

# CRUZAMENTOS ARTIFICIAIS EM AVEIA<sup>1</sup>

PAULO FERNANDO BERTAGNOLLI<sup>2</sup> e LUIZ CARLOS FEDERIZZI<sup>3</sup>

**RESUMO** – O presente estudo teve como objetivo testar diferentes técnicas de cruzamentos artificiais em genótipos brasileiros de aveia (*Avena sativa* L.). Foram executados, em casa de vegetação, durante os anos de 1989, 1990 e 1991, cruzamentos comparando as técnicas de aproximação, flor cortada e flor aberta. O delineamento experimental utilizado no primeiro experimento foi o completamente casualizado, e nos outros três experimentos foi o de blocos completos ao acaso. As análises de variância foram realizadas utilizando os dados transformados de percentagem de grãos obtidos. Das técnicas testadas, a de aproximação foi superior em condições adequadas de temperatura; quando houve estresse, as técnicas não diferiram entre si.

Termos para indexação: genótipos, técnica de flor cortada, técnica de flor aberta, técnicas de aproximação.

## ARTIFICIAL CROSSES IN OAT

**ABSTRACT** – The present work aimed at testing different artificial cross techniques in Brazilian oat (*Avena sativa* L.) genotypes. Crosses comparing the approaching method, cut flower, and open flower techniques were made in a greenhouse during 1989, 1990, and 1991. A completely random design was used in the first experiment, and a randomized complete-block design was used in the other three experiments. Analyses of variance were made using the modified data from the percentage of grain obtained. Among the techniques tested, the approaching method was superior under adequate temperature. All techniques were similar under stress conditions.

Index terms: genotypes, artificial crosses, cut flower technique, open flower technique, approach technique.

## INTRODUÇÃO

A aveia é uma planta autógama; sua inflorescência é uma panícula, a qual consiste de um ramo principal que é continuação do caule e ramos laterais alternados de cada lado deste eixo principal. Cada ramo lateral é composto de diferentes espiguetas. Cada espiguetas tem de 1 a 3 flores, e cada flor contém três estames, um pistilo e duas lodículas. Cada flor detém de um lado a pálea e de outro a lema. A espiguetas é protegida pelas glumas ventral (mais longa) e dorsal. Uma

panícula é composta de mais de 50 espiguetas (Brown, 1980). A polinização natural começa das flores superiores para baixo e da ponta dos ramos laterais para dentro, normalmente ocorrendo dentro de três dias após a emergência da panícula. Na mesma espiguetas a antese ocorre antes na flor primária e depois na secundária. Segundo Frey & Caldwell (1961), as flores primárias das cinco flores mais da ponta da panícula florescem ao mesmo tempo e devem ser cruzadas no mesmo dia. A emasculação deve ser feita anteriormente à maturação das anteras, podendo ser realizada pela manhã e polinizada pela parte da tarde, ou então emasculada com antecedência de até três dias. Quando a flor for emasculada e polinizada, na mesma hora, precauções devem ser tomadas para comprovar na  $F_1$  ou  $F_2$  a ocorrência do cruzamento ou autofecundação.

Existem diferentes técnicas de cruzamento em aveia; as mais comuns são denominadas "técnica de aproximação", "da flor cortada" e "da flor aberta". Polinização pela mão, segundo McDaniel et

<sup>1</sup> Aceito para publicação em 2 de dezembro de 1993

Extraído do trabalho apresentado pelo primeiro autor à Fac. de Agron. da Univ. Fed. do Rio Grande do Sul (UFRGS), para a obtenção do título de doutor em Fitotec., na área de Genét. e Melhoramento Veg.

<sup>2</sup> Eng.-Agr., Dr., Melhorista e Geneticista da EMBRAPA, Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (CNPT), Caixa Postal 569, CEP 99001-970, Passo Fundo, RS.

<sup>3</sup> Eng.-Agr., Ph.D., Prof., Dep. de Plantas de Lavoura, Fac. Agron. - UFRGS, Caixa Postal 7712, CEP 96001, Porto Alegre, RS.

al. (1967), é um processo difícil, tedioso e de baixa eficiência. Já os métodos que usam cruzamentos por aproximação são bem mais efetivos e permitem ser praticados a qualquer hora do dia com número muito maior de flores trabalhadas por panícula.

Cada espiguetta usada como fêmea deve ser preparada adequadamente, segundo a técnica a ser adotada. Conforme McDaniel et al. (1967), a flor secundária deve ser destacada, e da flor primária são retiradas cuidadosamente as três anteras.

A fertilidade natural de grãos de pólen de aveia é dependente do genótipo. Conforme Bahl et al. (1987), esta viabilidade varia de 60 a 90%, o que indica, em alguns genótipos, uma considerável esterilidade.

Diversos trabalhos com gramíneas mostram os danos causados ao pólen pela alta temperatura. Estudando quatro espécies de trigo (*Triticum monococcum*, *T. durum*, *T. dicoccum* e *T. aestivum*), Jain & Rana (1963) observaram que quando as plantas eram submetidas a tratamento de  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ , apresentavam diversas anomalias, entre elas alguns distúrbios no arranjo metafásico, assinafase parcial, degeneração do material cromatínico, formação de micronúcleos e indução de esterilidade do pólen. Também Al' Tergot et al. (1978) comprovam distúrbios meióticos em *T. aestivum*, com a utilização de tratamento a altas temperaturas ( $37$  a  $45^\circ\text{C}$ ). Estes tratamentos efetuados nos estádios de alongamento do colmo, diferenciação da flor e meiose, resultaram em apreciável aumento na percentagem de distúrbios em células-mães de pólen, incluindo fragmentos, pontes e divisão celular assincrônica, com conseqüente redução da percentagem de pólen normal.

Tanto no trabalho de revisão de Brown (1980) quanto no de Frey & Caldwell (1961) a temperatura é citada como fator determinante para a obtenção de grãos de cruzamentos de aveia. Também McDaniel et al. (1967) consistentemente obtiveram bons resultados com temperaturas amenas e boas condições de umidade.

O ponto ideal de cruzamento é quando ocorre a antese, já que o pólen e o óvulo estão naturalmente receptivos. A antese, segundo Misonoo (1936), citado por Brown (1980), ocorre naturalmente pela parte da tarde, quando começa a de-

crescer a temperatura do dia. Isto é facilmente observado pela grande quantidade de pólen que se desprende das panículas quando levemente agitadas. A inflorescência feminina permanece receptiva desde um dia antes da antese até três a quatro dias após, encurtando este período conforme aumenta a temperatura. O pólen é mais abundante e de maior viabilidade durante a antese.

Este trabalho teve como objetivo específico testar diferentes técnicas de cruzamento artificial em genótipos brasileiros de aveia.

## MATERIAL E MÉTODOS

Foram executados, em casa de vegetação, durante os anos de 1989, 1990 e 1991, na Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, cruzamentos em aveia com três diferentes técnicas.

A casa de vegetação apresentava dois conjuntos de refrigeração, cada um deles acoplado a um ventilador gerando circulação de ar úmido. Associado a isto, nas horas mais quentes do dia, deixou-se água corrente espalhada sobre o piso, para conservar alta umidade dentro da casa de vegetação.

Quinze genótipos foram utilizados como pais em cruzamentos, servindo tanto de doadores quanto de receptores de pólen. Foram usados três vasos para cada genitor, por época de semeadura.

O solo utilizado foi classificado como Laterítico Bruno Avermelhado, distrófico, pertencente à unidade de mapeamento São Jerônimo (Brasil, 1973).

A semeadura de cada época, de um total de cinco para cada ano, foi feita de dez em dez dias, a partir de meados de abril. De cada genitor foram usadas dez sementes por vaso com capacidade de dez litros.

O desbaste foi feito posteriormente para três plantas por vaso. Para prevenir o acamamento, as plantas foram tutoradas e cercadas com barbantes.

No último ano de testes, em 1991, foi utilizado pólen das plantas cultivadas na casa de vegetação e pólen de plantas cultivadas no campo. Os resultados foram analisados separadamente. Panículas de genitores semeados no campo e utilizadas como machos eram cortadas e imediatamente transportadas para a casa de vegetação, acondicionadas em saco de plástico com água, e utilizadas como polinizadoras na mesma tarde da colta.

As análises de variâncias foram realizadas utilizando-se os dados transformados de percentagem de sementes obtidas. A transformação utilizada foi a raiz

quadrada da soma do dado coletado com um meio ( $\sqrt{x+0,5}$ ), conforme Stell & Torrie (1980)

O delineamento experimental utilizado no primeiro experimento foi o completamente casualizado, e nos outros três experimentos o delineamento utilizado foi o de blocos completos ao acaso.

Para a comparação entre médias foi utilizado o teste de Duncan, a 5%.

Foram testadas as técnicas de cruzamentos artificiais denominadas: "de aproximação", "de flor cortada" e "de flor aberta", conforme o seguinte procedimento:

**Aproximação** – Consiste na emasculação de flores de diferentes graus de maturação, de um a três dias antes da antese natural. A metade superior das flores era cortada com tesoura, incluindo as glumas, a palha e a lema, porém acima das anteras e dos estigmas. Após o corte das flores, as anteras eram retiradas com o auxílio de uma pinça. A polinização foi feita transportando vasos com paniculas do genitor masculino, em início de antese natural, e colocando-as sob um mesmo saco de plástico leve, furado e transparente. A panicula do genitor masculino ficava um pouco acima da panicula utilizada como fêmea. Ambas as paniculas permaneciam juntas por cinco dias. Diariamente, pela parte da tarde, eram realizadas batidas leves, com os dedos, nas paniculas, para facilitar a liberação do pólen.

**Flor cortada** – O processo físico de emasculação foi similar ao utilizado na técnica anterior. Diferiu daquele somente quanto ao estágio de desenvolvimento das flores que eram emasculadas aparentemente em estágio mais próximo à antese natural. As anteras eram retiradas, e, posteriormente, de um a três dias depois, conforme o desenvolvimento dos estigmas, era realizada a polinização manual, uma única vez.

**Flor aberta** – As flores eram abertas cuidadosamente, puxando para a frente a gluma ventral e a pálea, e, com a ajuda do dedo indicador, eram seguradas enquanto as anteras eram retiradas com o auxílio de uma pinça. Após, a flor era fechada novamente. A polinização, como na técnica anterior, foi realizada uma única vez, um a três dias após a emasculação, dependendo da plumosidade do estigma.

Todas as técnicas eram realizadas em paniculas diferentes de uma mesma planta ou de plantas do mesmo vaso com o mesmo estágio de desenvolvimento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve diferença significativa para as diferentes técnicas de cruzamento no experimento realizado em 1989, e na condição de pólen externo em

1991, como revelam os resultados na Fig. 1. Em 1990 e em 1991, com pólen oriundo da casa de vegetação, não houve diferenças significativas entre as técnicas utilizadas.

A "técnica de aproximação" revelou ser superior à "de flor cortada", em 1989, e na situação de pólen externo (1991-B) foi significativamente superior às técnicas "de flor aberta" e "de flor cortada" (Fig. 1).

A maior concentração de cruzamentos ocorreu da segunda quinzena de setembro até fins de novembro, pois a temperatura média das máximas

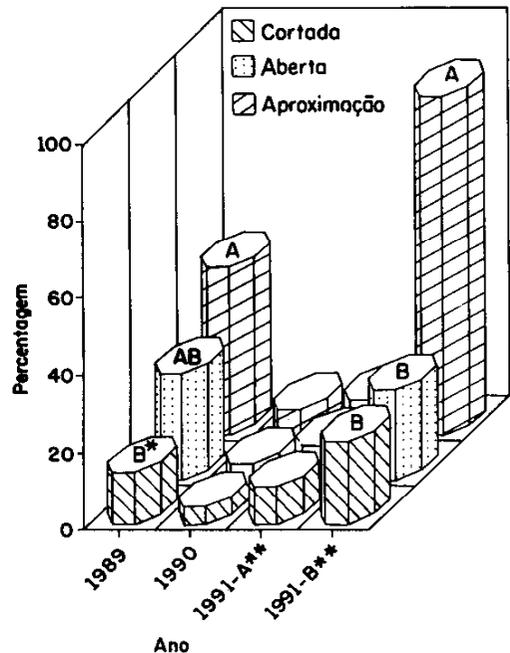


FIG. 1. Porcentagem de sementes obtidas pelas técnicas de cruzamentos de aveia de flor cortada, flor aberta e aproximação, nos anos de 1989, 1990 e 1991. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, RS, 1992.

\* Os valores seguidos da mesma letra, para as técnicas de cruzamentos, não diferem entre si pelo teste de Duncan, ao nível de significância de 5%.

\*\* 1991-A: cruzamentos efetuados com pólen oriundos da casa de vegetação; 1991-B: cruzamentos efetuados com pólen externo aos da casa de vegetação.

de outubro de 1989 foi de 23,9°C, enquanto que nos anos de 1990 e 1991, foi de 26,2°C (Tabela 1). Já a temperatura média das mínimas, para o mesmo mês, foi de 13,0°C em 1989, e de 16,8 e 15,8°C, para os anos de 1990 e 1991. Estes dados, coletados em abrigo meteorológico-padrão, revelam condições climáticas mais favoráveis para a obtenção de sementes de cruzamentos para o ano de 1989.

A temperatura dentro da casa de vegetação em 1991 chegou a alcançar valores superiores a 40°C (Tabela 2). Tal temperatura causou esterilidade masculina quase total, fazendo com que, independentemente da técnica utilizada, o número de sementes obtidas fosse reduzido. As mesmas plantas utilizadas como fêmeas, quando polinizadas com pólen externo aos da casa de vegetação, apresentaram um índice de pega muito maior, podendo diferenciar estatisticamente as técnicas. Estes resultados podem ser explicados pelo trabalho de Bahl et al. (1987), que relata que o pólen de aveia apresenta esterilidade naturalmente, e pelos trabalhos de Jain & Rana (1963) e Al' Tergot et al. (1978), os quais concluíram que altas temperaturas agravam a esterilidade natural, pois inviabilizam o pólen, devido a diversos distúrbios celulares, e impossibilitam a obtenção de sementes nos cruzamentos.

Os resultados revelaram maior eficiência da "técnica de aproximação". Estes resultados concordam com os obtidos por McDaniel et al. (1967), de acordo com os quais a pega por aproximação foi acima de 70%, contrastando com valores insignificantes observados na polinização a mão.

Na técnica da aproximação, o pólen, que é

abundante em uma panicula, cai continuamente, ao longo dos dias, devido à antese natural da panicula usada como genitor masculino. Já que a antese natural ocorre das flores mais velhas para as mais novas à medida que vão amadurecendo os órgãos reprodutivos, é esperado que flores de diferentes graus de maturidade tenham mais oportunidade de serem fertilizadas à medida que, estando receptivas, recebam maior quantidade de pólen apto.

Com condições adversas de ambiente, como nas situações de 1990 e 1991-A, não foi possível diferenciar as técnicas, devido ao baixo número de grãos formados. Este fato provavelmente decorreu da inviabilidade do pólen, porque, quando foi utilizado pólen externo à casa de vegetação (situação 1991-B), diferenças foram observadas entre as técnicas.

A diferença entre os métodos parece estar na abundância de pólen a atingir os estigmas e na coincidência em que as partes femininas e masculinas estejam maduras, aptas e receptivas. Segundo Frey & Caldwell (1961), apesar de um único grão de pólen fertilizar uma flor, é essencial uma grande quantidade para ocorrer a fertilização.

Quanto aos danos provocados nas flores pelas diferentes técnicas de emasculação, parecem não ser importantes, pois McDaniel et al. (1967) obtiveram boa pega em cruzamentos quando retirou glumas ou pálea, só tendo baixa percentagem de pega quando retirou ambas as glumas, a pálea e a lema, deixando o pistilo totalmente descoberto.

Diferenças ocorrem entre os genótipos, quanto ao momento ideal para a realização da emasculação. Para alguns genótipos, como por exemplo UFRGS 884095, a polinização ocorre antes de as

**TABELA 1.** Temperaturas médias das mínimas e das máximas mensais de Porto Alegre dos meses de setembro, outubro e novembro dos anos de 1989, 1990 e 1991. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, RS. 1992.

Meses	Temperaturas médias do mês em °C					
	1989		1990		1991	
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
Setembro	11,5	20,8	11,1	19,9	13,6	24,0
Outubro	13,0	23,9	16,8	26,2	15,8	26,2
Novembro	16,4	27,3	18,5	28,6	17,1	26,9

**TABELA 2. Temperaturas mínimas e máximas diárias da casa de vegetação dos meses de setembro, outubro e novembro de 1991. Faculdade de Agronomia/UFRGS, Porto Alegre, RS, 1992.**

Dias	Temperaturas médias do mês em °C					
	Setembro		Outubro		Novembro	
	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima	Mínima	Máxima
1			11	24	17	30
2			15	26	17	20
3			14	26	15	22
4			14	19	20	28
5			13	14	22	36
6			12	14	19	41
7			15	19	18	41
8			16	21	22	38
9			17	21	21	39
10			20	25	23	40
11			20	26	30	36
12			21	27	29	35
13			23	38	31	38
14			22	44	30	40
15			26	36	26	34
16			20	32	27	33
17	11	16	19	31	25	32
18	12	18	20	33	21	33
19	17	25	22	37	19	31
20	18	29	24	36	18	30
21	13	34	24	39	15	30
22	14	26	22	34	16	34
23	17	28	24	39	16	36
24	15	28	26	40	18	38
25	18	32	26	38	22	30
26	22	34	24	36	28	32
27	24	35	20	35	26	33
28	10	15	18	37	25	33
29	11	15	15	20	27	32
30	12	17	20	25	31	41
31			22	38		

flores emergirem da bainha. Neste caso, deve haver uma precaução em examinar detalhadamente as flores antes de ser realizado o cruzamento.

### CONCLUSÕES

1. A melhor técnica para a realização de cru-

zamentos artificiais em aveia foi a de aproximação; entretanto, quando ocorreram elevadas temperaturas, a percentagem de grãos obtida foi baixa, e não houve diferença entre as técnicas testadas.

2. Para se ter sucesso em cruzamentos artificiais de aveia, é necessário manter temperaturas amenas na casa de vegetação.

## REFERÊNCIAS

- AL'TERGOT, V. F.; MORDKOVICH, S. S.; FADEEVA, L. G. Heat damage in the development of the male gametophyte of spring wheat. *Fiziologia i Biokhimiya kul'turnykh Rastenii*, v.10, p.451-456, 1978.
- BAHL, A.; SINGH, S. O.; SINGH, C. B.; CAUR, P. M. Meiotic stability and pollen fertility in oat. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, New Delhi, v.57, n.7, p.500-502, 1987.
- BRASIL. Ministério da Agricultura. *Levantamento e reconhecimento dos solos do Estado do Rio Grande do Sul*. Recife, 1973. p.163. (MA. Boletim Técnico, 30).
- BROWN, C. M. Oat. In: FEHR, W. R.; HADLEY, H. H. (Ed.). *Hibridization of crop plants*. Madison: ASA-CSSA, 1980. Cap. 30, p.427-441.
- FREY, K. J.; CALDWELL, R. M. Oat breeding and pathologic techniques. In: COFFMAN, F. A. (Ed.) *Oats and oat improvement*. Madison: ASA, 1961. Cap. 8, p.227-231. (ASA. Agronomy, 8).
- JAIN, H. K.; RANA, R. S. Temperature sensitivity of chromosomes in diploid and polyploid species of wheat. *Nature*, London, v.200, p.499-500, 1963.
- McDANIEL, M. E.; KIM, H. B.; HATHCOCK, B. R. Approach crossing of oats (*Avena* spp). *Crop Science*, Madison, v.7, p.538-540, 1967.
- STEEL, R. G. D.; TORRIE, J. L. *Principles and procedures of statistics*. New York: MacGraw-Hill, 1980. 418p.