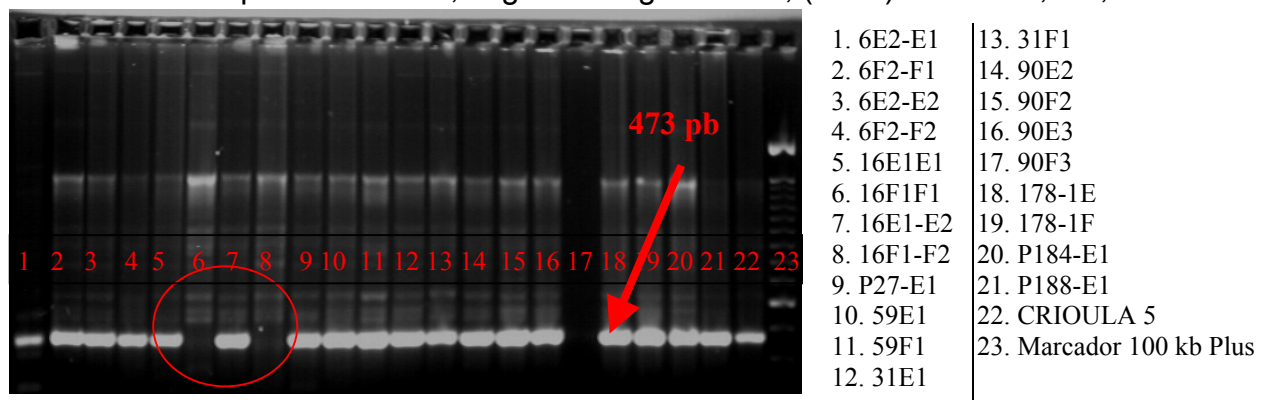
Vários outros pares segregaram para a presença de macho-esterilidade e fertilidade dentro de plantas da linha macho-estéril, sugerindo que a planta polinizadora estava numa situação de heterozigose no loco *ms*, e que poderia, provavelmente, possuir citoplasma fértil. É possível que novas combinações Smsms e Nmsms possam ser identificadas dentro destes pares.

Algumas plantas, de alguns pares mais promissores, foram submetidas ao *screening* com os *primers* de DNA desenvolvidos para a identificação de plantas de citoplasma estéril e citoplasma fértil. Na Fig. 1 pode-se observar a ausência da amplificação nas linhas 16F1F1 e 16F1F2 e a presença nas contrapartes 16E1E1 e 16E1E2, corroborando os dados obtidos com o *screening* visual. Estes resultados são muitos promissores, uma vez que a parte mais difícil para a produção do híbrido de cebola amarela parece ter sido superada e que um híbrido experimental poderá estar disponível dentro de 18 meses.

LITERATURA CITADA

- DOWKER, B.D. Onion Breeding. In: Onions and Allied Crops. Rabinowitch, H. e Brewster, J.L. (ed.) CRC Press. v. I, 1990.
- ENGELKE, T.; TEREFE, D.; TATLIOGLU, T. A PCR-based marker system monitoring CMS-(S), CMS- (T) and (N)-cytoplasm in the onion (*Allium cepa* L.). Theor Appl Genet, 107:162–167, 2003

Figura 1. Gel de agarose com pares de plantas de cebola avaliados para presença ou ausência de citoplasma normal, segundo Engelke et al, (2003). Petrolina, PE, 2005.



AGRADECIMENTOS

Apoio financeiro do BNB-Etene-Fundeci