

## Estudos reprodutivos e citológicos em gérbera visando cruzamentos sexuais.

Raquel Dalla Lana Cardoso<sup>1</sup>; Magali Ferrari Grando<sup>2</sup>; Monique Inês Segeren<sup>3</sup>; Lizete Augustin<sup>4</sup>; Eunice Calvete<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade de Passo Fundo (UPF), Caixa Postal 611, 99001-970, Passo Fundo – RS, e-mail: [raqueldlcardoso@bol.com.br](mailto:raqueldlcardoso@bol.com.br); <sup>2</sup> Professoras do Programa de Pós-Graduação da UPF, e-mail: [magali@upf.br](mailto:magali@upf.br); [calveteu@upf.br](mailto:calveteu@upf.br) <sup>3</sup> Pesquisadora da ProClone, Holambra, São Paulo – SP, e-mail: [proclone@proclone.com.br](mailto:proclone@proclone.com.br), <sup>4</sup> Professora da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da UPF, e-mail: [augustin@upf.br](mailto:augustin@upf.br).

### INTRODUÇÃO

A gérbera (*Gerbera* spp.) pertence à Família Asteraceae, apresentando cerca de 30 espécies distribuídas pela África, Madagascar, Ásia tropical e uma espécie originada nos Andes do Peru, América do Sul (Barroso, 1991). As cultivares modernas de gérberas, *Gerbera hybrida* Hort, são plantas diplóides ( $2n=50$ ) originadas do cruzamento entre *Gerbera jamesonii* H. Bolus ex Hook e *Gerbera viridifolia* Schultz Bip. Híbridos naturais destas duas espécies não foram encontrados (Kloss et al., 2005; Sane & Gowda, 2005).

A gérbera apresenta a inflorescência do tipo capítulo, o qual é formado por flores vistosas, as quais variam quanto à forma da corola, sexualidade, simetria, fusão de órgãos e pigmentação. A *Gerbera hybrida* apresenta uma grande variabilidade de morfologia dos capítulos sendo estes classificados em simples, semidobrados e dobrados. As flores são classificadas de acordo com sua posição no capítulo. As flores do raio são as flores mais externas, as flores trans são intermediárias e as flores do disco são as centrais. Além dos híbridos comerciais, também são encontradas plantas com aspectos mais silvestres, ainda não melhoradas, das quais não se tem informações sobre o número de cromossomos. Tal informação é importante para viabilizar os cruzamentos sexuais, visto que estes materiais podem ser considerados fonte de variabilidade útil a programas de melhoramento, principalmente objetivando a obtenção de plantas mais adaptadas às condições climáticas da região.

Além do número cromossomos ser um dos parâmetros mais utilizados para a caracterização de uma espécie e para a determinação de estratégias a serem empregadas no melhoramento genético, o estudo da viabilidade de pólen permite evidenciar a potencialidade reprodutora masculina contribuindo para o planejamento do melhoramento.

Ainda, para o desenvolvimento de programas de melhoramento baseados no cruzamento sexual, há a necessidade de se conhecer o modo de reprodução da espécie. Em gérbera, ainda há dúvidas quanto ao modo de reprodução.

Os objetivos deste trabalho foram investigar a ocorrência de geitonogamia e apomixia em gérbera, confirmar o número de cromossomos nos diferentes híbridos de gérbera (híbridos de capítulos simples, semidobrado e dobrado), determinar o número de cromossomos nos acessos não melhorados coletados no Rio Grande do Sul e Espírito Santo e a taxa de viabilidade do pólen, a fim de avaliar a relação citogenética e a possibilidade de cruzamentos entre os acessos estudados, além de fornecer subsídios para o melhoramento de gérbera através da determinação do sistema de reprodução.

### MATERIAIS E MÉTODOS

Para análise cromossômica e da viabilidade do pólen foram utilizados 13 acessos de gérbera (Tabela1), sendo seis híbridos comerciais e sete acessos coletados em jardins do Rio Grande do Sul e Espírito Santo (cinco de *Gerbera jamesonii* e dois de *Gerbera sp.*). Os acessos foram cultivados em casa-de-vegetação e dispostos em delineamento completamente casualizado, com quatro repetições. As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia Vegetal da Universidade de Passo Fundo. O estudo foi realizado entre dezembro de 2005 a setembro de 2006, na Universidade de Passo Fundo, Rio Grande do Sul.

Foram coletados ápices de raiz e pólen de 13 acessos de gérbera, seis deles híbridos comerciais (*Gerbera hybrida* Hort : Amazone, Cariba, Terra Fame, Pink Elegance, Asteca e Tenesse) e sete acessos não melhorados coletados em jardins. Para a contagem de cromossomos foram avaliadas células metafásicas intactas e para estimativa de viabilidade de pólen foi avaliado o número de grãos de pólen viáveis e não viáveis. Para determinar o

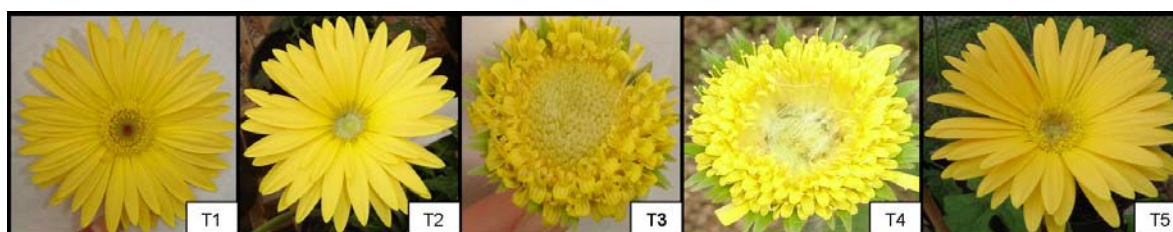
número de cromossomos os ápices de raiz foram coletados e pré-tratados com gelo por 24 horas, fixados em uma mistura de álcool etanol e ácido acético (3:1 v/v) por 24 horas, seguindo da hidrólise com HCl 1N a 60°C por 13 minutos e coloração com carmim acético 45%. Foram preparadas três lâminas para cada genótipo, sendo avaliadas 10 células metafásicas com núcleo intacto por lâmina. As análises foram realizadas em microscópio ótico com aumento de 1000x, sendo as metáfases avaliadas registradas no computador através do programa PixelView, com aumento de 1000x para a contagem do número de cromossomos.

**Tabela 1-** Relação, origem e classificação comercial dos acessos de gérbera *Gerbera hybrida* (Híbridos comerciais) *Gerbera jamesonii* e *Gerbera sp.* (Acessos de gérbera não melhorados).

Acessos	Espécie	Origem	Classificação	Coloração
Cariba	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Semi-dobrada	Vermelha
Amazone	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Simples	Amarelo-alaranjado
Pink Elegance	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Dobrada	Rosa Claro
Terra Fame	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Simples	Amarela
Asteca	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Simples	Vermelha
Tenessê	<i>Gerbera hybrida</i>	ProClone (Holambra-SP)	Simples	Salmão
A7	<i>Gerbera jamesonii</i>	Espírito Santo	Semi-dobrada	Amarela
A8	<i>Gerbera jamesonii</i>	Espírito Santo	Simples	Rosa Pink
A9	<i>Gerbera jamesonii</i>	Jardim (Casca-RS)	Simples	Rosa Pink
A10	<i>Gerbera jamesonii</i>	Jardim (PassoFundo-RS)	Simples	Rosa
A11	<i>Gerbera sp</i>	Jardim (Casca-RS)	Dobrada	Salmão-avermelhada
A12	<i>Gerbera sp</i>	Jardim (Passo Fundo-RS)	Dobrada	Branca
A13	<i>Gerbera jamesonii</i>	Espírito Santo	Simples	Salmão

A estimativa de frequência da viabilidade do pólen foi realizada mediante a coloração com carmim acético 45% e observação em microscópio ótico. Foram preparadas quatro lâminas por acesso, avaliando-se 1000 grãos de pólen por lâmina, totalizando 4000 grãos de pólen por acesso. Considerou-se pólen viável aqueles com tamanho visivelmente normal, protoplasma corado e com a exina intacta. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias comparadas pelo Teste Tukey a 5%.

Para investigação do sistema de reprodução, ocorrência de geitonogamia (cruzamento entre flores do mesmo capítulo) e apomixia, foram utilizados os híbridos Cariba, Pink Elegance e Terra Fame. Cinco tipos de isolamentos florais, foram realizados através da remoção de cada tipo de flores (flores do raio, trans e disco), conforme os tratamentos descritos na figura 1. Para cada tratamento de isolamento foram realizadas três repetições, sendo a unidade experimental, um capítulo. Após a manipulação, os capítulos foram protegidos com papel manteiga, sendo debulhados após 30 dias para avaliação dos aquênios. Foi avaliada a ocorrência de formação de sementes através da germinação dos aquênios, em caixas gerbox, sob papel filtro umedecidos com solução de 0,2% de nistatina e 0,02% de estreptomicina, e mantidos em câmara BDO, a 24°C e ausência de luz. Sementes comerciais da empresa ISLA foram utilizadas como testemunha. A avaliação da germinação foi realizada aos 14 dias, mediante a verificação da emissão da radícula.

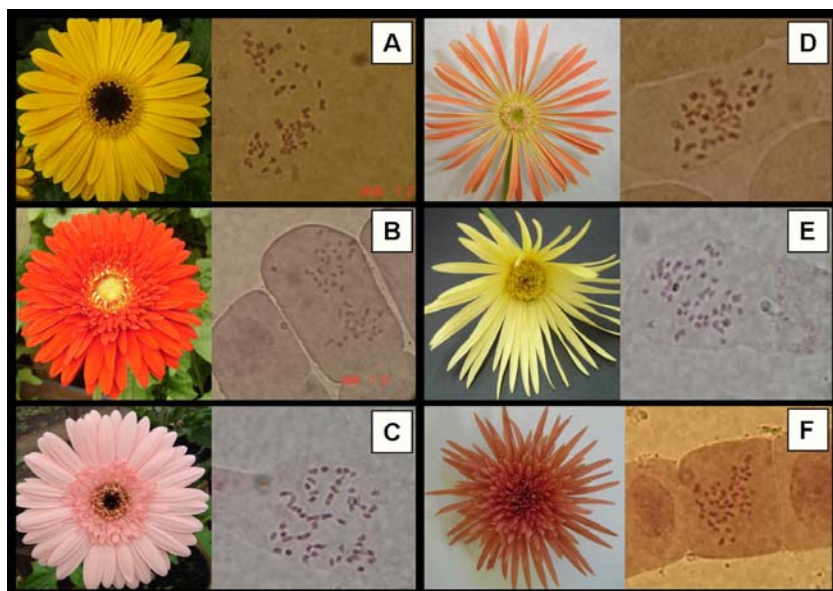


**Figura 1.** Tratamentos de isolamento de flores: T1 capítulo inteiro; T2 capítulo somente com as flores do raio; T3 capítulos somente com as flores do disco; T4 capítulos somente com as flores trans e T5 capítulos com somente as flores do raio e flores trans.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Todos os acessos avaliados apresentaram 50 cromossomos, indicando que tanto os híbridos comerciais quanto os acessos não melhorados apresentaram o mesmo número de cromossomos. Mesmo os acessos apresentando variação quanto ao tipo de capítulo (capítulos simples, semidobrado e dobrado) não diferiram quanto ao número de cromossomos (Figura 2).

A figura 3 mostra os aspectos do estudo sobre a viabilidade do pólen. A média de viabilidade do pólen entre os acessos avaliados foi de 89,6%. A análise de variância permitiu constatar que houve diferença estatística entre os acessos para esta característica. O acesso 11 (silvestre) apresentou a menor freqüência de pólen viável (87,7%) e a cultivar Tenesse a maior (99,3%) quando comparado com os demais (Tabela 2). Os dados obtidos permitem concluir que os acessos não melhorados, apesar de serem diferentes morfologicamente aos cultivares híbridos apresentam o mesmo número de cromossomos e viabilidade de pólen indicando a possibilidade de realizar cruzamentos entre os acessos analisados.

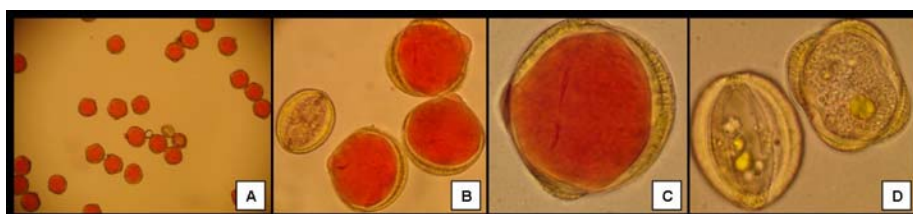


**Figura 2.** Número de cromossomos nos diferentes tipos de capítulos: A, B e C híbridos comerciais, sendo A) simples; B) semidobrado e C) dobrado, e D, E e F genótipos não melhorados, sendo D) simples; E) semidobrado e em F) dobrado.

**Tabela 2 –** Freqüência de polens viáveis em acessos comerciais e não melhorados de gérbera.

Acessos	Viabilidade Pólen	
1 Cariba	98,775	a
2 Amazone	96,825	a
3 Pink Elegance	98,200	a
4 Terra Fame	98,350	a
5 Asteca	97,175	a
6 Tenessê	99,275	a
7	98,450	a
8	96,050	a
9	97,925	a
10	96,875	a
11	87,675	b
12	97,725	a
13	98,825	a

Médias seguidas de mesma letra não diferem pelo teste de Tukey a 5%.



**Figura 3.** Estudo da viabilidade do pólen. A) Pólen viáveis (aumento 100x), B) Polens viáveis corados e pólen não viável (aumento de 400x), C) Pólen viável e D) Pólen não viável (aumento de 1000x).

Quanto à determinação do sistema reprodutivo, apenas as sementes comerciais utilizadas como controle germinaram, numa taxa de 84%. Como não houve germinação dos aquênios dos demais acessos, conclui-se que a gérbera é uma espécie de fecundação cruzada, sem indícios de apomixia. Por isso, não há necessidade de emasculas as flores hermafroditas para fins de cruzamento, conforma sugerido por Souza *et al* (2005).

## CONCLUSÃO

Para os acessos de gérbera avaliados e condições experimentais utilizadas, conclui-se que há possibilidade de realizar a hibridação entre acessos comerciais e não melhorados visto que estes apresentam o mesmo número de cromossomos e alta viabilidade e que não há a necessidade de realizar a emasculação visto que a gérbera é uma espécie de fecundação cruzada e sem indícios de ocorrência de apomixia.

## LITERATURA CITADA

BARROSO, G. M.. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. Vol.3. Viçosa: UFV, Imprensa Universitária, 1991. 312p.

SOUZA, J. C.; MENEZES, A.C.P.; SILVA, A. F.; PAZ, C. D.; SÁ, P. G. Hibridação artificial e germinação de sementes de gérbera (*Gerbera jamesonii*) no semi-árido. In: **45º Congresso Brasileiro de Olericultura, 15º Congresso Brasileiro de Floricultura e Plantas Ornamentais, 2º Congresso de Cultura de Tecidos**,2005, Fortaleza. *Anais...*Fortaleza, 2005, p.547.

KLOSS, W.E.; GEORGE, C.G.; SORGE, L.K. Dark disk color in the floer of *Gerbera hybrida* is determined by a dominant gene Dc. **HortScience**. v. 40, n. 7, p.1992-1994, 2005.

SANE, A.; GOWDA, J.V.N. [Online]. *Characterization of gerbera (*Gerbera jamesonii*) genotypes using morphological characters*. 2005.Homepage: [www.fao.org](http://www.fao.org)

## PALAVRAS-CHAVES:

*Gerbera jamesonii*; *Gerbera hybrida*; gérbera; pólen; cromossomos; geitonogamia; apomixia.