

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE AGRONOMIA
AGR99006 - DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

**Joana Paolazzi
00217215**

*“Melhoramento genético em espécies nativas com potencial ornamental no INTA –
Argentina.”*

PORTO ALEGRE, Abril de 2017.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
CURSO DE AGRONOMIA

Melhoramento genético em espécies nativas com potencial ornamental no
INTA – Argentina

Joana Paolazzi
00217215

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Engenheiro Agrônomo, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Supervisor de campo do Estágio: Dra. Gabriela Rosa Facciuto

Orientador Acadêmico do Estágio: Dr. Prof. Gilmar Schafer

COMISSÃO DE AVALIAÇÃO

Profa. Beatriz Maria Fedrizzi.....(Depto. de Horticultura e Silvicultura)

Profa. Magnólia Aparecida Silva da Silva.....(Depto. de Horticultura e Silvicultura)

Prof. Alberto Vasconcellos Inda Junior.....(Depto. de Solos)

Prof. Pedro Alberto Selbach.....(Depto. de Solos)

Prof. Fábio Kessler Dal Soglio.....(Depto. de Fitossanidade)

Profa. Carine Simioni.....(Depto. de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia)

Profa. Mari Lourdes Bernardi.....(Depto. de Zootecnia)

Profa. Carla Andrea Delatorre.....(Depto. de Plantas de Lavoura)

PORTO ALEGRE, Abril de 2017.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço à Deus e meus protetores por me proporcionarem tantas coisas boas na minha vida, e por estarem comigo quando ninguém poderia estar.

Agradeço aos meus pais, Marlene e Luis (*in memoriam*) por toda dedicação a mim e a meu irmão para que tivéssemos estudo. Ao meu irmão, Marciano, que sempre esteve ao meu lado, me apoiando, e me deu a Giulia como raio de luz na minha vida. Mãe e mano, não tenho palavras para expressar tudo o que sinto!

Ao meu namorado Bruce, que sempre que possível entendeu meus momentos de estresse e me sempre ajudou. Obrigada por me proporcionar coisas maravilhosas fora da faculdade. *I love you so much.*

À minha irmã do coração, Gabriela, por tudo que me proporcionou até hoje e por entender minhas ausências um tanto quanto seguidas. Obrigada por me apresentar a tua família, que hoje é como se fosse minha, e por confiar a mim a Alice, um anjinho em forma de pessoa.

À minha cunhada Gabriela, pela compreensão.

Aos meus familiares que sempre estiveram me apoiando, que entenderam a minha ausência em alguns momentos e por toda a força que me deram por todo esse tempo. O meu muito obrigada aos meus avós maternos, Francisco e Venilde, ao meu padrinho de batismo Rogério, e às madrinhas Dirce e Santina, por todo amor e carinho. À minha prima Joelma, por todos os momentos que me proporcionou nesse estágio. Não há palavras ou gestos para expressar tudo o que me proporcionou ou o que senti.

Gostaria de agradecer à minha orientadora Dra. Gabriela Rosa Facciuto, pelos ensinamentos, dedicação, paciência e todo o carinho por esse tempo que passamos juntas. Mas principalmente, agradeço eternamente o acolhimento que tive no Instituto de Floricultura – INTA Castelar.

Gostaria de agradecer ao pessoal da Floricultura – UFRGS. Obrigada por tudo! Também gostaria de agradecer por terem insistido para eu ir fazer o estágio no INTA. Foi uma experiência incrível!

Agradeço ao Prof. Dr. Gilmar Schafer, meu orientador acadêmico pela dedicação, paciência e ensinamentos, e aos demais mestres pelos ensinamentos ao decorrer destes 5 anos.

Aos meus amigos da faculdade, obrigada pelos momentos dentro e fora da sala de aula, mas principalmente os de descontração. Vocês são demais!

RESUMO

O presente trabalho apresenta as atividades desenvolvidas no estágio curricular obrigatório, o qual foi realizado no Instituto de Floricultura, pertencente ao Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – INTA, na cidade de Hurlingham, Argentina, no período de verão de 2017. O objetivo principal do estágio foi o acompanhamento e realização de atividades relacionadas ao melhoramento genético de plantas ornamentais e um ensaio de instalação de telhados verdes com a utilização de espécies nativas com potencial ornamental. O estágio proporcionou aprendizado, experiência e crescimento profissional e pessoal.

LISTA DE TABELAS

	Página
1. Código de cada planta segundo o dia de coleta, porcentagem de grãos de pólen viáveis (%) e de grãos de pólen não viáveis (%), testada em <i>Alstroemeria aurea</i> e <i>A. psittacina</i> , e em um híbrido obtido pelo Instituto de Floricultura – INTA. Hurlingham, 2017.....	19
2. Dias após polinização (DPP), número de cruzamentos, média de óvulos por ovário, número de sementes germinadas, número de plântulas normais, cálculo da eficiência reprodutiva (CER) com número de sementes germinadas, cálculo da eficiência reprodutiva (CER) com número de plântulas normais em cinco diferentes variedades comerciais de <i>Alstroemeria</i> utilizadas como genitoras femininas nos cruzamentos dirigidos. Hurlingham, 2017	20

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Esquema do programa de melhoramento genético com utilização de espécies nativas no INTA	17
2. Fluxograma do melhoramento genético no gênero <i>Alstroemeria</i> , com utilização de espécies nativas, aplicado no Instituto de Floricultura	18
3. Visualização em microscópio óptico de pólen viável (Vi) e não viável (N.Vi) da espécie nativa <i>A. psittacina</i> , através da técnica de coloração com a solução de Alexander. Hurlingham, 2017	19
4. Visualização de cromossomos em microscópio óptico. A) Cromossomos de <i>A. psittacina</i> (20091009B1) em mitose, com 16 cromossomos; B) Cromossomos em meiose do híbrido 20130927X2, destacando, em azul, cromossomos fora de placa, indicando anormalidades meióticas. Hurlingham, 2017	21
5. Cruzamentos dirigidos em <i>Alstroemeria</i> . A) Flor da variedade comercial Costa Azul; B) Retirada de pétalas e anteras; C) Polinização com <i>A. psittacina</i> ; D) Rama estigmática com deposição de pólen. Hurlingham, 2017.....	22
6. Representação das diferentes técnicas de polinização em <i>Alstroemeria</i> . A) No período de pré-antese: (1) Corte no meio do estilete, e (2) Corte de todo o estilete; B) No período de antese e pós-antese: (1) Sem corte no estilete, (2) Corte no meio do estilete, e (3) Corte de todo o estilete. Hurlingham, 2017.....	23
7. Visualização do crescimento de tubos polínicos no gênero <i>Alstroemeria</i> sob as diferentes técnicas de polinização. A) Grão de pólen germinado; B) Tubos polínicos no estilete, sendo considerados normais; C) Tubo polínico no ovário. Hurlingham, 2017	24
8. Composição estrutural do telhado verde. Hurlingham, 2017	25

SUMÁRIO

	Página
1. Introdução	8
2. Caracterização da Região	9
2.1 Localização	9
2.2 Situação socioeconômica	9
2.2.1 Importância da floricultura na Argentina	9
2.3 Solo, Clima e Ecossistemas	10
3. Caracterização do Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)	11
4. Referencial teórico	11
4.1 O gênero <i>Alstroemeria</i> L	11
4.2 Melhoramento genético	12
4.2.1 Híbridação	13
4.2.2 Cálculo da Eficiência Reprodutiva	13
4.2.3 Viabilidade de pólen	14
4.2.4 Crescimento de tubos polínicos com diferentes técnicas de polinização	15
4.2.5 Citogenética (mitose e meiose)	15
5. Atividades Realizadas	16
5.1 Melhoramento genético no gênero <i>Alstroemeria</i> L	16
5.1.1 Seleção preliminar de pais	18
5.1.1.1 Viabilidade de pólen	18
5.1.1.2 Cálculo da Eficiência Reprodutiva	19
5.1.1.3 Avaliação citogenética	20
5.1.2 Cruzamentos dirigidos	21
5.1.2.1 Crescimento de tubos polínicos com diferentes técnicas de polinização	22
5.2 Outras atividades	24
5.2.1 Demais atividades ligadas ao melhoramento genético	24
5.2.2 Telhados verdes com utilização de espécies nativas	25
6. Discussão	26
7. Considerações finais	28
Referências	29
Anexos	32

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, as flores e plantas ornamentais vêm ganhando um espaço considerável no mercado, visto que as pessoas vêm decorando suas casas, os escritórios, ou até mesmo fazendo jardins mais sofisticados, o que torna os ambientes mais convidativos. Além disso, algumas espécies melhoram a qualidade do ar, diminui o estresse e melhoram o ânimo das pessoas (MORISIGUE et al., 2012).

No Brasil não existe um sistema legal de comercialização de espécies nativas. Esse fato acaba por acarretar num comércio ilegal das mesmas, como as bromélias e orquídeas, que são cotadas para o comércio exterior, principalmente Japão e Europa. A floricultura entra nesse espaço com uma função ecológica, a fim de preservar estas espécies através da domesticação e comércio das mesmas, evitando a extração (TERRA e ZUGE, 2013).

A maioria das espécies comercializadas como flores ou plantas ornamentais é exótica, tanto na Argentina como no Brasil. Entretanto, é importante salientar que tanto a Argentina quanto o Brasil possuem uma grande diversidade biológica, devido seus diversos habitats e climas. Esta diversidade é ainda pouco aproveitada, podendo ser explorada por meio de pesquisas e melhoramento genético, visto que a atividade florícola argentina, assim como a brasileira, depende de variedades estrangeiras, implicando em pagamento de *royalties*. Se for possível criar novas cultivares ou substituir as plantas ornamentais, não há a necessidade de pagar os *royalties*, utilizando espécies mais adaptadas aos nossos ambientes.

O estágio curricular obrigatório foi realizado no Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria – INTA, no Instituto de Floricultura, no município de Hurlingham, Província de Buenos Aires, Argentina. O mesmo desenvolveu-se no período de 04 de janeiro a 24 de fevereiro de 2017, sob supervisão da Pesquisadora Eng^a. Agr. Dr^a. Gabriela Rosa Facciuto e orientação acadêmica do Professor Eng^o. Agr. Dr. Gilmar Schäfer.

O objetivo do estágio foi acompanhar, principalmente, as atividades de pesquisa no ramo do melhoramento genético no gênero *Alstroemeria*, participando de atividades como cruzamentos dirigidos, estudos de viabilidade de pólen, crescimento de tubos polínicos com diferentes técnicas de polinização, contagem de óvulos para o cálculo de eficiência reprodutiva, avaliação citogenética de algumas entradas da coleção (mitose e meiose). Também foi possível participar de um ensaio de indução de poliploidia por tratamento de sementes com agentes mutagênicos, da avaliação colorimétrica de flores de híbridos obtidos e progenitores, manutenção da coleção de plantas, coleta de germoplasma em uma reserva

natural urbana, visita a estabelecimentos produtivos e de comercialização de plantas ornamentais, e na implantação de um experimento de telhados verdes.

2. CARACTERIZAÇÃO DA REGIÃO

2.1 Localização

O Instituto de Floricultura pertence ao Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) e está localizado no município de Hurlingham, pertencendo à Província de Buenos Aires, Argentina. A província de Buenos Aires possui uma área física de 307.571 km² (INDEC, 2014), contando com aproximadamente 15.625.084 habitantes (INDEC, 2010). O município de Hurlingham possui uma área física de 36 km², contando com aproximadamente 181.241 habitantes (HURLINGHAM, 2010) e fica localizado a aproximadamente 32 km da Cidade de Buenos Aires.

2.2 Situação Socioeconômica

A Argentina possui uma população de 43,42 milhões de habitantes. A economia argentina é bastante diversificada, onde o Produto Interno Bruto (PIB) de 2015, no valor de 583,2 bilhões de dólares, crescendo 2,4% anual, foi incrementado por diversos setores (BANCO MUNDIAL, 2017).

2.2.1 Importância da floricultura na Argentina

A floricultura argentina possui diversas regiões produtoras e com uma ampla gama de diversidade de espécies cultivadas, uma vez que seu clima também é bastante amplo. O cultivo pode se dar a céu aberto ou em estufas. A implantação de estufas vem crescendo bastante na área de flores e plantas ornamentais, pois permite o cultivo de espécies de maior valor, como gérbera e lírio, além da produção em períodos inverniais, cujo tem um preço maior no mercado. A Província de Buenos Aires é a zona tradicional de produção, tanto de flores de corte quanto de vasos. A produção em escala comercial data dos anos 20 do século 20. Nos entornos da Cidade de Buenos Aires se encontra ao redor da metade dos produtores do país (MORISIGUE et al., 2012).

A superfície total a que se destina á floricultura é de aproximadamente 1940,55 ha em todo o país. Disso, aproximadamente 1541,91 ha são destinados a cultivo a campo (79,5%), 346,06 ha para cultivo em estufas (17,8 %), e 52,58 ha para cultivo em “umbráculos”, o qual seria uma espécie de estufa escura (2,7 %). A Província de Buenos Aires é uma das regiões de maior produção, contando com 911,26 ha de área cultivada com plantas ornamentais, onde a maior parte se concentra com cultivos a campo, com 774,94 ha (85%) e 116,66 ha em estufas (12,8%) (INTA e JICA, 2003).

É importante salientar que o comércio de espécies nativas melhoradas vem crescendo na Argentina, graças aos estudos que o INTA vem desenvolvendo neste ramo. Isso porque muitas variedades comercializadas por empresas privadas, mesmo que utilizem espécies nativas da América do Sul como progenitoras, são desenvolvidas para climas diferentes dos que são submetidas na Argentina ou Brasil. Assim, com um programa de melhoramento com as espécies nativas, além de não pagar *royalties* para as empresas privadas, têm-se um produto adaptado para os ambientes dos referidos países. Além disso, o INTA, desenvolvedor da variedade, e a província a qual é extraída a espécie nativa utilizada no programa de melhoramento, receberão um pagamento, ficando dentro do país o dinheiro e estimulando a criação de novas variedades (GREPPI, 2013; PAKOCA, 2014).

2.3 Solo, Clima e Ecossistemas

Segundo a Classificação Americana de Solos, os solos argentinos podem ser classificados como: Vertisoles, Alfisoles, Molisoles, Entisoles, Aridisoles, Andisoles e Espodosoles, Oxisoles e Ultisoles, Roca aflorante, Histosoles, e Gelisoles. Na província de Buenos Aires, há a predominância de solos Molisoles, Vertisoles, Alfisoles e Aridisoles (PANIGATTI, 2010).

Na Argentina há uma grande variedade de climas. Segundo a classificação de *Köppen-Geiger*, tendo maior predominância de subtropical úmido (Cfa), árido frio (BWk), semi-árido frio (BSk), entre outros. Na Província de Buenos Aires, o clima é caracterizado como Cfa e Cfb (temperado marítimo úmido) (PEEL et al., 2007).

Os ecossistemas da Argentina estão compostos por diversas ecoregiões, dentre elas estão: Altos Andes, Puna, Monte de Sierras y bolsones, Selva de lãs Yungas, Chaco seco, Chaco húmedo, Selva paranaense, Esteros del Iberá, Campos y Mazelales, Delta y Islas Del Parana, Espinal, Pampa, Monte de Llanuras y Masetas, Estepa patagónica, Bosques

patagônicos, e Islas del Atlantico Sur. Já a vegetação da Província de Buenos Aires é composta por campo de Espinais e Pampa (PANIGATTI, 2010).

3. CARACTERIZAÇÃO DO INSTITUTO NACIONAL DE TECNOLOGÍA AGROPECUARIA (INTA)

O INTA é uma das principais instituições de pesquisa agropecuária no país, e é dependente do Ministério de Agroindústria da Nação. Teve sua criação em 1956, e desde então desenvolve ações de investigação e inovação tecnológica a fim de melhorar a competitividade e o desenvolvimento rural sustentável do país. A instituição está localizada nas seguintes regiões: Noroeste, Nordeste, Cuyo, Pampeana e Patagonia. Possui uma estrutura que compreende uma sede central, 15 centros regionais, 52 estações experimentais, seis centros de investigação, 22 institutos de investigação e mais de 350 Unidades de Extensão (INTA, 2017).

O Instituto de Floricultura é um instituto de investigação, dependente do Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIRN), está localizado no município de Hurlingham e pertence à Província de Buenos Aires. É a única unidade especializada no país na área de floricultura e de referência em programas de melhoramento genético na América Latina. Sua atividade se estende a todas as zonas florícolas, trabalhando conjuntamente com as Estações Experimentais Agropecuárias do INTA e com as Agências de Extensão Rural, localizadas nas diferentes zonas produtoras (ANEXO A). As atividades do Instituto de Floricultura se desenvolvem em torno das seguintes áreas: melhoramento genético de plantas ornamentais, manejo de cultivos, gestão da produção, fitopatologia, propagação e pós-colheita. Possui uma superfície de cinco hectares (ha), onde se encontram 23 estufas ou casas de vegetação e campo experimental, quatro laboratórios (microscopia, marcadores moleculares, cultivo *in vitro*, e análise de substrato e água) e mais algumas instalações diversas (INSTITUTO DE FLORICULTURA INTA, 2017).

4. REFERENCIAL TEÓRICO SOBRE MELHORAMENTO DE PLANTAS ORNAMENTAIS COM UTILIZAÇÃO DE ESPÉCIES NATIVAS DO GÊNERO *Alstroemeria* L.

4.1 O gênero *Alstroemeria* L.

O gênero *Alstroemeria* L. é nativo da América do Sul e compreende aproximadamente 50 espécies. As espécies desse gênero podem ser encontradas na Venezuela, Brasil, Argentina, Peru, Chile, Bolívia, Paraguai e Uruguai (SANSO, 1996), podendo ocorrer, portanto, em diversos ambientes, como matas, campos, regiões desérticas ou encostas rochosas, até cerca de 3.700 metros (m) de altitude (UPHOF, 1952 apud TOMBOLATO et al., 1991). Podem-se encontrar espécies nativas do Brasil florescendo durante todos os meses do ano, raramente em agosto, porém mais frequentemente durante os meses quentes do ano, ou seja, de novembro a março (TOMBOLATO et al., 1991).

A altura das espécies desse gênero pode variar de poucos centímetros até 1,2 m de altura. Além disso, são herbáceas perenes, possuindo reserva de amido nas raízes e numerosas hastes, que são eretas, podendo ser vegetativas ou reprodutivas. As folhas são alternas, a inflorescência é do tipo umbeliforme, e as flores são zigomorfas, coloridas, normalmente com pontuações mais escuras nas pétalas internas, possui seis estames, levemente curvados, e geralmente desiguais em tamanho. O ovário é trilocular e o fruto é uma cápsula loculocida, de cor verde quando imaturo e marrom quando maduro, e com sementes globosas (TOMBOLATO et al., 1991; SANSO, 1996; DE ASSIS, 2013). O aspecto ornamental e a grande durabilidade das flores após o corte é o que faz esse gênero ser tão importante ornamentalmente (SANSO, 1996).

Segundo Sanso (1996), a *Alstroemeria psittacina* Lehmann é originária do sudeste do Brasil, nordeste do Paraguai e nordeste da Argentina, nas províncias de Misiones, Corrientes, Entre Ríos e Buenos Aires (ANEXO B). Habita lugares úmidos, mas em geral sob a sombra de árvores. Floresce desde novembro a março, e frutifica entre dezembro e março. Pode ser encontrada no Brasil, nos estados do Paraná e Rio Grande do Sul (municípios de São Salvador, atual Salvador do Sul, Pareci Novo, e na costa do Rio Guaíba). Possui como nome comum: em espanhol “*flor de papagayo*” ou “*nardo del campo*” (SANSO, 1996) e em português “lírio-dos-incas” (FLORA DIGITAL, 2017).

4.2 Melhoramento genético

É comum, para as plantas ornamentais, fazer a hibridação interespecífica com o intuito de gerar variabilidade genética¹.

¹ OHRI and KHOSHOO, 1983; VAN EIJK et al., 1991; RAMANNA, 1992; VAN CREIJ et al., 1993 apud VAN TUYL e DE JEU, 1997, cap. 13.

No gênero *Alstroemeria*, as cultivares e híbridos obtidos até hoje normalmente são resultados de mutações por raios-x, de seleção artificial, mas principalmente por hibridação interespecífica. *Alstroemeria aurea* Graham e *A. psittacina* são algumas das espécies nativas utilizadas para cruzamentos com a finalidade de obter os híbridos comerciais e cultivares (JEU et al., 1992 apud SANSO, 1996). Segundo Pakoca (2014), pelo fato de as variedades serem desenvolvidas por empresas privadas, as informações de quais cruzamentos geraram a variedade não são publicadas, sendo impossível afirmar que todas as variedades comerciais são provenientes de cruzamentos interespecíficos.

Atualmente se busca variedades de alstroemérias que tenham diferentes tamanhos e cores de inflorescências, boa pós-colheita, hastes mais grossas, compridas e rígidas, menor requerimento de baixa temperatura do solo para produzir hastes e maior tolerância ao calor, períodos de floração mais extensos, estabilidade para multiplicação vegetativa *in vitro* e resistência a viroses (FACCIUTO et al., 2016).

4.2.1 Hibridação

A hibridação consiste na fusão de gametas geneticamente diferentes, resultando em indivíduos híbridos heterozigóticos. A hibridação é realizada com cruzamentos artificiais, o qual é um procedimento bastante simples. De modo geral, a técnica consiste na emasculação da flor a ser utilizada como genitor feminino, antes que o estigma esteja receptivo ao pólen da mesma flor. A retirada das anteras varia conforme as espécies. Posteriormente, coleta-se o pólen da flor a ser utilizada como genitor masculino e aplica-se sobre o estigma da mãe ou genitora feminina (BORÉM e MIRANDA, 2013).

Segundo Pakoca (2014), é comum a ocorrência de protandria no gênero *Alstroemeria*, sendo, portanto, obrigatória a fecundação cruzada. O mesmo autor relata que se realizam os cruzamentos emasculando as flores antes que ocorra a antese, retirando as pétalas (corola) e anteras a fim de evitar a atração de polinizadores. O estigma se encontra receptivo para fazer a polinização quando o mesmo está tripartido e com gotas de exsudato, o qual pode demorar alguns dias após a emasculação.

4.2.2 Cálculo da Eficiência Reprodutiva (CER)

O cálculo da eficiência reprodutiva (CER) é uma ferramenta utilizada no melhoramento genético. Tem como objetivo conhecer o resultado final da percentagem de frutos e sementes, diminuindo o tempo gasto em cruzamentos incompatíveis, uma vez que relaciona o número de sementes produzidas com o número de sementes esperadas (CONAGIN e CONACIN, 1960). O resultado final mostra que, quanto maior a CER, melhor será a espécie ou híbrido utilizado como genitor feminino (melhor mãe em cruzamentos), sendo descartadas, portanto, os genitores femininos com baixos valores de CER. Isso porque no cálculo está relacionado o número de óvulos cujos embriões germinaram, a respeito do total de óvulos envolvidos na polinização, considerando todos os cruzamentos da combinação avaliada, e utilizando a média de óvulos por ovário do genitor feminino (considerando um número mínimo de 10 flores) (PAKOCA, 2014).

$$CER = \frac{N^{\circ} \text{ embriões germinados}}{(N^{\circ} \text{ polinizadores} * \text{média óvulos por ovário})} * 100$$

4.2.3 Viabilidade de pólen

As análises da viabilidade de pólen são importantes para investigar ou estimar a infertilidade das plantas e podem ser necessárias em algumas situações, visto que vários fatores externos podem interferir na viabilidade do pólen, como umidade relativa do ar, temperatura, percentagem de gás carbônico na atmosfera e pressão de oxigênio. Além disso, fatores genéticos também podem interferir, como anormalidades meióticas. A viabilidade polínica pode ser realizada por diferentes métodos. Estes testes utilizam corantes químicos que reagem com os constituintes celulares presentes no pólen maduro (GREISSL, 1989; PAGLIARINI e POZZOBON, 2005).

Pakoca (2014) encontrou valores diferentes em testes de viabilidade de pólen. O mesmo autor cita que as variedades comerciais de *Alstroemeria* (que podem ser resultados de cruzamentos interespecíficos e são dados confidenciais das empresas) na sua grande maioria são normalmente estéreis (pelo fato de ter um nível de ploidia diferente do comumente encontrado nas espécies nativas, ou também pelo fato de ocorrerem barreiras pré e pós-zigóticas); característica desejada por melhoristas pelo fato de proteger “naturalmente” a variedade. Também destaca que, quando os testes resultavam em valores menores que 35% de viabilidade de pólen, a espécie ou variedade é utilizada como genitora feminina no programa de melhoramento. As espécies ou variedades cujos valores são encontrados como sendo

maiores que 35% de pólen viável são utilizados como genitores masculinos. Esta foi a classificação feita pelo autor para algumas entradas da coleção de *A. psittacina* e a variedade comercial Belvedere.

4.2.4 Crescimento de tubos polínicos com diferentes técnicas de polinização

O crescimento de tubos polínicos provém da germinação do grão de pólen, e esse crescimento é através da deposição de calosa seguindo em direção ao óvulo para fertilizá-lo (PAKOCA, 2014). Um tubo polínico dito “normal” se identifica pela característica de deposição de calosa com diâmetro regular e trajetória reta. Já nos tubos polínicos anormais, a deposição de calosa é irregular, com trajetória serpeante e com diâmetros variáveis, e podem ser resultados de incompatibilidade entre os progenitores (FERNANDO e CASS, 1997). A incompatibilidade entre progenitores pode ser identificada na pré ou pós-polinização, impedindo a hibridação interespecífica (VAN TUYL e DE JEU, 1997).

Os autores Van Tuyl e De Jeu (1997) citam que a aplicação da polinização *in vitro*, juntamente com outros métodos de polinização, combinados com o resgate de embriões, são ferramentas muito poderosas as quais possibilitam a quebra de barreiras de pré e pós-polinização.

Dentre os métodos citados acima, o método de polinização de estilete cortado é uma das ferramentas que pode ser utilizada para quebrar as barreiras de cruzamento na pré-polinização no gênero *Alstroemeria* e consiste na remoção do estigma e de uma parte ou de todo o estilete, realizando a polinização na extremidade cortada (VAN TUYL e DE JEU, 1997).

4.2.5 Citogenética (mitose e meiose)

A avaliação citogenética é uma das ferramentas dentro do melhoramento genético que pode ser utilizada para saber quem são os genitores das variedades já existentes e qual espécie nativa foi utilizada para tal cruzamento. Os dados que permitem identificar os genitores não são expostos, pelo fato de a maioria das variedades existentes de *Alstroemeria* terem sido desenvolvidas por empresas privadas (TSUCHIYA et al., 1987).

Tsuchiya et al. (1987) relataram que, devido a um híbrido (variedade comercial) de *Alstroemeria ligtu* formar um conjunto de sementes viáveis, presume-se que esse híbrido deve ser fértil e é esperado que seja citologicamente estável, com um número de cromossomos

diplóides de $2n=16$. Além disso, foi encontrado em diversas espécies nativas o número cromossômico de $2n=16$, sendo, portanto, o número básico de cromossomos $n=8$.

Hang e Tsuchiya (1988) realizaram um estudo com diferentes variedades de *Alstroemeria* e encontraram variedades diploides ($2n=16$), triploides ($2n=24$), e tetraploides ($2n=32$). Dentro do mesmo estudo foram encontradas aneuploidias como, por exemplo, a variedade Luciana, que é tetraploide, porém possui 31 cromossomos.

Alterações cromossômicas podem desencadear anormalidades meióticas, o qual pode afetar na viabilidade do pólen. Nesse caso, pode ser visualizado na divisão meiótica ou ainda na tétrade de micróspora (PAGLIARINI e POZZOBON, 2005).

5. ATIVIDADES REALIZADAS

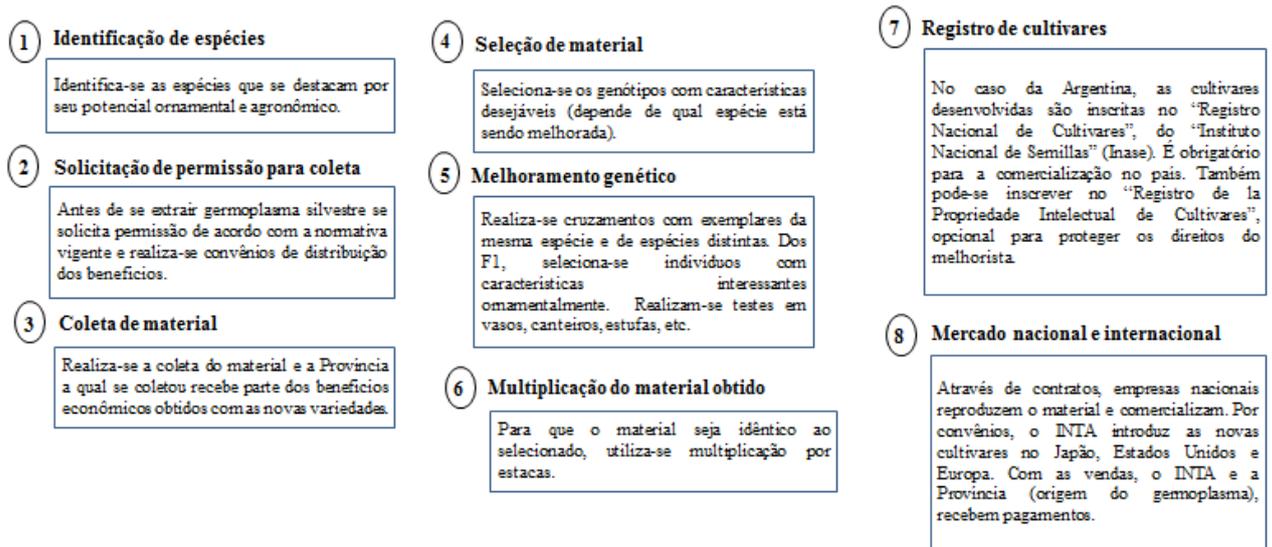
O objetivo do estágio foi acompanhar a vivência das atividades diárias de um melhorista genético, como a coleta de germoplasma e melhoramento genético propriamente dito, além de acompanhar a visita a produtores de mudas de espécies nativas melhoradas pelo INTA. As atividades realizadas consistiram principalmente em melhoramento genético no gênero *Alstroemeria*, implantação de um experimento de telhados verdes, utilizando espécies nativas e exóticas, realização de visitas a estabelecimentos produtivos e de comercialização de plantas ornamentais, coleta de germoplasma em uma reserva natural urbana, manutenção da coleção de plantas nativas e variedades comerciais em estufa, coleta de frutos e indução de poliploidia em sementes com tratamento de colchicina e sua posterior germinação em sementes do gênero *Alstroemeria*.

5.1 Melhoramento genético no gênero *Alstroemeria* L.

O programa de melhoramento genético é bastante longo (Figura 1), podendo demorar aproximadamente 10 anos até a obtenção de uma variedade. No decorrer do estágio, pôde-se acompanhar e realizar a coleta de germoplasma de *A. psittacina* na Reserva Natural Urbana, localizada no município de Morón, na Província de Buenos Aires (Item 3). Dentre as atividades, foi possível participar ativamente no melhoramento genético propriamente dito no gênero *Alstroemeria* (Item 5). Além disso, teve-se a oportunidade de visitar estabelecimentos comerciais de plantas ornamentais, como, por exemplo, a empresa Geoplant®. A empresa Geoplant® firmou um contrato com o INTA para multiplicar por meio de estaquia as

variedades desenvolvidas no Instituto de Floricultura, e realizar sua posterior comercialização (Item 8). Essa empresa comercializa para todo o país variedades do gênero *Glandularia*, *Mecardonia* e *Calibrachoa*.

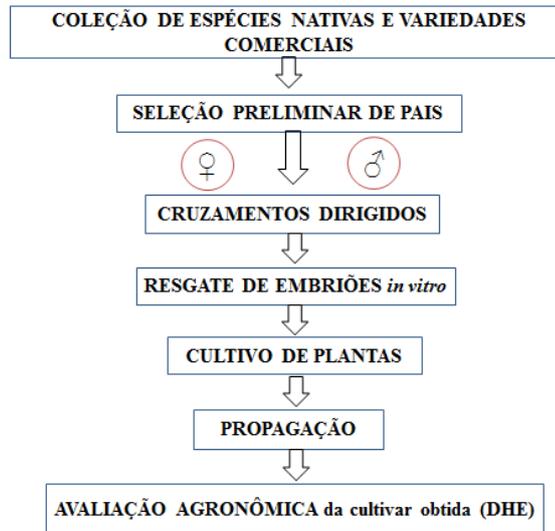
Figura 1 – Esquema do programa de melhoramento genético com utilização de espécies nativas no INTA.



Fonte: GREPPI, 2013.

O melhoramento genético propriamente dito (Item 5) possui diversas etapas (Figura 2), onde primeiramente deve-se estabelecer uma coleção de espécies nativas e de variedades comerciais, as quais ficam em uma estufa. As coleções de plantas matrizes de diversas espécies ficam em uma casa de vegetação climatizada. Nessa casa de vegetação, são mantidas plantas que são utilizadas para a propagação e para montar uma coleção, plantas que terão uma aclimação no ambiente externo ao laboratório ou híbridos recém-obtidos, entre outras.

Figura 2 – Fluxograma do melhoramento genético no gênero *Alstroemeria*, com utilização de espécies nativas, aplicado no Instituto de Floricultura.



Fonte: FACCIUTO et al., 2016.

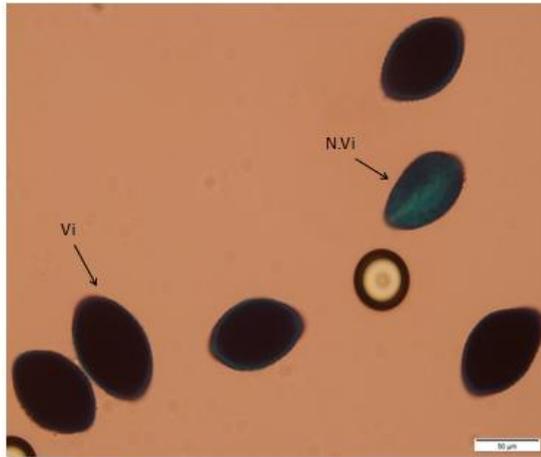
5.1.1 Seleção preliminar de pais

5.1.1.1 Viabilidade de pólen

Pôde-se acompanhar e realizar o teste de viabilidade de pólen em plantas de *Alstroemeria* utilizadas como genitores masculinos. Para isso, foram realizadas coletas de grãos de pólen das anteras da planta desejada (híbrido, variedade comercial ou espécie nativa) colocando-os sobre uma lâmina com a solução de Alexander (ALEXANDER, 1969). O reativo de Alexander, por ser formado pelos corantes fucsina ácida e verde de malaquita, produz uma coloração diferencial entre grãos de pólen viáveis e inviáveis. A celulose na parede celular do pólen reage com o verde de malaquita produzindo uma cor azul-esverdeada, enquanto o protoplasma reage com a fucsina ácida produzindo uma cor púrpura avermelhada (ALEXANDER, 1980). Os grãos de pólen viáveis são aqueles que vão conseguir germinar e formar o tubo polínico no pistilo, chegando ao ovário e fertilizando o óvulo, já os grãos de pólen não viáveis não conseguem nem germinar. A visualização dos grãos de pólen foi realizada em microscópio óptico OLYMPUS BX 50 (Figura 3) e a viabilidade de pólen foram testadas em duas espécies nativas e em um híbrido obtido no INTA. O número amostral não foi considerado pelo fato de serem apenas demonstrativos os procedimentos de realização deste teste. Porém, foi realizada a contagem de pelo menos 300 grãos de pólen em cada lâmina realizada. O resultado nos mostra que as espécies nativas *A. aurea* e *A. psittacina* possuem maior viabilidade de pólen, quando comparado ao Híbrido INTA (Tabela 1). O

híbrido foi obtido a partir de um cruzamento entre a variedade comercial Belvedere (genitor feminino) e a espécie nativa *A. psittacina* (genitor masculino).

Figura 3 – Visualização em microscópio óptico de pólen viável (Vi) e não viável (N.Vi) da espécie nativa *A. psittacina*, através da técnica de coloração com a solução de Alexander. Hurlingham, 2017.



Fonte: Paolazzi, Joana.

Tabela 1. Código de cada planta segundo o dia de coleta, porcentagem de grãos de pólen viáveis (%), e porcentagem de grãos de pólen não viáveis (%), testada em *Alstroemeria aurea* e *A. psittacina*, e em um híbrido obtido pelo Instituto de Floricultura – INTA. Hurlingham, 2017.

Espécie	Código	Viáveis (%)	Não viáveis (%)
<i>A. aurea</i>	20170118D1	86,30	13,70
<i>A. aurea</i>	20170120E1	97,40	2,60
Híbrido INTA	20130927X2	19,13	80,87
<i>A. psittacina</i>	20091009B1	83,65	16,35
<i>A. psittacina</i>	20090602A4	91,87	8,13

Fonte: Paolazzi, Joana.

5.1.1.2 Cálculo da Eficiência Reprodutiva

Para realizar o cálculo da eficiência reprodutiva, necessitou-se abrir os ovários de pelo menos dez flores de plantas da coleção de *Alstroemeria* (variedades comerciais: Himalaya, Belvedere, Virginia, Cartagena e Costa Azul) que se deseja obter os dados, contar o número de óvulos, e por fim fazer uma média. Após, com uma base de dados já existentes, utilizaram-se os mesmos procedimentos utilizados por PAKOCA (2014).

Realizou-se o cálculo da CER a partir de sementes germinadas (coluna CER (%)), e posteriormente com as plântulas normais formadas (CER com plântulas (%)), pois a semente germinada pode não desenvolver e formar uma plântula, morrendo antes disso. O resultado da CER nos mostra que o genitor feminino que possui maior CER é uma das variedades que será

a melhor mãe, tendo uma eficiência reprodutiva superior, produzindo mais sementes ou mais plântulas (Tabela 2).

Tabela 2. Dias após polinização (DPP), número de cruzamentos, média de óvulos por ovário, número de sementes germinadas, número de plântulas normais, cálculo da eficiência reprodutiva (CER) com número de sementes germinadas, cálculo da eficiência reprodutiva (CER) com número de plântulas normais, em cinco diferentes variedades comerciais de *Alstroemeria* utilizadas como genitoras femininas nos cruzamentos dirigidos. Hurlingham, 2017.

Mães	DPP	Cruzamentos (N°)	Média óvulos por ovário	Sementes germinadas (N°)	Plântulas Normais (N°)	CER Sementes (%)	CER com plântulas (%)
Himalaya	7	133	21	3	2	0,11	0,07
	14	94	21	0	0	0,00	0,00
Belvedere	7	20	13	4	3	1,53	1,14
	14	27	13	14	6	3,95	1,69
Virginia	7	42	19	0	0	0,00	0,00
	14	78	19	7	7	0,47	0,47
Cartagena	7	31	20	11	11	1,77	1,77
	14	27	20	2	2	0,37	0,37
Costa Azul	7	10	17	11	11	6,60	6,60
	14	10	17	14	8	8,40	4,80

Fonte: Paolazzi, Joana.

5.1.1.3 Avaliação citogenética

No decorrer do estágio pôde-se acompanhar e realizar a coleta de ápices radiculares de *Alstroemeria* (nas variedades comerciais Virginia, Belvedere e Senna, e na espécie nativa *A. psittacina* de código 20091009B1) para ver os cromossomos em mitose.

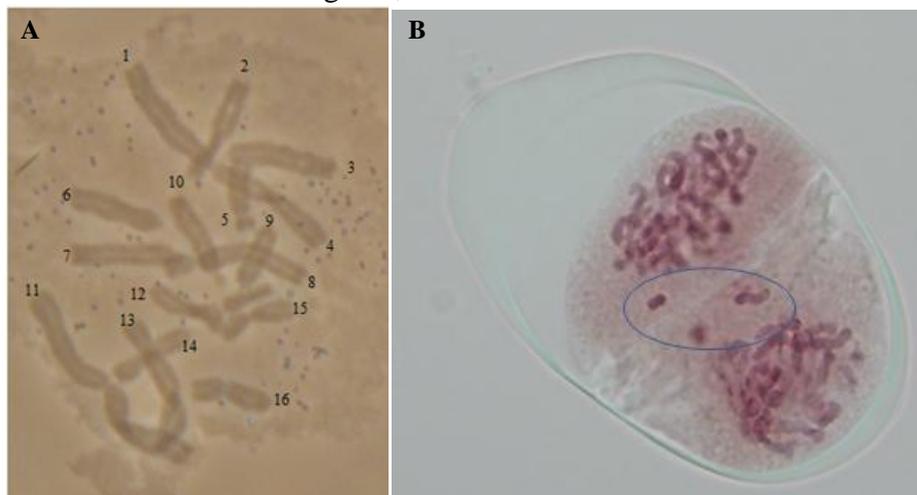
A coleta das raízes foi realizada na estufa a qual contém as plantas da coleção de *Alstroemeria*. Com o auxílio de uma pá de jardim procurou-se as raízes e coletaram-se os ápices radiculares (tecidos meristemáticos), local indicado para a visualização de cromossomos. Realizou-se os mesmos protocolos laboratoriais utilizados por PEÑALOZA et al. (2005). A partir do momento em que os cromossomos estão separados e no mesmo plano, é possível fazer a contagem. Só foi possível realizar a contagem na amostra de *A. psittacina* (Figura 4A).

Para a visualização dos cromossomos em meiose, coletaram-se as inflorescências de diversos tamanhos, pois não se tem um padrão estabelecido para a espécie. Assim, não se sabe qual é o tamanho em que as inflorescências ainda estão se dividindo e em qual já é visível a formação da tétrade de micróspora (fase final da meiose). Coletou-se de dois híbridos INTA (20130927X2 e 20151230A1) e foi utilizado o protocolo proposto por PAGLIARINI e POZZOBON (2005).

As inflorescências do híbrido 20151230A1 já estavam na fase final da meiose, não sendo possível visualizar a fase Prófase I, não podendo, portanto, contar o número de cromossomos existente. Visualizou-se apenas a tétrade de micróspora, a qual foi considerada normal pelo fato de estar sem cromossomos fora de placa e por ter quatro células (a mais ou a menos é considerado anormal). Já no híbrido 20130927X2 pôde-se visualizar a meiose na fase de Prófase II. Porém não foi possível realizar a contagem do número de cromossomos por estes estarem muito agrupados, mas notou-se que haviam cromossomos separados de seus grupos (cromossomos fora de placa) (Figura 4B).

É importante citar que os testes realizados nas análises citogenéticas não possuíram número amostral suficiente para poder inferir sobre número cromossômico dos genótipos estudados, uma vez que durante o estágio conseguiu-se contar cromossomos em apenas uma célula de cada espécie e/ou híbrido, que confirmou os relatos na literatura, que cita que a espécie nativa *A. psittacina* possui 16 cromossomos (TSUCHIYA et al., 1987; HANG e TSUCHIYA, 1988). Porém, os protocolos testados foram importantes para entender os processos realizados na citogenética dentro de um programa de melhoramento genético.

Figura 4 – Visualização de cromossomos em microscópio óptico. A) Cromossomos de *A. psittacina* (20091009B1) em mitose, com 16 cromossomos; B) Cromossomos em meiose do híbrido 20130927X2, destacando, em azul, cromossomos fora de placa, indicando anormalidades meióticas. Hurlingham, 2017.



Fonte: Paolazzi, Joana.

5.1.2 Cruzamentos dirigidos

Após os testes de viabilidade polínica e a CER, realizaram-se os cruzamentos dirigidos através de hibridações interespecíficas. Participei e realizei cruzamentos através da técnica de hibridação (Figura 5), o qual consiste na emasculação das flores as quais o estigma ainda não

está receptivo. Num primeiro momento retiravam-se as pétalas e anteras e, dois ou três dias após esse procedimento, variando conforme espécie ou variedade e condições ambientais, realizava-se a polinização artificial. Os filetes eram mantidos, pois estes são uma proteção para o estilete não quebrar, e somente são retirados quando é realizada a polinização. Quando o estigma está apto para ser polinizado, coleta-se uma flor com estames pulverulentos do genitor masculino escolhido e poliniza-se no estigma, certificando-se que havia pólen. Pelo fato de as plantas desse gênero possuir o estilete muito frágil e facilmente quebradiço, não se coloca proteção após a polinização artificial. Isso porque são as pétalas que atraem os polinizadores naturais, e sem elas é difícil que haja polinização, salvo a que foi realizada artificialmente.

Figura 5 – Cruzamentos dirigidos em *Alstroemeria*. A) Flor da variedade comercial Costa Azul; B) Flor sem pétalas e sem anteras; C) Polinização com *A. psittacina*; F) Rama estigmática com deposição de pólen. Hurlingham, 2017.



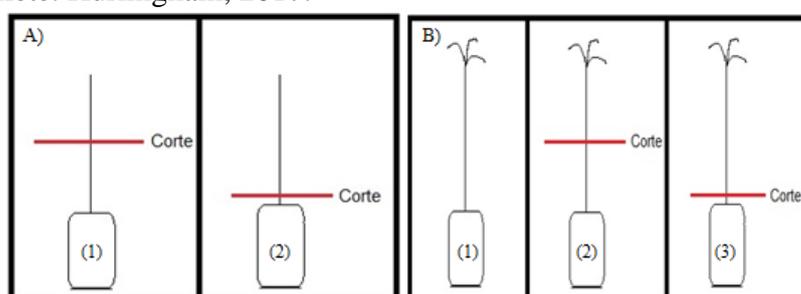
Fonte: Paolazzi, Joana.

5.1.2.1 Crescimento de tubos polínicos com diferentes técnicas de polinização

Foi possível o acompanhamento e realização de alguns cruzamentos com diferentes técnicas de polinização. Cabe ressaltar que este é o primeiro teste desenvolvido pelo grupo de

pesquisa do INTA. Realizaram-se ensaios nas fases de pré-antese, antese e pós-antese em *Alstroemeria* (Figura 6), fazendo seis flores em cada técnica (“sem corte no estilete”, “corte ao meio do estilete” e “sem estilete”), ou seja, um total de 18 estiletos de cada cruzamento em cada fase. Somente em pré-antese não foi realizado o “sem corte no estilete”, pois não seria coerente tal procedimento, já que o estigma não estaria receptivo.

Figura 6 – Representação das diferentes técnicas de polinização em *Alstroemeria*. A) No período de pré-antese: (1) Corte no meio do estilete; (2) Corte de todo o estilete; B) No período de antese e pós-antese: (1) Sem corte no estilete, (2) Corte no meio do estilete; (3) Corte de todo o estilete. Hurlingham, 2017.



Fonte: Paolazzi, Joana.

Para realizar os cruzamentos dirigidos, através da hibridação, realizava-se a emasculação em todas as flores aptas para o cruzamento manual, ou seja, onde o estigma não estivesse receptivo naquele momento, pois já poderia ter recebido pólen. Quando necessitava realizar os cortes, utilizava-se uma lâmina de aço para cortar na metade do estilete, ou todo o estilete, independente de estar em pré-antese, antese ou pós-antese. Após o corte, polinizava-se com o pólen do genitor masculino escolhido.

Diferentes combinações de genitores foram realizadas. Coletaram-se os pistilos 24 horas após a polinização (1 DPP). Os pistilos de cada técnica e cruzamento foram acondicionados em tubos de plástico com 20 mL de solução fixadora. Realizaram-se os mesmos procedimentos utilizados por PAKOCA (2014), a fim de avaliar se havia grão de pólen aderido na extremidade do estilete (nas ramas estigmáticas ou onde o corte foi realizado), se há formação de tubo polínico, em que parte do estilete ele se encontra e até onde ele conseguiu chegar (ovário ou óvulo).

Em microscópio óptico com fluorescência foi possível a visualização de grão de pólen aderido nas ramas estigmáticas do estigma (Figura 7A), dos tubos polínicos no pistilo, normais (Figura 7B) e anormais, e até onde ele conseguiu chegar nesse primeiro ensaio, que foi no ovário (Figura 7C).

Figura 7 – Visualização do crescimento de tubos polínicos no gênero *Alstroemeria* sob as diferentes técnicas de polinização. A) Grão de pólen germinado; B) Tubos polínicos no estilete, sendo considerados normais; C) Tubo polínico no ovário. Hurlingham, 2017.



Fonte: Paolazzi, Joana.

Os resultados encontrados nos mostram que em pós-antese sem corte no estilete, e em antese com corte no meio do estilete, em todos os cruzamentos, foi possível a visualização de tubos polínicos no ovário. Já em pré-antese sem o estilete, em nenhum cruzamento visualizou-se tubos polínicos, nem a germinação de pólen. Quando se analisa o cruzamento entre a variedade comercial Costa Azul e a espécie nativa 20091009B1, em quase todas as diferentes técnicas foi possível a visualização de tubos polínicos no ovário, exceto quando realizado em pré-antese, em ambas as técnicas de polinização, diferente dos demais cruzamentos. Os resultados confirmam o teste realizado com CER de que Costa Azul seria uma boa genitora feminina. É bom salientar que até o final do estágio não foi possível a realização de cruzamentos com a técnica de polinização pós-antese sem o estilete nos cruzamentos Costa Azul x 20091009B1 e 20091009B1 x 20090602A4, e em antese sem estilete em 20091009B1 x 20090602A4 devido ao não florescimento das genitoras femininas. O crescimento normal ou anormal dos tubos polínicos nos devidos cruzamentos e diferentes técnicas não foram avaliados nesse ensaio.

5.2 Outras atividades

5.2.1 Demais atividades ligadas ao melhoramento genético

Pelo fato de as alstroemérias possuírem incompatibilidade pós-zigótica, abortando o fruto, depois de 15 dias após polinização, os embriões precisam ser resgatados *in vitro*. Cultiva-se a planta *in vitro* até que a mesma possua um porte adequado para ser plantada em vaso, onde se realiza uma aclimatação e, depois, essa planta é levada para a estufa de plantas matrizes para seu desenvolvimento e cultivo. A fase de óvulo resgatado para formação de

plântula pode ser bastante demorado, podendo levar de semanas a meses, variando conforme os cruzamentos e progenitores escolhidos. Pode participar da transferência de plântulas para um novo meio de cultivo.

Foi possível a realização de coleta de dados da colorimetria de pétalas de híbridos e progenitores, uma vez que para registrar uma nova cultivar há a necessidade da mesma ser Distinta, Homogênea e Estável (DHE), e a colorimetria é um dos testes realizados.

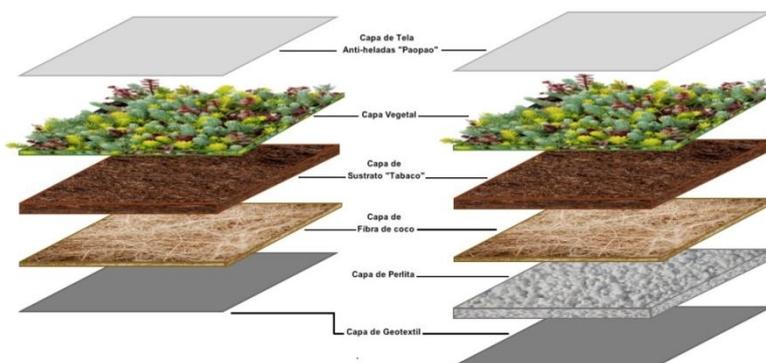
Também houve a necessidade da manutenção da coleção, realizando podas de hastes secas, e a coleta de frutos. Algumas sementes foram utilizadas para realizar um ensaio com indução de poliploidia através do tratamento de sementes com colchicina, um dos agentes mutagênicos empregados para tal uso.

5.2.2 Telhados verdes com utilização de espécies nativas

Durante a realização do estágio foi possível o acompanhamento na instalação de um experimento de telhados verdes, utilizando espécies nativas e exóticas. O ensaio teve como objetivo testar a necessidade do substrato perlita na composição estrutural do telhado verde. Assim, montou-se 12 parcelas de 2,7 m² cada uma, sendo que metade das parcelas (6) tinha adicionado o substrato perlita e nas demais não havia.

A parte estrutural do telhado verde se deu da seguinte forma: estrutura, camada filtrante (com geotêxtil), camada drenante (com substrato perlita – quando houver), camada filtrante (com fibra de côco), camada de substrato (com substrato comercial Tabaco®), camada com sementes e/ou estacas, e por último, uma tela com tecido não tecido (TNT) (Figura 8). A camada de substrato possuía altura de dois cm e a estrutura não tinha caimento.

Figura 8 – Composição estrutural do telhado verde. Hurlingham, 2017.



Fonte: Aranciba, A.

O estabelecimento do material vegetal se dividiu em duas partes, o estabelecimento de sementes e de estacas. Foram selecionadas espécies comerciais e nativas mais resistentes ao sol e à falta de água para compor o telhado verde, tendo uma proporção de 77% de espécies comerciais (sementes: *Sedum acre*, *S. album*, *S. reflexum*, *S. kamtschaticum*; estacas: *Sedum acre*, *S. album*, *S. reflexum*, *S. mexicanum*, *S. spuruim*, *S. arrua*, *S. kamtschaticum*) e 23% de espécies nativas (sementes: *Gonphrenacelosioides* - 10 sementes.m⁻²; estacas: *Senecio ceratophylloides*, *Portulaca grandiflora*, *Portulaca gilliesii* - 15 estacas.m⁻²). Não se utilizou hormônio enraizador nas estacas.

A irrigação foi realizada sempre que necessário, variando conforme temperatura e umidade. O experimento foi realizado novamente, pois houve uma baixa percentagem de germinação de sementes e enraizamento de estacas, e este pode ser devido ao fato de a base das estacas não terem entrado em contato com o substrato. Também se pode citar que as espécies suculentas ou cactáceas precisam de um período de cicatrização do local cortado, o que não foi realizado. Além disso, aproximadamente uma semana após a instalação do experimento, as estacas estavam com as bordas das folhas queimadas, o qual pode ser devido às altas temperaturas.

6. DISCUSSÃO

No Brasil, o período de maior demanda por flores e plantas ornamentais ainda é em datas comemorativas, como no dia da mulher, dia das mães, dia dos namorados, e finados (JUNIOR et al., 2015). O mercado vem sempre buscando tendências, com novas espécies, variedades com novas cores, novas formas, mais adaptadas a certas regiões, com resistência a doenças, entre outras. Esse fato nos remete à necessidade de melhoramento genético nesse ramo de plantas ornamentais.

Em relação à viabilidade polínica, Pakoca (2014) cita que, para a mesma espécie e mesmo código (20090602A4), encontrou-se 48% de pólen viáveis+subviáveis. Esses valores são diferentes dos encontrados durante a realização do estágio (91,87%) e pode ser pelo fato de o autor ter utilizado o método de Greissl para coloração dos grãos de pólen. Além disso, fatores ambientais também podem interferir na viabilidade polínica, onde a mesma espécie pode sofrer influência dependendo do ambiente em que se encontra no momento da coleta. O mesmo autor cita que as variedades comerciais são naturalmente estéreis e as empresas que realizam o melhoramento não divulgam os progenitores ou as formas de obtenção destas

variedades. Esse fato explica o porquê de o híbrido desenvolvido não possuir fertilidade para ser genitor masculino. Assim, torna-se necessário o estudo da citogenética nos progenitores (cultivares comerciais ou espécies nativas) que serão utilizados no programa de melhoramento.

Foi realizado o estudo citogenético de dois híbridos desenvolvidos no INTA, de código 20151230A1 e 20130927X2 através da coleta de inflorescências, visualizando diversas fases da meiose. Em relação a esse estudo, Pagliarini e Pozzobon (2005) citam que se devem coletar inflorescências de vários tamanhos para analisar o comportamento meiótico e para visualizar e contar os cromossomos. No híbrido 20130927X2 notaram-se, em algumas células analisadas, cromossomos fora de placa, que pode sinalizar que esse híbrido pode gerar grãos de pólen inviáveis, podendo comprometer sua fertilidade. Em relação à mitose, foi possível a contagem de cromossomos da espécie nativa *A. psittacina* em apenas uma célula, com 16 cromossomos. Diversos autores (TSUCHIYA et al., 1987; HANG e TSUCHIYA, 1988) citam que as espécies nativas possuem 16 cromossomos em sua constituição, porém, neste estudo, seriam necessários mais testes com um número amostral considerável para poder confirmar o número cromossômico proposto para a espécie.

Quanto ao cálculo da eficiência reprodutiva (CER), Pakoca (2014) realizou a CER nas possíveis genitoras femininas a serem utilizadas no programa de melhoramento do INTA e encontrou resultados parecidos do que foi encontrado nos testes realizados no presente estudo (Tabela 2), onde a variedade comercial Belvedere foi considerada uma genitora “boa” para os cruzamentos. Este autor não realizou testes na variedade comercial Costa Azul. Considerou-se o número amostral utilizado por Pakoca (2014) porém, mesmo que nos testes de CER, a variedade comercial Virginia aparece como uma “má” genitora, não se pode descartar totalmente a possibilidade de utilizá-la em cruzamentos.

No que se refere aos estudos de crescimento de tubos polínicos com diferentes técnicas de polinização, De Jeu et al. (1996) citam que em *Alstroemeria* a germinação de pólen e presença de tubo polínico foi encontrada a partir de 1 a 12 h após a polinização. Uma hora após a polinização, o grão de pólen germinou no estigma, e cinco horas após o tubo polínico se encontrava como feixes no estigma. Após 7 h, os tubos polínicos se encontravam no estilo, e nas 12 h, os tubos foram encontrados no ovário, podendo ser visualizado alguns na região da micrópila dos óvulos. Porém Pakoca (2014), em espécies do mesmo gênero, encontrou diferentes taxas de germinação de pólen e crescimentos de tubos polínicos,

variando conforme os progenitores utilizados nos cruzamentos. Esse fato confirma o que foi observado nos testes realizados no estágio.

Vervaeke et al. (2002) realizaram testes em *Aechmea fasciata* e observaram que após a polinização na antese sobre o estigma dos estiletos sem corte, em média 26% dos óvulos foram penetrados por um tubo polínico, além de ter sido observado pólen regular e tubos polínicos no estilete. A remoção de 50% e 100% do estilete e sua consequente polinização resultaram em uma penetração de 8% e 0% dos óvulos, consecutivamente. Em 100% de corte do estilo registrou-se forte deposição de calosa. A germinação na superfície do estilete cortado (50 e 100%) um dia após a antese foi muito baixa (1 e 0%, consecutivamente).

Somente o estigma não permite a germinação do pólen (VERVAEKE et al., 2002; VAN TUYL e DE JEU, 1997), mas quando o pólen, juntamente com o exsudado estigmático, é utilizado para a polinização, a germinação do pólen ocorre, resultando na fertilização normal e na posterior formação da semente (VAN TUYL e DE JEU, 1997).

Com esses resultados preliminares, pode-se sugerir que seja realizado ensaios com coleta dos pistilos a 2 e 3 DPP. Além disso, seria interessante avaliar a possibilidade de aplicar líquido estigmático quando é realizado cortes nos pistilos para que os grãos de pólen fiquem aderidos no estilete e que o líquido hidrate o mesmo.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estágio foi muito proveitoso, uma vez que pude vivenciar e entender a rotina e procedimentos de um programa de melhoramento genético e sua complexidade, acompanhando nas coletas, nas técnicas aplicadas no melhoramento genético, e também na comercialização dos produtos desenvolvidos pelo programa, o que se faz de grande valia, senão todo o trabalho resulta em nada. Além disso, obtive a oportunidade de aprender e aprimorar os conhecimentos do processo como um todo.

Apesar de um programa de melhoramento genético durar em torno de 10 anos, dependendo da espécie, no curto período do estágio foi possível perceber a importância do melhorista para os produtores e para o mercado de flores e plantas ornamentais. Além disso, no caso do INTA, há a valorização das espécies nativas, uma vez que são adaptadas ao meio local, e a preocupação e esforços de trazer alternativas de produção para os produtores, juntamente com melhorias paisagísticas nos telhados verdes.

Durante os dois meses, por mais que seja pouco tempo, obtive crescimento profissional, e além deste, o crescimento pessoal e a certeza do melhoramento genético como uma oportunidade de continuar na área é evidente e gratificante.

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, M. P. Differential staining of aborted and nonaborted pollen. **Stain Technology**, Baltimore, v. 44, n. 3, p. 117-122, 1969.

ALEXANDER, M. P. A versatile stain for pollen, fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, Baltimore, v.55, p.13-18, 1980.

BANCO MUNDIAL. **El país em datos: Argentina**. Washington, 2017. Disponível em: <<http://www.bancomundial.org/es/country/argentina>>. Acesso em: 11 mar. 2017.

BOREM, A.; MIRANDA, G. V. **Melhoramento de plantas**. 6. ed. rev. e ampl. Viçosa, MG: Ed. UFV, 2013. 523p.

CONAGIN, C. H. T.; CONACIN, A. Eficiência reprodutiva no amendoim cultivado (*Arachis hypogaea* L.). **Bragantia**, Campinas, v. 19, n. 65, p. 1081-1104,1960.

DE ASSIS, M. C. Alstroemeriaceae na Região Sul do Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 63, n. 4, p. 1117-1132, 2013.

DE JEU, M. J.; CALDERE, F. G.; WENT, J. L. V. Sporogenesis, gametogenesis, and progamic phase in *Alstroemeria*. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 74, n. 8, p. 1354-1361, 1996.

FACCIUTO, G.; PAKOCA, C.; DE LA TORRE, P. **Mejoramiento genético de *Alstroemeria* em la Argentina**. [Buenos Aires]: Instituto de Floricultura, INTA Castelar, 2016. (Apresentação em PowerPoint)

FERNANDO, D.D.; CASS, D. D. Developmental Assessment of Sexual Reproduction in *Butomus umbellatus* (Butomaceae): Female Reproductive Component. **Annals of Botany**, London, v. 80, n. 4, p. 457-467, 1997.

FLORA DIGITAL. [Base de Dados]. [2017]. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/index.php?pag=buscar_mini.php&especie=7494>. Acesso em: 16 abr. 2017.

GREISSL, R. Vitality analysis of monadic and polyadic pollen grains using optical contrast-fluorescence microscopy. **Scientific and Technical Information**, [S.l.], v. 9, n. 5, p. 180-184, 1989.

GREPPI, J. A. Mejoramiento genético: Cómo lograr um nuevo cultivo con espécies nativas. **INTA Informa**, [Buenos Aires], 2013. Disponível em: <<http://inta.gob.ar/documentos/como-lograr-un-nuevo-cultivo-con-especies-nativas>>. Acesso em: 17 abr. 2017.

HANG, A; TSUCHIYA, T. Chromosome studies in the genus *Alstroemeria*. II. Chromosome Constitutions of Eleven Additional Cultivars. **Plant Breeding**, Berlin, v. 100, p. 273-279, 1988.

INSTITUTO DE FLORICULTURA INTA. **Institucional y contato**. 2017. Disponível em: <<http://inta.gob.ar/floricultura/sobre-214000>>. Acesso em 04 de janeiro de 2017.

INDEC - Instituto Nacional de Estadística y Censos. **Mapas temáticos Censo 2010 - GEOCENSO**. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, 2010. Disponível em: <<http://www.sig.indec.gov.ar/censo2010>>. Acesso em: 24 jan. 2017.

INDEC. Instituto Nacional de Estadística y Censos. **Datos geográficos**. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina, 2014. Disponível em: <http://www.indec.gov.ar/nivel4_default.asp?id_tema_1=1&id_tema_2=15&id_tema_3=25>. Acesso em: 24 jan. 2017.

INTA - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. **Que és el INTA?** 2017. Disponível em: <www.inta.gob.ar>. Acesso em: 02 abr. 17.

INTA - Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria; JICA - Agencia de Cooperación Internacional del Japón. **Estudio sobre la caracterización de la producción florícola en la república argentina**. 2003.

JUNIOR, J. C. L. et al. **Mapeamento e Quantificação da Cadeia de Flores e Plantas Ornamentais do Brasil**. São Paulo: OCESP, 2015.

MORISIGUE, D. E. et al. **Floricultura: pasado y presente de la Floricultura Argentina**. Buenos Aires: Instituto de Floricultura, 2012. 36 p.

HURLINGHAM. [Município]. **Información general**. Hurlingham, 2010. Disponível em: <<http://hurlingham.gob.ar/el-distrito/>>. Acesso em: 05 jan. 2017.

PAGLIARINI, M. S.; POZZOBON, M. T. Meiose em vegetais: um enfoque para a caracterização de germoplasma. In: CURSO DE CITOGENÉTICA APLICADA A RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 2., 2005, Brasília. [Apostila]. Brasília, DF:Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 24-41. (Documentos 154)

PAKOCA, C. A. **Bases para un programa de mejoramiento genético en *Alstroemeria***. 2014, 93 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Nacional de Lomas de Zamora, Lomas de Zamora, Buenos Aires, Argentina, 2014.

PANIGATTI, J. L. **Argentina: 200 años, 200 suelos**. Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, 2010. 345 p.

PEEL, M. C.; FINLAYSON, B. L.; MCMAHON, T. A. Updated world map of the Koppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences Discussions, European Geosciences Union**, v.11, n.5, p.1633-1644, 2007. Disponível em: <<https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00305098/document>>. Acesso em: 02 abr. 2017.

PEÑALOZA, A. P. S.; POZZOBON, M. T.; SANTOS, S. Procedimentos para análise de cromossomos mitóticos e meióticos em vegetais. In: CURSO DE CITOGENÉTICA APLICADA A RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 2., 2005, Brasília. [Apostila]. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2005. p. 9-23. (Documentos 154)

SANSO, A. M. El género *Alstroemeria* (Alstroemeriaceae) en Argentina. **Darwiniana**, Buenos Aires, v.34, p. 349-382, 1996.

TERRA, S. B.; ZUGE, D. P. P. de O. Floricultura: a produção de flores como uma nova alternativa de emprego e renda para a comunidade de Bagé-RS. **Revista Conexão UEPG**, Ponta Grossa, v. 9, n. 2, p. 342-353, 2013.

TOMBOLATO, A. F. C.; TORRES, R. B.; AZEVEDO, C. Programa de melhoramento genético de madressilva (*Alstroemeria* spp. Alstroemeriaceae). **O Agrônomo**, Campinas, v.43, n.1, p. 13-25. 1991.

TSUCHIYA, T. et al. Chromosome studies in the genus *Alstroemeria*. I. Chromosome numbers in 10 cultivars. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 148, n. 4, p. 519-524, 1987.

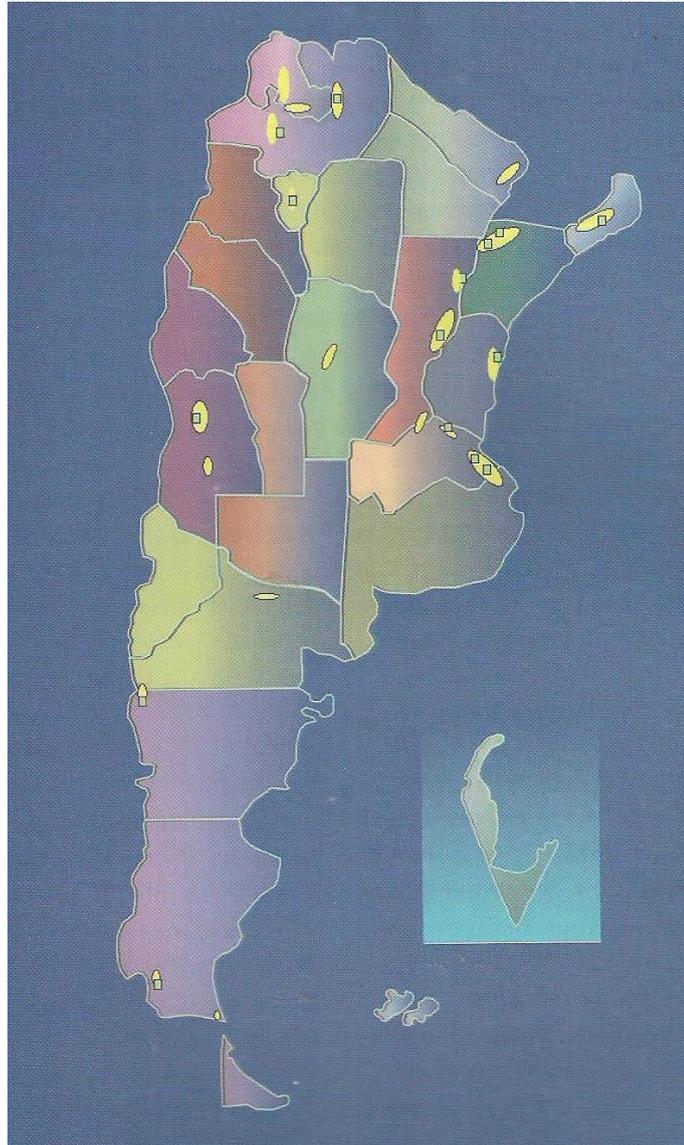
VAN TUYL, J. M.; DE JEU, M. J. Methods for overcoming interspecific crossing barriers. In: SHIVANNA, K.R.; SAWHNEY, V.K. (Ed.). **Pollen Biotechnology for Crop Production and Improvement**. London: Cambridge University Press, 1997, cap. 13.

VERVAEKE, I. et al. Pollen tube growth and fertilization after different in vitro pollination techniques of *Aechmea fasciata*. **Euphytica**, Wageningen, v.124, p.75-83, 2002.

ANEXOS

ANEXO A – Principais zonas produtoras de flores e plantas ornamentais na Argentina.

Em amarelo as zonas produtoras e em verde as unidades do INTA com atividade na floricultura. Fonte: MORISIGUE et al., 2012.



ANEXO B – Distribuição geográfica de algumas espécies do gênero *Alstroemeria* L.

Fonte: SANZO, 2006.

