

MARCELO NASCIMENTO DE OLIVEIRA

MECANISMOS DE PRODUÇÃO DE PÓLEN NÃO REDUZIDO
EM HÍBRIDOS DE DIHAPLÓIDES DE **Solanum tuberosum** L. x
Solanum chacoense Bitt.

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura de Lavras, como parte das exigências do
curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de
concentração Genética e Melhoramento de Plantas,
para obtenção do grau de «MESTRE».

Orientador

Prof.^a Lisete Chamma Davide

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL

1994



THE UNIVERSITY OF CHICAGO

1911

PHYSICS DEPARTMENT

REPORT ON THE PROGRESS OF WORK

FOR THE YEAR 1911

BY

ROBERT A. MILLIKAN

AND

WALTER W. KILPATRICK

CHICAGO, ILL., 1911

PRINTED BY THE UNIVERSITY OF CHICAGO PRESS



MARCELO NASCIMENTO DE OLIVEIRA

MECANISMOS DE PRODUÇÃO DE PÓLEN NÃO REDUZIDO
EM HÍBRIDOS DE DIHAPLÓIDES DE **Solanum tuberosum** L. x
Solanum chacoense Bitt.

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura de Lavras, como parte das exigências do
curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de
concentração Genética e Melhoramento de Plantas,
para obtenção do grau de «MESTRE».

Orientador
Prof.^a Lisete Chamma Davide

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
1994

DESCARTADO

Em 16 de 08 de 1964

INSTITUTO FEDERAL DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA

MARCELO NASCIMENTO DE OLIVEIRA

MECANISMOS DE PRODUÇÃO DE PÓLEN NÃO REDUZIDO EM HÍBRIDOS DE DIHAPLÓIDES DE *Solanum tuberosum* L.

Solanum chacoense



Dissertação

Agricultura de Lavras, como parte das exigências do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do grau de «MESTRE».

Orientador

Prof.º Isaac Chamma David



LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

1964

MARCELO NASCIMENTO DE OLIVEIRA

**MECANISMOS DE PRODUÇÃO DE PÓLEN NÃO REDUZIDO EM HÍBRIDOS DE
DIHAPLÓIDES DE *Solanum tuberosum* L. x *Solanum chacoense* Bltt.**

Dissertação apresentada à Escola Superior de
Agricultura de Lavras, como parte das exigências
do curso de Pós-Graduação em Agronomia, área
de concentração Genética e Melhoramento de
Plantas, para obtenção do grau de "MESTRE"

APROVADA em 04 de fevereiro de 1994



Profa. Maria Suely Pagliarini



Prof. César/A. Brasil P. Pinto



Profa. Lisete Chamma Davide
(Orientador)



MARCELO NAS TINTAS DE OLIVEIRA

TAXAS DE PRODUÇÃO DE FOLHA NÃO REDUZIDO EM NENHUM DE
DIFERENÇAS DE SOLUÇÕES EM NENHUM L. X. SOLUÇÕES CONCRETAS DE

Desafios operacionais e Estrutura Organizacional
Avaliação de Impacto Ambiental e Social
do curso de Pós-Graduação em Engenharia de
de Engenharia Civil e Engenharia de
Planejamento para o desenvolvimento de

PROVA DE 09 fevereiro 2024

Prof. Dr. A. Brasil P. Pinto

Prof. Dr. G. P. P. P.

Prof. Dr. G. P. P. P.
(Orientador)

Aos meus pais, Cléia e Fabrício.

Às minhas irmãs, Denise e Sandra.

"Vocês que compartilharam do meu ideal e o alimentaram, incentivando-me a prosseguir a jornada, fossem quais fossem os obstáculos.

Vocês, que mesmo distantes, mantiveram-se sempre ao meu lado; amparando-me, lutando comigo, dedico esta conquista com a mais profunda admiração e respeito."

AGRADECIMENTOS

A Deus, por ter tão pouco a pedir e tanto a agradecer.

Aos meus pais e minhas irmãs, pelo carinho e incentivo demonstrados em todos os momentos.

Aos meus familiares, pelo respeito, torcida, amizade e confiança.

À Escola Superior de Agricultura de Lavras, pela oportunidade concedida.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela concessão da bolsa de estudos.

À professora Lisete Chamma Davide, pela orientação, ensinamentos transmitidos, incentivo, confiança e amizade demonstrados.

Ao professor César A. Brasil P. Pinto, pela co-orientação, valiosas sugestões para o trabalho, ensinamentos, apoio e amizade demonstrados.

Às professoras Maria Suely Pagliarini (UE Maringá) e Judith Viégas (UF Pelotas) pelas importantes sugestões apresentadas para o trabalho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Biologia da ESAL, pela convivência e amizade.

Aos pesquisadores do CNPAF-EMBRAPA, Dr. Josias Correa de Faria, Dra. Maria José de O. Zimmermann, Dr. Reinaldo de Paula Ferreira, Dr. Veridiano dos A. Cutrim e à professora do ISEPI Odílvia Garcia e Souza, pela amizade e ensinamentos na pesquisa agropecuária.

Aos amigos do Laboratório de Citologia da ESAL, Ana Hortência, Fernando, Andréia, Renata, Haroldo, Rita, Cláudia, Luidi, Gabriela, Carlos, Marcelo Lopes, Rogério, Rose, Fabiana, Vilma e Ângela, pela alegria do convívio diário e solidariedade em todos os momentos.

Aos colegas de república Valéria Momenté e Eduardo Bearzoti, pela convivência, amizade e respeito compartilhados.

Aos colegas do curso de pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Fernando, Andréia, Joaquim, Maria Rosa, Elaine, Valéria, Otoniel, Guilherme, Benedita, Sérgio, Eduardo, Luciana, Leonardo Rosse, José Sérgio, Paulo Roberto, Vilma, Renata, Ângela, Giovana, Leonardo Melo, Patrícia, Luciane e demais colegas pelo convívio e experiências compartilhadas.

Aos amigos Guilherme, Otoniel e Valéria, que os momentos de lutas e vitórias tornem lembranças de nossa amizade.

Aos amigos de outros cursos de pós-graduação e graduação, pelo respeito e clima de alegria que compartilhamos.

A todos aqueles que contribuíram de alguma forma para o êxito deste trabalho.

BIOGRAFIA

Marcelo Nascimento de Oliveira, filho de Fabrício de Oliveira Vale e Cléia de Araújo Nascimento Vale, nasceu em Tupaciguara - MG, no dia 23 de outubro de 1967.

Concluiu o curso de Agronomia no Instituto Superior de Ensino e Pesquisa de Ituiutaba - ISEPI, em 1989.

Em outubro de 1991 iniciou o curso de mestrado na Escola Superior de Agricultura de Lavras - ESAL, na área de Genética e Melhoramento de Plantas, concluindo em fevereiro de 1994.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE TABELAS	viii
LISTA DE FIGURAS	x
RESUMO	xiii
SUMMARY	xv
1 INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1. Origem e Base Genética da Batata Cultivada	4
2.2. Métodos de Melhoramento Utilizados na Cultura da Batata ...	7
2.3. Citogenética do Autotetraplóide	11
2.3.1. Mecanismos de formação de gametas reduzidos	11
2.3.2. Microsporogênese e megasporogênese	17
3. MATERIAL E MÉTODOS	31
3.1. Material Genético	31
3.2. Características Avaliadas	31
3.2.1. Comportamento cromossômico na meiose	32
3.2.2. Características de florescimento	33
3.3. Análise Estatística	34

	Página
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	36
4.1. Comportamento cromossômico na meiose	36
4.2. Características de florescimento	47
5. CONCLUSÕES	55
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	56

LISTA DE TABELAS

Tabela	Página
1 Genealogia dos híbridos interespecíficos obtidos do cruzamento entre dihaplóides de <i>S. tuberosum</i> x <i>S. chacoense</i>	32
2 Número de meiócitos observados, mecanismos e modo de formação de pólen 2n de 28 clones híbridos de dihaplóides de <i>Solanum tuberosum</i> x <i>Solanum chacoense</i>	41
3 Frequência dos mecanismos de produção de pólen 2n e normais e dos produtos meióticos em 28 clones híbridos de dihaplóides de <i>Solanum tuberosum</i> x <i>Solanum chacoense</i>	43

Tabela	Página
4 Médias de freqüência de pólen $2n$ (%), viabilidade de pólen $2n$ (%), quantidade de pólen na antera, viabilidade de pólen n (%) e modo de formação de pólen $2n$ de 28 clones híbridos de dihaplóides de <i>Solanum tuberosum</i> x <i>Solanum chacoense</i> , avaliados em casa-de-vegetação no Departamento de Biologia, ESAL, Lavras-MG, no período de primavera de 1991, outono de 1992 e primavera de 1992	48
5 Freqüências esperadas com base em observações de meiócitos na prófase II, metáfase II e anáfase II e estágios de díades e freqüências observadas de pólen $2n$ de 28 clones híbridos de dihaplóides de <i>Solanum tuberosum</i> x <i>Solanum chacoense</i>	52

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1 Representação de um esquema alternativo de melhoramento visando a obtenção de progênies tetraplóides híbridas	9
2 Formação de gametas em um indivíduo simplex (Aaaa), no qual não houve permuta entre o loco e o centrômero	13
3 Formação gamética de um simplex (Aaaa), no qual o cromossoma que carrega o alelo dominante (A) permuta geneticamente com outro cromossoma. Os resultados são dois cromossomas Aa e dois aa. Os dois cromossomas Aa vão para o mesmo pólo na primeira divisão, em um terço das vezes (formação de bivalentes). Quando eles passam para o mesmo pólo na primeira divisão, e também na segunda divisão (sequência A), alguns gametas homocigotos são formados. Este processo é chamado redução dupla	14

Figura	Página
4 Representação esquemática mostrando a diferença entre a meiose normal e com fusos paralelos durante a segunda divisão meiótica	18
5 Representação esquemática das consequências genéticas em gametas FDR, considerando três genes hipotéticos (F, D e R). Os genótipos dos produtos meióticos podem ser determinados pela presença ou ausência de um quiasma entre o centrômero e o loco considerado	20
6 Representação esquemática da porcentagem da heterozigose parental presente em gametas FDR e SDR	21
7 Representação esquemática dos mecanismos de formação de óvulos 2n em batatas diplóides. A - Normal; B - Variante sináptico; C - Atraso na divisão meiótica; D - Omissão da 2ª divisão; E - Anáfase II irregular; F - Ausência da 2ª citocinese	28
8 Aspectos da microsporogênese normal de clones diplóides de batata. A-Paquítano. B-Diplóteno. C-Metáfase I. D-Anáfase I	37

Figura		Página
9	Aspectos da microsporogênese em clones diplóides de batata. A-Telófase I. B-Citocinese prematura-1 (pc-1)	38
10	Aspectos da microsporogênese de clones diplóides de batata. A-Metáfase II normal. B-Citocinese prematura-2 (pc-2). C-Fusos paralelos (ps). D-Fusos fundidos (fs)	40
11	Produto final na microsporogênese em clones diplóides de batata. A-Díade e Tríade. B-Tétrade. C-Segregação de cromátides não-irmãs, levando à formação de tríades	44
12	Amostra de pólen n e 2n em clones diplóides de batata	53

RESUMO

OLIVEIRA, Marcelo Nascimento de. Mecanismos de produção de pólen não-reduzido em híbridos de dihaplóides de *Solanum tuberosum* L. x *Solanum chacoense* Bitt. Lavras, ESAL, 1994. 66p. (Dissertação Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).*

Vinte e oito clones híbridos de dihaplóides de *Solanum tuberosum* X *Solanum chacoense* foram avaliados em um ensaio visando estudar os mecanismos de formação de pólen não reduzido e caracteres de florescimento. O ensaio foi realizado em casa-de-vegetação do DBI-ESAL (Lavras-MG) de setembro a dezembro de 1992 (primavera), e o delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados com três repetições. Cada parcela foi representada por um vaso contendo uma única planta. Na avaliação dos mecanismos de formação de pólen $2n$, o mecanismo de fusos paralelos controlado pelo gene *ps*, foi o mais freqüente, presente em 23 dos 28 clones avaliados. Este mecanismo leva à formação de díades geneticamente equivalentes a FDR (First Division Restitution), transmitindo em torno de 80% de heterozigose à progênie. Também foi

* Orientador: Lisete Chamma Davide. Membros da Banca: César A. Brasil P. Pinto e Maria Suely Pagliarini.

encontrado o mecanismo de fusos fundidos (**fs**) em 16 clones avaliados, com formação de díades geneticamente equivalentes a FDR. Este mecanismo ocorreu associado ao mecanismo de fusos paralelos em 15 clones, e provavelmente represente uma manifestação diferente do gene **ps**. Outros dois mecanismos encontrados e que levam à formação de díades geneticamente equivalentes a SDR (Second Division Restitution), são a citocinese prematura-1 (**pc-1**) e a citocinese prematura-2 (**pc-2**), transmitindo em torno de 40% de heterozigose à progênie. O mecanismo **pc-1** foi observado em 10 clones e o **pc-2** em 6 clones avaliados. Contudo, houve atuação dos modos de formação FDR e SDR conjuntamente em 12 clones evidenciando um complexo processo de regulação gênica, visto que não foi observado efeito epistático dos genes envolvidos (**ps**, **fs**, **pc-1**, **pc-2**). Na avaliação dos caracteres de florescimento, somente a frequência de pólen $2n$ mostrou diferença significativa ($P < 0,01$) entre os clones, com média do experimento igual a 6,9%. A viabilidade de pólen $2n$ apresentou média alta ($\bar{x} = 70,9\%$), mostrando-se superior à viabilidade de pólen n ($\bar{x} = 56,21\%$). Portanto, a utilização de clones em cruzamentos com espécies de *S. tuberosum* é facilitada devido à alta frequência de pólen $2n$ e viabilidade dos mesmos. Deve-se também atentar para o modo de formação de pólen $2n$, visto que o modo FDR transmite maior heterozigose às progênies, aumentando a chance de sucesso na obtenção de clones promissores. Com base nos dados obtidos, os clones 9-2, 9-3, 9-6, 10-4 e 15-15 reuniram as características citadas acima, e por isso, devem merecer atenção especial em programas de melhoramento visando aumentar o potencial de seleção da cultura da batata.

SUMMARY

OLIVEIRA, Marcelo Nascimento de. Mecanismos of non-reduced pollen in hibrid clones from dihaploid *Solanum tuberosum* L. x *Solanum chacoense* Bitt. Lavras, ESAL, 1994. 66p. (Dissertation Master of Science in Genetics and Plant Breeding).

Twenty-eight hybrid clones from dihaploids *Solanum tuberosum* x *Solanum chacoense* crosses were evaluated in a trial in order to study the mechanisms of non-reduced pollen formation and flowering traits. The experiment was conducted in a greenhouse at Department of Biology - Escola Superior de Agricultura de Lavras, Brazil, from September to December of 1992 (Spring). The experimental design was a complete randomized blocks with three replications and each plot consisted of a pot with a single plant. Among the mechanisms of 2n-pollen formation, that of parallel spindles, controled by the **ps** gene, was the most frequent, observed in 23 of the 28 clones evaluated. This mechanism yields the formation of dyads genetically equivalent to FDR (First Division Restitution), transmitting about 80% of heterozigosity to the offspring. It has been also detected the mechanism of fused spindles (**fs**) in 16 clones, forming dyads genetically equivalent to FDR. This mechanism occurred associated with that of parallel spindles in 15 clones, and it probably represents a different manifestation of the **ps** gene. Other two mechanisms observed, which yield the formation of

dyads genetically equivalent to SDR (Second Division Restitution), were the premature cytokinesis-1 (**pc-1**) and the premature cytokinesis-2 (**pc-2**), transmitting about 40% of heterozygosity to the offspring. The mechanism **pc-1** was found in 10 clones and the **pc-2** in 6. The presence of both mechanisms of pollen formation - FDR and SDR - was detected in 12 clones, which shows a complex process of genic regulation, since there has not been observed any epistatic effect between the related genes (**ps**, **fs**, **pc-1**, **pc-2**). As for the evaluation of flowering traits, only the frequency of 2n-pollen showed significant differences between the clones ($P < 0.01$), and the mean frequency was 6.9%. The viability of 2n - pollen had a high average ($\bar{x} = 70.9\%$), which was superior to the viability of the n-pollen ($\bar{x} = 56.21\%$). Thus, the utilization of clones in crosses with *S. tuberosum* species is made easier by the high frequency and viability of 2n-pollen. It should be taken into account the way of 2n-pollen formation, since the FDR mechanism transmits a higher heterozygosity to the offspring, improving the probability of success in obtaining clones with high potential. Clones 9-2, 9-3, 9-6, 10-4 and 15-15 showed the characteristics above mentioned and therefore deserve special attention in breeding programmes aiming at improving the selection potential of the potato crop.

1. INTRODUÇÃO

A batata cultivada (*Solanum tuberosum* L.) é uma espécie autotetraplóide (GOTTSCALK, 1984; LUNDEN, 1960), portadora de herança tetrassômica (IWANAGA & PELOQUIN, 1982), o que proporciona a possibilidade de se ter alelismo múltiplo, produzindo heterose por intermédio de interações interalélicas e interlocos. Possui uma estreita base genética, explicada por isolamento geográfico e erosão genética e, por isso, vários trabalhos têm sido feitos para se tentar aumentar a base genética da cultura (HAWKES, 1978; SIMMONDS, 1979).

Duas alternativas têm sido empregadas para viabilizar o aumento da base genética da espécie *S. tuberosum* sub-espécie *tuberosum*. Uma é através de cruzamentos com a sub-espécie *andigena*, que à semelhança da sub-espécie *tuberosum* é também tetraplóide ($2n=4x=48$). A outra é através de cruzamentos com espécies diplóides ($2n=2x=24$) cultivadas ou selvagens (HAWKES, 1978; SIMMONDS, 1979). O uso de espécies selvagens é uma ferramenta valiosa no melhoramento da batata, pois geralmente apresentam maior variabilidade que a espécie cultivada, e possuem um maior número de alelos diferentes (Chapman, 1989, citado por IWANAGA & SCHMIEDICHE, 1989).

Uma das estratégias para utilização de germoplasma exótico é a produção de dihaplóides ($2n=2x=24$) de *S. tuberosum* (PELOQUIN, 1982)

que se cruzam prontamente com as espécies selvagens por apresentarem o mesmo grau de ploidia. Os híbridos obtidos deste cruzamento são geralmente vigorosos, mostram um pareamento cromossômico e recombinação efetivos devido à falta de diferenciações entre os taxa e são férteis (PELOQUIN, 1979).

Os híbridos, apesar de serem vigorosos, geralmente possuem muitos caracteres indesejáveis herdados dos materiais selvagens, tais como maior comprimento dos estolões, porte da planta tipo prostrado, característica de tubérculo não comercial. Isto limita seu emprego direto e faz com que seja necessário seu retrocruzamento com a espécie cultivada. Para tanto há necessidade que o híbrido diplóide produza gametas não reduzidos (pólen $2n$) a fim de gerar progênies tetraplóides.

Os gametas não reduzidos são produzidos por aberrações no processo meiótico e transmitem boa parte das interações inter e intralocos para os descendentes.

Vários mecanismos estão envolvidos na formação de pólen $2n$, os quais conferem níveis variados de heterozigose e, conseqüentemente, diferentes graus de vigor nas progênies. Entre eles, os mais importantes são os fusos paralelos (**ps**) e fundidos (**fs**) geneticamente equivalentes a FDR (First Division Restitution), e a citocinese prematura (**pc-1** e **pc-2**) geneticamente equivalentes a SDR (Second Division Restitution), transmitindo em média 80 e 40% da heterozigose à progênie, respectivamente.

É importante para o melhorista conhecer os mecanismos que atuam na formação de gametas $2n$ para que, através destes, maximize a heterozigose nas progênies havendo um maior ganho na produção de

tubérculos, já que esta necessita de vários locos em heterozigose para se expressar ao máximo (MENDOZA & HAYNES, 1974).

O objetivo do trabalho foi avaliar os mecanismos pelos quais híbridos de dihaplóides de *Solanum tuberosum* com *Solanum chacoense* produzem grãos de pólen $2n$, bem como indicar aqueles que poderão aumentar a chance de sucesso em programas de melhoramento, transmitindo maior heterozigose às progênies.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Origem e Base Genética da Batata Cultivada

As espécies do gênero *Solanum*, produtoras de tubérculos, fazem parte da família Solanaceae, seção Tuberarium. Além de espécies cultivadas, esta seção possui em torno de 160 espécies selvagens, representando uma grande fonte de variabilidade genética. Os conhecimentos de estágios precoces da domesticação da cultura da batata (*Solanum tuberosum* L.) não são precisos. Sabe-se que sua domesticação ocorreu na região andina na América do Sul, entre o Peru e Bolívia e, com a chegada dos espanhóis no século XVI, houve uma grande dispersão em área de cultivo pelo homem. No entanto, a área exata e detalhes da introdução da cultura na Europa são discutíveis (HAWKES, 1978).

O número básico de cromossomas é $x=12$, variando quanto à ploidia, do diplóide ($2n=2x=24$) ao hexaplóide ($2n=6x=72$), de acordo com GOTTSCHALK (1984) e UGENT (1970).

Duas hipóteses são sugeridas para se explicar a origem da tetraploidia ($2n=4x=48$) na batata cultivada (*Solanum tuberosum* L.). A primeira hipótese é a da alotetraploidia, onde teria havido hibridação entre duas ou mais espécies diferentes, havendo, posteriormente, duplicação espontânea do conjunto cromossômico do híbrido (poliploidização assexual).

O complemento alotetraplóide conteria dois pares de genomas, que possuiriam em comum um número considerável de segmentos cromossômicos homólogos ou cromossomas iguais, mas diferindo em relação a um número relativamente grande de segmentos cromossômicos, os quais produziram esterilidade quando presentes juntos ao nível diplóide (STEBBINS, 1947). A segunda hipótese é a da autotetraploidia, via gametas não reduzidos (poliploidização sexual), podendo ocorrer por dois processos. No primeiro, um gameta feminino diplóide ($2n$) seria fertilizado por um gameta masculino haplóide (n), produzindo um indivíduo triplóide ($3x$), o qual produziria citologicamente gametas femininos não reduzidos triplóides ($3n$), que seriam fertilizados por gametas haplóides (n) do genitor diplóide, resultando uma progênie tetraplóide ($4x$). No segundo processo, os gametas masculinos e femininos seriam não reduzidos e, com a fertilização, dariam origem a uma progênie tetraplóide ($4x$), de acordo com De WET (1980). Análises citológicas utilizando, na prófase I, o paquíteno, dão maior crédito à hipótese da autotetraploidia na interpretação do desenvolvimento evolucionário da espécie (GOTTSCHALK, 1984). Esta fase foi utilizada por apresentar cromossomas com estrutura fina e melhor observação do pareamento cromossômico. O fato de se observar tetravalentes na metáfase I (JACKSON & CASEY, 1980) e, em cruzamentos interespecíficos, os híbridos apresentarem-se férteis (HERMSEN, 1966), demonstra uma estreita homologia entre os cromossomas, apoiando a teoria da autotetraploidia.

Por ser uma espécie autotetraplóide, de reprodução assexuada e possuir herança tetrassômica (IWANAGA & PELOQUIN, 1982), os métodos de melhoramento empregados na cultura da batata diferem daqueles utilizados para as espécies diplóides. Um outro entrave em programas de

melhoramento é a estreita base genética da cultura, explicada por processos de isolamento e erosão genética. Três fatores são considerados como causadores da diminuição da variabilidade genética: o primeiro desses fatores seria a pequena longevidade na conservação dos tubérculos, quando da introdução da cultura na Europa, por estarem confinados nos porões dos navios, estes apodreciam. Além disso, uma vez introduzida na Europa, a cultura da batata teve que ser selecionada visando a tuberização em condições de dias longos, visto que sua adaptação para a produção de tubérculos só ocorria em condições de dias curtos. O último fator é um episódio histórico ocorrido na Irlanda, por volta de 1840, onde grandes áreas de cultivo da batata foram dizimadas por uma doença conhecida como requeima, causada por *Phytophthora infestans* (HAWKES, 1978; SIMMONDS, 1979; UGENT, 1970).

No melhoramento da batata, há o complicador da herança tetrassômica. Tem-se a necessidade de se cultivar uma ampla gama de "seedlings", visto que as progênies resultantes apresentam grande variação devido ao maior número de genótipos segregantes, em relação à herança dissômica. Contudo, a herança tetrassômica proporciona a possibilidade de se ter alelismo múltiplo, produzindo heterose por intermédio de interações interalélicas e interlocos, (DUNBIER & BINGHAM, 1975; IWANAGA & PELOQUIN, 1982; MARIS, 1990).

O objetivo comum em qualquer método de melhoramento adotado para esta espécie é a obtenção de cultivares mais resistentes a pragas e doenças, adaptadas às condições de cultivo e com características de tubérculos que satisfaçam os consumidores. Assim sendo, sabendo que o vigor e a produção de tubérculos são caracteres geneticamente complexos, necessitando de locos em heterozigose e de interações que envolvem mais

de dois alelos para se expressarem ao máximo (DUNBIER & BINGHAM, 1975; MENDOZA & HAYNES, 1974) e, sendo a heterozigose a principal meta procurada pelo melhorista, é recomendável avaliar a influência dos diferentes sistemas meióticos na produção de gametas (PELOQUIN, 1979). Isto conduz a considerações na importância da variância genética não aditiva (interações intra e interlocos) para a obtenção de respostas heteróticas na produção de tubérculos (MENDOZA & HAYNES, 1974).

2.2. Métodos de Melhoramento Utilizados na Cultura da Batata

Alguns métodos são sugeridos no melhoramento da batata, como: retrocruzamentos, cruzamentos entre linhagens endogâmicas, método de desenvolvimento parental, seleção clonal, seleção recorrente fenotípica.

O método de retrocruzamento é diferente daquele praticado em culturas autógamas, visto que as cultivares são altamente heterozigotas. Quando se quer adicionar características facilmente herdadas, um retrocruzamento modificado é utilizado, no qual a cada geração de retrocruzamento uma cultivar diferente é usada como um genitor recorrente, incorporando assim os caracteres do germoplasma adaptado (HOOPES & PLAISTED, 1987; MENDOZA & HAYNES, 1974).

O cruzamento entre linhagens endogâmicas é conseguido com sucessivas autofecundações de cultivares visando produzir linhagens endogâmicas livres de alelos deletérios, sendo estas posteriormente cruzadas duas a duas. Este método acarreta sérias desvantagens: muitas cultivares contêm pólen estéril; os problemas de esterilidade e florescimento aumentam após algumas gerações de endogamia; o uso de linhagens

endogâmicas limita a heterozigose possível e necessária nas espécies autotetraplóides (HOOPES & PLAISTED, 1987).

No método de desenvolvimento parental, procura-se incorporar em um clone um grande número de características desejáveis através de uma sucessão de cruzamentos entre vários genitores, onde cada um contribui com um número diferente de alelos desejáveis (HOOPES & PLAISTED, 1987).

Na seleção clonal, obtém-se uma população segregante através de cruzamentos biparentais e, a partir desta população, selecionam-se clones com características desejáveis através das gerações. Deve-se ter o cuidado de obter um grande número de "seedlings", visto que a recombinação gênica só é realizada no início do processo (BOOCK, 1969; HOWARD, 1970).

Com relação à seleção recorrente fenotípica, uma população variável é criada, seleções são feitas para características desejáveis sendo, posteriormente, realizados intercruzamentos entre os clones selecionados com um bulk de pólen destes clones. Pode-se repetir este processo por vários ciclos. Este método é aplicável para caracteres condicionados por muitos genes, quando o objetivo é desenvolver uma população na qual a característica desejável ocorra em alta frequência (ALLARD, 1971).

Um método analítico de melhoramento foi proposto por CHASE (1963), baseado na redução da ploidia da espécie tetraplóide, transformando-a em um dihaplóide. Como esta proposta limitava o aproveitamento da heterozigose necessária para o vigor e a produção, devido à duplicação somática dos cromossomas, PELOQUIN (1983) propôs um método alternativo de melhoramento (Figura 1).

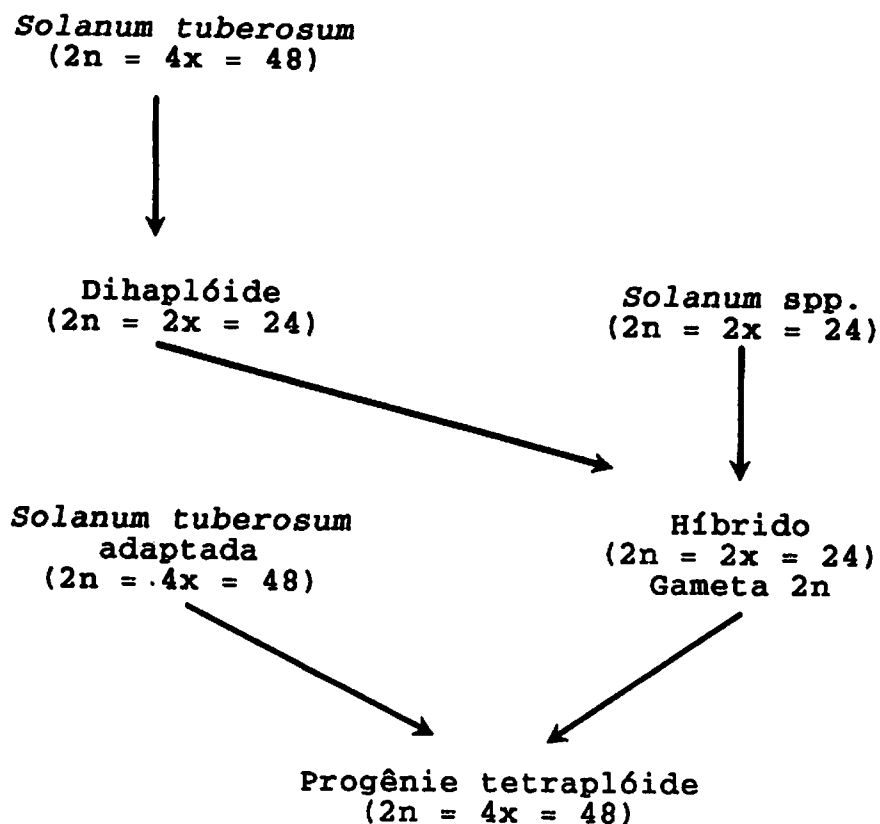


FIGURA 1. Representação de um esquema alternativo de melhoramento visando a obtenção de progênie tetraplóide híbrida. (FONTE: PELOQUIN, 1983).

O dihaplóide é conseguido utilizando-se cultura de anteras (JACOBSEN & SOPORY, 1978; VEILLEUX et alii, 1982) ou indutores partenogênicos (TAYLOR, 1978; YERK & PELOQUIN, 1990). A simples transformação do tetraplóide em dihaplóide não acarreta a introdução de novos alelos na população, tendo-se a necessidade de cruzá-lo com outras fontes de germoplasma (MARIS, 1990). Pode-se utilizar espécies selvagens, visto que são uma boa fonte de variabilidade, incorporando alelos de interesse econômico na população, como resistência a doenças, nematóides, insetos, alto conteúdo de matéria seca (HAWKES, 1978; HOUGAS & PELOQUIN, 1958).

O dihaplóide ($2n=2x=24$) é cruzado com uma espécie diplóide ($2n=2x=24$), gerando um híbrido também diplóide ($2n=2x=24$). IWANAGA & SCHMIEDICHE (1989) citam que mais de 70% das espécies de *Solanum* produtoras de tubérculos, com o número cromossômico já determinado, são diplóides. Este fato facilita grandemente a aplicação deste método em programas de melhoramento, visto que há grandes opções para se escolher a espécie diplóide na introdução de alelos desejáveis na população.

O híbrido gerado tendo um genitor não cultivado (espécie selvagem), traz consigo muitos caracteres indesejáveis e, por isso, é necessário seu cruzamento com a espécie cultivada, visando a eliminação destes caracteres. Um problema que surge neste cruzamento é o nível de ploidia diferente, visto que a espécie cultivada é tetraplóide e o híbrido é diplóide, gerando assim uma progênie triplóide ($2n=3x=36$), segundo LANGE & WAGENVOORT (1973).

Uma solução é a produção de gametas não reduzidos pelo híbrido diplóide, levando à formação de uma progênie tetraplóide (IWANAGA & SCHMIEDICHE, 1989). Como resultado, a diversidade genética encontrada ao nível diplóide pode ser combinada diretamente nas cultivares tetraplóides, maximizando a heterozigose e garantindo alto vigor e produtividade às progênies (HERMSEN, 1984; PELOQUIN, 1982).

Com relação à formação de gametas não reduzidos, vários mecanismos são responsáveis e, dependendo do modo de formação, passam de 40 a 100% da heterozigose do genitor à progênie (HERMUNDSTAD & PELOQUIN, 1985; IWANAGA, 1984; MENDIBURU & PELOQUIN, 1977; MOK & PELOQUIN, 1975b; RAMANNA, 1983).

2.3. Citogenética do Autotetraplóide

2.3.1. Mecanismos de formação de gametas reduzidos

ALLARD (1971), ao julgar a freqüência em que os diferentes níveis de autoploidia aparecem entre as plantas cultivadas, considera a autotetraploidia como o nível de ploidia mais importante para a agricultura, tendo quatro importantes espécies cultivadas neste grupo: a alfafa (*Medicago sativa* L.), o café (*Coffea arabica* L.), o amendoim (*Arachis hypogea* L.) e a batata (*Solanum tuberosum* L.).

A característica essencial da citogenética do autotetraplóide é a partição das 8 cromátides da primeira divisão meiótica em 4 pares, sendo que cada par corresponderá a um dos 4 gametas produzidos em cada célula-mãe. Este processo meiótico é mais complicado do que aquele que ocorre em organismos diplóides, o qual envolve a partição de 4 cromátides, uma para cada gameta formado. Num tetraplóide podem ser formados, para cada loco, 5 genótipos, considerando dois alelos por loco: quadruplex (AAAA), triplex (AAAa), duplex (AAaa), simplex (Aaaa) e nuliplex (aaaa). Estas combinações zigóticas resultam da fusão de três tipos diferentes de gametas (AA, Aa e aa), cujas freqüências estão diretamente relacionadas com os acontecimentos citológicos na meiose (ALLARD, 1971). Em batata, muitos caracteres estudados parecem estar relacionados com o genótipo simplex (HOWARD, 1970).

Considerando alelismo múltiplo, pode-se ter genótipos monoalélicos (nuliplex ou quadruplex - $a_1a_1a_1a_1$); di-alélicos (simplex ou triplex - $a_1a_1a_1a_2$); di-alélicos, tri-alélicos ou tetra-alélicos (duplex - $a_1a_1a_2a_2$; triplex - $a_1a_1a_2a_3$; quadruplex - $a_1a_2a_3a_4$). Um loco tetra-alélico pode exibir

heterozigose máxima, visto que há oportunidade de se encontrar quatro alelos diferentes no mesmo loco (BINGHAM, 1980).

Os fatores que afetam a produção gamética nos tetraplóides são o genótipo da célula-mãe, a regularidade com a qual são formados os tetravalentes e a casualidade da disjunção dos tetravalentes, a qual depende primariamente da distância entre o centrômero e o loco em questão (ALLARD, 1971).

Considere-se a formação de gametas em um simplex (Aaaa), no qual somente são formados bivalentes. As duas cromátides portadoras do alelo dominante estão sempre reunidas pelo mesmo centrômero, conseqüentemente irão para o mesmo pólo na anáfase I e sempre se separam na anáfase II. Portanto, os dois alelos dominantes (cromátides derivadas de um mesmo cromossoma) nunca aparecem no mesmo gameta, mas cada um deles tem a mesma chance de aparecer no gameta com os outros alelos. Este processo é denominado segregação cromossômica ao acaso, cujos aspectos citológicos são apresentados na Figura 2.

A relação gamética neste caso é de 1Aa:1aa. Seguindo-se o mesmo raciocínio, para os indivíduos duplex (AAaa) e triplex (AAAa) a relação gamética será 1AA:4Aa:1aa e 1AA:1Aa, respectivamente (HOWARD, 1970).

A localização das cromátides nos gametas, pelo processo de segregação cromossômica ao acaso, foi ocasionada pela falha na formação de tetravalentes na primeira divisão meiótica. Quando o loco em questão mostra ligação absoluta com o centrômero, os resultados obtidos são exatamente os mesmos ainda que sejam sempre formados os tetravalentes (ALLARD, 1971).

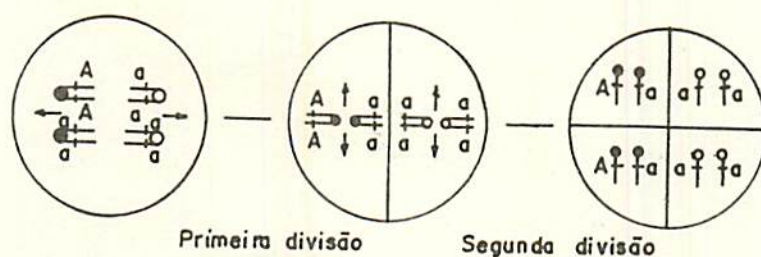


FIGURA 2. Formação de gametas em um indivíduo simplex (Aaaa), no qual não houve permuta entre o loco e o centrômero.
(FONTE: ALLARD, 1971)

Quando os tetravalentes são formados e o loco em questão está suficientemente distante do centrômero de maneira a permitir a formação de um quiasma entre o loco e o centrômero, as cromátides irmãs nesse loco podem ficar ligadas a centrômeros diferentes (HOWARD, 1970). Conseqüentemente, alelos irmãos podem ser incluídos no mesmo gameta ou em gametas diferentes, dependendo da distribuição das cromátides nas duas anáfases meióticas (Figura 3). Quando a formação de tetravalentes é completa e 50% de permuta ocorre entre o centrômero e o loco, a partição das cromátides para os gametas será ao acaso. A relação gamética para um indivíduo simplex será, portanto, 1AA:12Aa:15aa. Para indivíduos duplex e triplex as relações gaméticas serão: 3AA:8Aa:3aa e 15AA:12Aa:1aa, respectivamente (ALLARD, 1971).

A segregação cromossômica ao acaso, com sua produção gamética característica, ocorre quando a separação é reducional na primeira divisão meiótica, não havendo formação de tetravalentes ou havendo ligação absoluta entre o loco e o centrômero. A segregação cromatídica ao acaso,

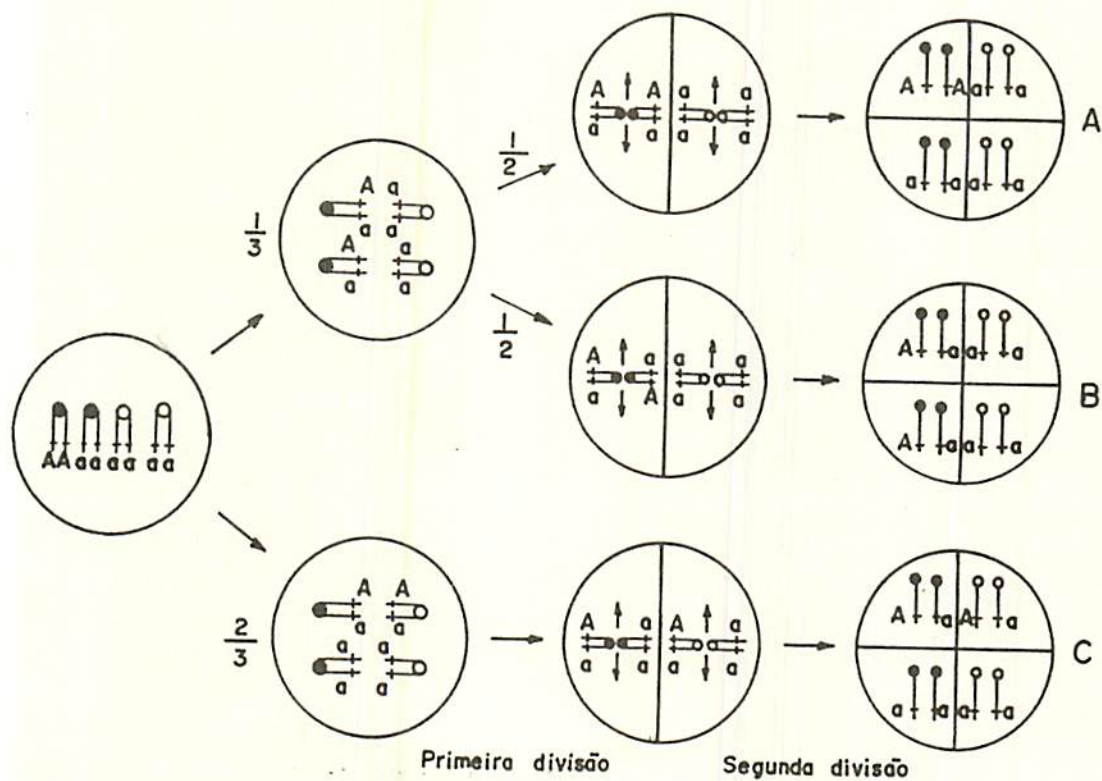


FIGURA 3. Formação gamética de um simplex (Aaaa), no qual o cromossoma que carrega o alelo dominante (A) permuta geneticamente com outro cromossoma. Os resultados são dois cromossomas Aa e dois aa. Os dois cromossomas Aa vão para o mesmo pólo na primeira divisão, em um terço das vezes (formação de bivalentes). Quando eles passam para o mesmo pólo na primeira divisão, e também na segunda divisão (sequência A), alguns gametas homozigotos são formados. Este processo é chamado redução dupla. (FONTE: ALLARD, 1971).

com suas produções gaméticas diferentes, ocorre quando os tetravalentes são formados e 50% da permuta genética ocorrem entre o centrômero e o loco. Verifica-se que a produção gamética será intermediária quando algumas vezes há formação de tetravalentes e outras não, e os centrômeros e o loco são parcialmente ligados.

Além da formação de tetravalentes e bivalentes, na batata podem ser encontrados trivalentes e univalentes, levando à formação de gametas aneuplóides. Se estes são funcionais, podem proporcionar resultados genéticos similares aos esperados na segregação cromatídica (HOWARD, 1970).

O efeito da formação parcial de tetravalentes pode ser resumido em um parâmetro a , que tem seu valor mínimo zero quando os tetravalentes nunca são formados, e o valor máximo 1 quando os tetravalentes são sempre formados e há separação ao acaso dos cromossomas, 2 a 2 (ALLARD, 1971).

O efeito do número variável de quiasmas se resume a um parâmetro e , o qual reflete a freqüência média com a qual as cromátides irmãs alcançam o mesmo gameta. Quando os dois cromossomas em um gameta são derivados de cromátides irmãs, ocorreu a redução dupla. O parâmetro e torna o seu valor mínimo zero quando a ligação entre o centrômero e o loco é completa, porque todas as separações são reducionais na primeira divisão meiótica e as cromátides irmãs não podem terminar no mesmo gameta (Figura 2). Para deduzir o valor máximo de e , é necessário identificar a sequência de eventos pela qual as cromátides irmãs terminam em um mesmo gameta (redução dupla). É necessário que ocorra uma permuta simples (ou um número ímpar de permutas) entre o centrômero e o loco, de maneira que as cromátides irmãs fiquem ligadas a dois

centrômeros diferentes; os centrômeros ligando cromátides irmãs vão para o mesmo pólo na anáfase I; essas cromátides irmãs também vão para o mesmo pólo na anáfase II (Figura 3).

A produção gamética na herança tetrassômica é, portanto, uma função dos parâmetros **a** e **e**, cujo produto dos efeitos dá origem a um outro parâmetro, denominado **alfa** (ALLARD, 1971).

O pareamento em um tetraplóide pode ser ou ao acaso ou seletivo para qualquer grupo de quatro cromossomas homólogos. Com o pareamento ao acaso, cada um dos quatro cromossomas homólogos parecia com a mesma freqüência com qualquer um dos outros cromossomas. O pareamento seletivo ocorre quando os 4 cromossomas não são igualmente homólogos, mas mostram afinidades diferentes. A homologia é um termo relativo que pode variar desde a completa identidade dos cromossomas, que é esperada na duplicação dos cromossomas de um diplóide homozigoto, até uma homologia muito fraca, esperada em certos tetravalentes, quando o híbrido F_1 entre espécies bastante diferenciadas tem seu número de cromossomas duplicado. Autotetraplóides estabelecidos a muito tempo, como a batata e a alfafa, podem mostrar alta freqüência de pareamento seletivo, presumivelmente como resultado do acúmulo, durante longo período de tempo, de pequenas mudanças nos cromossomas, ou seja, uma tendência em direção a uma diploidização, como resultado de mudanças gradativas em cromossomas originalmente idênticos (ALLARD, 1971).

2.3.2. Microsporogênese e megasporogênese

Na batata, a microsporogênese normal ocorre quando, na anáfase II, forma-se um ângulo de aproximadamente 60 graus entre um complemento haplóide e outro, levando à formação de quatro micrósporos reduzidos (MOK & PELOQUIN, 1975a; SOUTER et alii, 1980).

Três mecanismos de formação de pólen $2n$ em batatas diplóides são conhecidos (MOK & PELOQUIN, 1972). Um mecanismo causado pelo alelo recessivo do gene **ps** (parallel spindles), é caracterizado por fusos paralelos na anáfase II, levando à formação de díades com micrósporos não reduzidos (MOK & PELOQUIN, 1975a; RAMANNA, 1979; SOUTER et alii, 1980). A Figura 4 mostra esta diferença entre a meiose normal e com a presença do fuso paralelo.

Os outros dois mecanismos são causados por genes recessivos não alélicos **pc-1** (premature cytokinesis-1) e **pc-2** (premature cytokinesis-2), formando micrósporos não reduzidos pela omissão da segunda divisão meiótica após a telófase I (**pc-1**) ou após a prófase II (**pc-2**), de acordo com MOK & PELOQUIN (1975a,b).

Um outro mecanismo relatado é o de fusos fundidos, causado por um gene **fs** recessivo (fused spindles), onde os dois conjuntos cromossômicos na metáfase II se tornam unidos. O produto final ainda é discutido. VEILLEUX & LAUER (1981) relatam que este mecanismo pode ser uma manifestação diferente do gene **ps** (fusos paralelos) e, com isto levaria à formação de díades. Já RAMANNA (1974) atribui este mecanismo à formação de tríades, havendo a presença de um micrósporo não reduzido ($2n$) e dois micrósporos reduzidos (n).

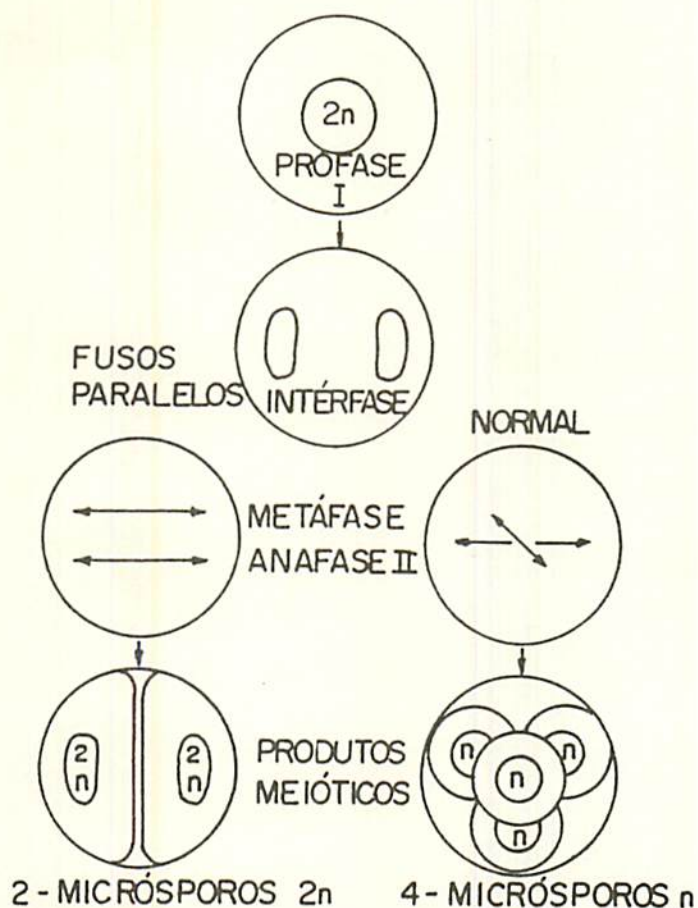


FIGURA 4. Representação esquemática mostrando a diferença entre a meiose normal e com fusos paralelos durante a segunda divisão meiótica.

(FONTE: PELOQUIN, 1981).

Segundo RAMANNA (1979), estes quatro mecanismos estão relacionados com uma restituição meiótica, ou seja, há a formação de um núcleo com número cromossômico não reduzido em lugar de dois núcleos com número cromossômico reduzido, devido à falta da primeira divisão meiótica (divisão heterotípica) ou da segunda divisão meiótica (divisão homeotípica).

Na presença dos fusos paralelos (**ps**) e fusos fundidos (**fs**), os micrósporos formados são geneticamente equivalentes a FDR (First Division

Restitution), ou seja, à restituição da primeira divisão meiótica. Os gametas FDR originam de uma divisão equacional do complemento cromossômico total antes da divisão reducional (na anáfase I). Por ser uma divisão idêntica à mitose (equacional), espera-se que os gametas formados sejam idênticos entre si e às células-mães que os derivaram. Isto implica dizer que eles não segregam, as combinações alélicas favoráveis (heterozigose) ou de locos (epistasia) que estão presentes no parental podem ser preservadas intactas no gameta FDR (RAMANNA, 1983). Na Figura 5 estão representadas as consequências genéticas dos gametas FDR.

Nos mecanismos de citocinese prematura (**pc-1** e **pc-2**), os micrósporos formados são geneticamente idênticos a SDR (Second Division Restitution), ou seja, à restituição da segunda divisão meiótica. O núcleo restitui após a separação disjuncional dos cromossomas homólogos, isto é, após a anáfase I. Cada produto da separação disjuncional - um complemento haplóide - divide-se mitoticamente mas as cromátides irmãs não se separam para os pólos, devido à citocinese prematura (RAMANNA, 1979).

Investigações citogenéticas da presença de gametas FDR e SDR têm sido realizadas em batata (*Solanum tuberosum*) (RAMANNA, 1974, 1979, 1983; VEILLEUX & LAUER, 1981); em alfafa (*Medicago sativa*) (McCOY, 1982; VORSA & BINGHAM, 1979) e também em milho (*Zea mays*) (RHOADES & DEMPSEY, 1966). A importância destes estudos reside no fato de se avaliar a influência dos diferentes sistemas meióticos na produção de gametas (PELOQUIN, 1979).

Em batatas diplóides ($2n=2x=24$), um ou, às vezes, dois quiasmas são observados por bivalente (Swaminathan & Howard, 1953 citados por SIMON & PELOQUIN, 1976). Contudo, HERMSEN (1984),

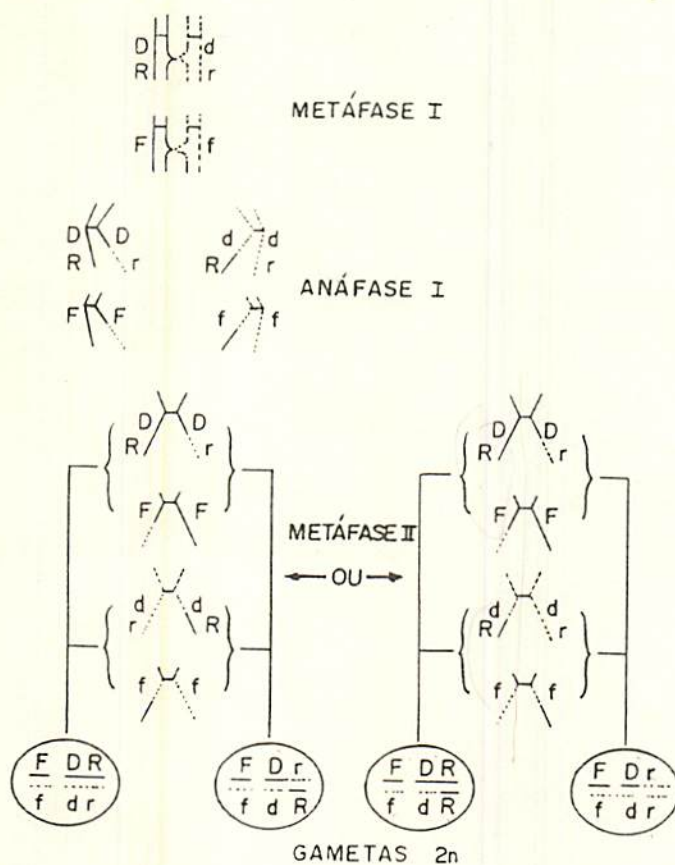


FIGURA 5. Representação esquemática das consequências genéticas em gametas FDR, considerando três genes hipotéticos (F, D e R). Os genótipos dos produtos meióticos podem ser determinados pela presença ou ausência de um quiasma entre o centrômero e o loco considerado.

(FONTE: PELOQUIN, 1981).

considera apenas um quiasma por bivalente devido ao tamanho reduzido dos cromossomas.

Os gametas FDR transmitem em torno de 80% da heterozigose parental à progênie (Figura 6), considerando que todos os locos situados do centrômero à primeira permuta genética passam 100% de heterozigose; e entre a primeira e segunda permutas passam 50% da heterozigose para o

● = centrômero
X = quiasma

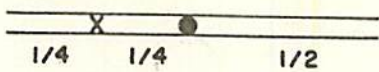
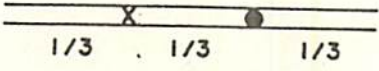
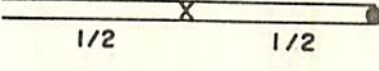
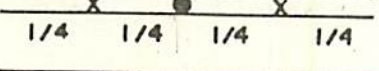
Tipo de cromossoma	Porcentagem da heterozigose parental	
	em gametas FDR	em gametas SDR
	$3/4 \cdot 1 + 1/4 \cdot 1/2 = 7/8$	$3/4 \cdot 0 + 1/4 \cdot 1 = 1/4$
	$2/3 \cdot 1 + 1/3 \cdot 1/2 = 5/6$	$2/3 \cdot 0 + 1/3 \cdot 1 = 1/3$
	$1/2 \cdot 1 + 1/2 \cdot 1/2 = 3/4$	$1/2 \cdot 0 + 1/2 \cdot 1 = 1/2$
	$2/4 \cdot 1 + 2/4 \cdot 1/2 = 3/4$	$2/4 \cdot 0 + 2/4 \cdot 1 = 1/2$
Média	80.2 %	39.6 %

FIGURA 6. Representação esquemática da porcentagem da heterozigose parental presente em gametas FDR e SDR.

(FONTE: HERMSEN, 1984).

gameta formado (HERMSEN, 1984; MOK & PELOQUIN, 1975a; MOK et alii, 1976). Estes gametas podem conferir muitos locos multialélicos, quando do cruzamento com a espécie adaptada, proporcionando um maior vigor na progênie tetraplóide e ainda podem contribuir grandemente para a uniformidade da progênie (HERMSEN, 1984; RAMANNA, 1979).

Os gametas SDR transmitem em torno de 40% da heterozigose parental à progênie (Figura 6), considerando que todos locos situados do centrômero até a primeira permuta genética passam 100% de homozigose e os locos entre a primeira e segunda permutas passam 100% de heterozigose para o gameta formado (MOK & PELOQUIN, 1975a; HERMSEN, 1984). Se os

gametas são derivados de progênies heterozigotas, estes terão um nível relativamente alto de homozigose. Isto pode ser importante porque pode aumentar a dosagem de muitos alelos, como no desenvolvimento de caracteres dominantes desejáveis com herança simples. No entanto, gametas SDR de parentais heterozigotos são altamente heterogêneos e, sendo assim, podem contribuir para a heterogeneidade e também para o potencial de seleção na progênie (HERMSEN, 1984; RAMANNA, 1979).

É importante salientar que todos os três mecanismos de formação de pólen $2n$ (fusos paralelos, citocinese prematura-1 e citocinese prematura-2) são mutações recessivas, não alélicas (MOK & PELOQUIN, 1975b) e que possuem penetrância incompleta e expressividade variável (McCOY, 1982; McHALE, 1983; WERNER & PELOQUIN, 1987, 1990). Com isto, em uma mesma planta, a freqüência de gametas n e $2n$ é muito variável (WATANABE & PELOQUIN, 1991).

Para a caracterização do pólen $2n$, são feitas mensurações dos diâmetros dos grãos de pólen, considerando $2n$ os que apresentam valores entre $26-33\mu\text{m}$ e n aqueles com valores entre $18-23\mu\text{m}$ (QUINN, MOK & PELOQUIN, 1974). Estes mesmos autores consideram que na utilização de clones produtores de pólen $2n$, estes devem possuir no mínimo 5% de freqüência de pólen $2n$ para que se tenha sucesso em cruzamentos com outro parental tetraplóide. O tamanho do grão de pólen também serve como critério na avaliação do nível de ploidia do gameta (BAMBERG & HANNEMAN, 1991; ORJEDA et alii, 1990; QUINN et alii, 1974; YERK & PELOQUIN, 1990). Tem sido descoberta variação na freqüência de pólen $2n$ observada em clones diplóides de alfafa (McCOY, 1982), como também em batata, crescidos em diferentes ambientes. VEILLEUX & LAUER (1981) acharam freqüências de pólen $2n$ variável entre plantas de batata

classificadas como produtoras de pólen $2n$ em um ambiente e normais em outro ambiente. Nenhum efeito ambiental específico na produção de pólen $2n$ foi determinado.

A germinação dos grãos de pólen de um clone varia grandemente nos diferentes anos. Esta variação não parece estar correlacionada com a idade da planta, mas com as variações ambientais nas estações, principalmente umidade, temperatura e estado nutricional da planta (SIMON & PELOQUIN, 1976). Clones FDR mantêm germinação alta de pólen $2n$ em torno de 30 dias após a estocagem, ao passo que clones SDR e pólen n demonstram uma redução linear da viabilidade no mesmo período de tempo (SIMON & PELOQUIN, 1976). Uma explicação plausível para a superioridade dos grãos de pólen $2n$ via FDR, parece ser a alta heterozigose gamética, com subsequente heterozigose zigótica (MENDIBURU & PELOQUIN, 1970).

A identificação de componentes ambientais específicos que influem na frequência de pólen $2n$ não é possível, por causa da grande interação Genótipo x Ambiente (CUNHA, 1992; VEILLEUX & LAUER, 1981) de vários fatores ambientais não controlados.

Plantas crescidas em condições de campo e telado não tiveram diferenças significativas quanto à produção de pólen $2n$ (VEILLEUX et alii, 1982).

Um outro mecanismo de formação de pólen $2n$ foi relatado por MOK & PELOQUIN (1975b). Os autores cruzaram clones diplóides de genótipos conhecidos para os mecanismos de fusos paralelos (**ps**) e citocinese prematura (**pc-1** e **pc-2**). Do cruzamento (**ps/ps pc-1/pc-1 PC-2/PC-2 x Ps/ps PC-1/PC-1 PC-2/PC-2**) resultou um mecanismo que afetou a microsporogênese de forma semelhante ao **pc-2**, chamado de **pc-3**

(premature cytokinesis-3). A exata natureza da herança do **pc-3** permanece desconhecida.

A utilização de mutantes sinapticos associada aos mutantes meióticos é mais uma alternativa empregada pelos melhoristas (IWANAGA & PELOQUIN, 1979; IWANAGA, 1984; JOHNSTON et alii, 1986; OKWUAGWU & PELOQUIN, 1981). O termo mutante sinaptico é sugerido por haver dificuldade em muitas espécies de se diferenciar a assinapse (mutantes que influenciam no início do pareamento dos cromossomas) da dessinapse (mutantes que alteram a manutenção do pareamento cromossômico) em estágios meióticos iniciais (IWANAGA & PELOQUIN, 1979). Este mutante, designado **sy4**, tem herança monogênica recessiva (JOHNSTON et alii, 1986). As anormalidades meióticas oriundas da sua presença são: sinapse pobre no paquíteno, alta freqüência de univalentes na diacinese, falta de pareamento na metáfase I, dispersão dos cromossomas na anáfase I, alta freqüência de pólen estéril devido ao desbalanceamento cromossômico (segregação irregular das cromátides). No entanto, quando este mutante sinaptico é combinado com o mutante meiótico **ps** (parallel spindle), pólen $2n$ fértil é produzido. A importância genética desta combinação é que permite a possibilidade de aumentar o nível de heterozigose que pode ser transmitido à progênie diplóide. Se o mutante sinaptico é completamente assinaptico (não há pareamento, conseqüentemente não há permuta genética), tem-se a possibilidade de transmitir 100% da heterozigose e epistasia do parental à progênie. Se o mutante é parcialmente assinaptico, um valor intermediário de heterozigose (entre 100 e 80%) é transmitido para a progênie. Com isso, o mutante sinaptico (**sy4**) aliado ao mutante meiótico (**ps**) propicia um importante método de melhoramento que maximiza a heterozigose e a epistasia, transferindo o germoplasma diplóide, o qual tem

características desejáveis eficientemente combinadas ao nível 2x, ao tetraplóide (4x), segundo IWANAGA (1984).

WATANABE & PELOQUIN (1989) avaliaram a porcentagem da produção de pólen $2n$ em cinco espécies selvagens de batata e observaram valores entre 5% e 30%. Isto indica que há genes mantendo a produção de gametas $2n$ em um certo nível. Sendo que numa planta há a produção de pólen n e $2n$, hibridações entre ploidias diferentes (interploidia) ou entre mesma ploidia (intraploidia) podem ocorrer ao mesmo tempo. Deste modo, o controle genético simples da formação de gametas $2n$ é um dos fatores que aumenta a probabilidade de repetidas poliploidizações sexuais (WERNER & PELOQUIN, 1990).

IWANAGA & PELOQUIN (1982) ao avaliarem a freqüência do alelo **ps** em 63 cultivares de *Solanum tuberosum*, constataram-no em alta freqüência (0,69), apoiando a hipótese que o pólen $2n$ teve participação na origem de batatas tetraplóides cultivadas. Se a poliploidização assexual estivesse envolvida na origem da tetraploidia da batata, era de se esperar que a freqüência do alelo **ps** permanecesse a mesma tanto na população tetraplóide como na população ancestral diplóide. Por outro lado na poliploidização sexual esperar-se-ia freqüências maiores na população tetraplóide, porque o pólen $2n$ produzido por um parental diplóide recessivo e homocigoto para o alelo **ps** transmite somente o alelo **ps** e não o seu dominante e, conseqüentemente aumentaria a freqüência desse na nova população tetraplóide.

O pólen $2n$ FDR é homocigoto recessivo para o gene **ps** e contribui com dois alelos **ps** na população tetraplóide. Com isto, a introgressão de uma população diplóide para uma tetraplóide através do pólen $2n$ pode aumentar a freqüência do alelo **ps** na população tetraplóide.

A alta freqüência do alelo **ps** aumenta a possibilidade de contínua introgressão de espécies diplóides, para cultivares tetraplóides, através do pólen $2n$ (WATANABE & PELOQUIN, 1989).

O papel do gene **ps** na evolução da batata é de suma importância, pois aumenta a heterozigose e cria um alto grau de diversidade genética nas populações tetraplóides, fazendo com que estas sejam competitivas com os parentais diplóides e colonizem nichos ecológicos não disponíveis para as populações diplóides (IWANAGA & PELOQUIN, 1982).

O alto grau de diversidade genética da batata tem sido completado pela poliploidização sexual, que oferece a transmissão da heterozigose do parental diplóide à progênie tetraplóide; pela herança tetrassômica, que aumenta as interações intra e inter-locos; e pela contínua introgressão dos parentais diplóides via gametas $2n$.

Todos os processos meióticos são regulados por genes, mas também por sensibilidades a fatores ambientais. Em batata, uma ampla variação na freqüência de pólen $2n$ foi encontrada em plantas de diferentes idades (RAMANNA, 1974), entre plantas de um mesmo clone, entre flores de uma planta, entre anteras de uma flor e entre lóculos de uma antera (RAMANNA, 1979; VEILLEUX et alii, 1982).

A freqüência de pólen $2n$ pode variar consideravelmente durante estações devido à variação ambiental (CONCILIO & PELOQUIN, 1991; CUNHA, 1992). Para que haja um nível estável de produção de gametas $2n$ sob diferentes ambientes, é importante ao melhorista conhecer genótipos com estas características. Em batata, estes genótipos estão sendo descobertos, mas em número reduzido (HERMSEN, 1984).

É notado que no melhoramento da batata os gametas FDR são muito atraentes, visto que eles oferecem possibilidades de transferência da

heterozigose e combinações gênicas favoráveis do parental diplóide à progênie tetraplóide (RAMANNA, 1983). Estas possibilidades têm sido demonstradas em vários trabalhos envolvendo batatas cultivadas (DE JONG et alii, 1981; HANNEMAN & PELOQUIN, 1969; MENDIBURU & PELOQUIN, 1971). Utiliza-se tanto a poliploidização sexual unilateral ($4x-2x$) como a bilateral ($2x-2x$), segundo MENDIBURU & PELOQUIN (1971, 1977). Nesta última, além da produção de pólen $2n$, há a necessidade da ocorrência de uma megasporogênese anormal, formando-se uma oosfera de constituição somática.

No desenvolvimento normal do gameta feminino (óvulo), a célula-mãe do saco embrionário sofre meiose, e cada divisão meiótica é seguida por uma citocinese. Como resultado, uma tétrade linear de megásporos é formada. Posteriormente, três megásporos se degeneram e um torna-se o megásporo funcional, sofrendo três endomitoses seguidas pelo desenvolvimento da parede celular para formar o gametófito feminino maduro (WERNER & PELOQUIN, 1991).

A freqüência e os mecanismos de formação do gametófito feminino não reduzido (óvulo $2n$) em muitos clones diplóides de batata têm sido relatados (IWANAGA & PELOQUIN, 1979; STELLY & PELOQUIN, 1986; WERNER & PELOQUIN, 1987, 1990, 1991) e também em alfafa (BINGHAM, 1990).

Vários mecanismos que resultam na formação de óvulos $2n$ são representados na Figura 7, estes podendo ocorrer tanto na primeira como na segunda divisão meiótica (WERNER & PELOQUIN, 1991).

O mecanismo variante sináptico é expresso na primeira divisão meiótica por redução ou falta de pareamento cromossômico e/ou formação de quiasmas, e com alta freqüência de univalentes distribuídos por toda a

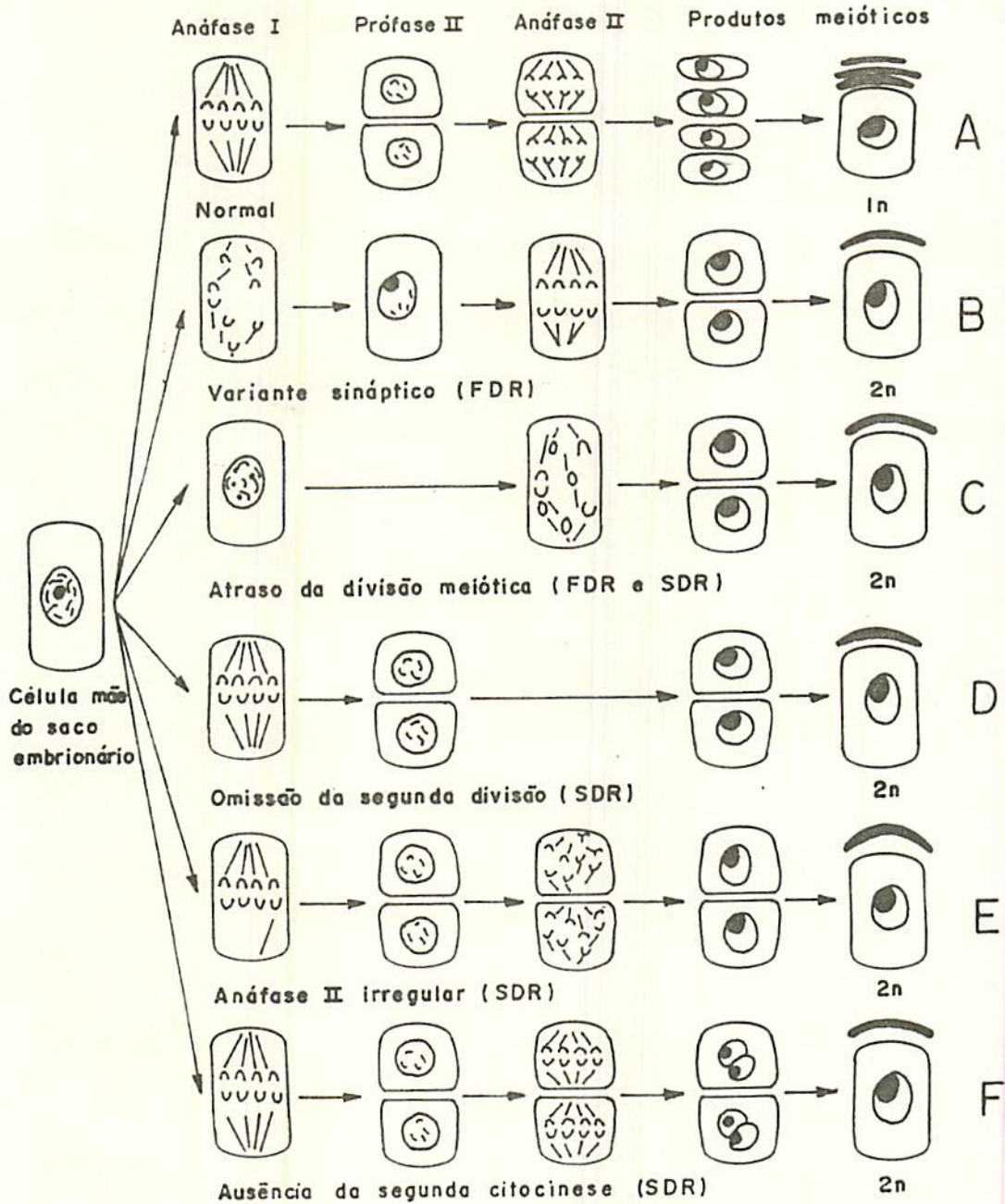


FIGURA 7. Representação esquemática dos mecanismos de formação de óvulos $2n$ em batatas diplóides. A - Normal; B - Variante sináptico; C - Atraso na divisão meiótica; D - Omissão da 2ª divisão; E - Anáfase II irregular; F - Ausência da 2ª citocinese. (FONTE: WERNER & PELOQUIN, 1991)

célula. Posteriormente, a restituição nuclear pode ocorrer seguida pela segunda divisão meiótica. Como resultado, dois megásporos $2n$ são formados, um se desintegra e outro dá origem a um óvulo maduro, geneticamente equivalente a FDR (Figura 7-B).

A segunda modificação que resulta na formação de óvulos $2n$ é o atraso da divisão meiótica. A segregação reducional e equacional irregular de univalentes substitui a segunda divisão meiótica regular. Se há a segregação regular dos univalentes, díades são formadas. No entanto, em muitos casos, há uma distribuição assimétrica dos univalentes, formando díades com número cromossômico desbalanceado, podendo levar ao aborto do óvulo. Geneticamente, o atraso na divisão meiótica pode ser considerado como uma mistura de FDR e SDR (Figura 7-C).

O desvio do processo normal na meiose II para a produção de óvulos $2n$ é a omissão da segunda divisão. Há uma intérfase prolongada com completa desespiralização dos cromossomas no momento da ocorrência da segunda divisão meiótica. O produto deste processo é geneticamente equivalente a SDR (Figura 7-D).

Uma anáfase II irregular é caracterizada pelo aparecimento de cromossomas atrasados na segunda divisão e conseqüente restituição nuclear. Este mecanismo leva à formação de óvulos $2n$ geneticamente equivalentes a SDR (Figura 7-E).

A última variação no processo meiótico que leva à formação de óvulos $2n$ envolve a ausência da citocinese após a telófase II, seguida pela fusão nuclear (Figura 7-F). Esta anormalidade é geneticamente equivalente a SDR (WERNER & PELOQUIN, 1991).

O controle genético da formação de óvulos $2n$ em batata tem sido esclarecido em cruzamentos $2x-4x$ (Den NIJS & PELOQUIN, 1977) e em

cortes histológicos com auxílio de parafina (IWANAGA & PELOQUIN, 1979).
Genes recessivos não alélicos controlam a formação de óvulos $2n$ (WERNER
& PELOQUIN, 1990).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material Genético

Foram avaliados 28 clones híbridos obtidos do cruzamento entre dihaplóides ($2n=2x=24$) de *Solanum tuberosum* x *Solanum chacoense* ($2n=2x=24$), que apresentaram freqüência de pólen $2n$ igual ou superior a 5% de acordo com QUINN et alii (1974), relatados em trabalho desenvolvido por CUNHA (1992). As sementes botânicas foram oriundas do programa de melhoramento da Universidade de Wisconsin (EUA), sendo cultivadas em vasos plásticos, visando a produção de tubérculos. A genealogia dos híbridos está relacionada na Tabela 1.

3.2. Características Avaliadas

Foram feitas avaliações de comportamento cromossômico na meiose e características de florescimento, em um ensaio instalado sob condições de telado, no Departamento de Biologia da Escola Superior de Agricultura de Lavras (DBI-ESAL), situada a 910 metros de altitude, $21^{\circ}14'S$ de latitude e $45^{\circ}00'W$ de Gw. de longitude, no período de setembro a dezembro de 1992. O delineamento experimental adotado foi o de blocos casualizados com três repetições, sendo cada parcela constituída por uma



TABELA 1. Genealogia dos híbridos interespecíficos obtidos do cruzamento entre dihaplóides de *S. tuberosum* x *S. chacoense*.

Família número	Número Clones	Dihaplóide x <i>S. chacoense</i>		nº da Univ. de Wisconsin
04	2	H551	B1	P319
09	3	H551	A1	P346
10	2	W973	20.9.52	P307
13	3	H551	20.9.52	P331
15	5	H551	19.5.50	P322
17	1	W973	20.10.65	P308
18	3	H551	29.9.47	P330
21	-	W730	A8	P271
26	3	W973	19.5.50	P302
27	2	H551	20.10.65	P332
28	-	W730	20.9.52	P290
35-2B	-	H551	A9	P318
36	-	H551	Chc 24	P343

(-) Foi considerada a família como um todo, não sendo feita a distinção entre os clones.

planta. Os clones foram plantados em vasos plásticos (capacidade de 3,0 kg) contendo substrato organo-vegetal para mudas (Plantimax Hortaliças).

3.2.1. Comportamento cromossômico na meiose

Foram coletados botões florais, em diferentes estágios de desenvolvimento. Estes foram fixados em Carnoy (1 parte de ácido acético e 3 partes de álcool etílico) por 24 horas. Após este período, os botões florais

foram transferidos para álcool 70% e estocados em geladeira até utilização. Foram feitos cortes nas extremidades das anteras e os meiócitos foram retirados com o auxílio de um estilete. Em cada lâmina avaliou-se somente um botão floral. Os meiócitos foram corados com carmim propiônico 1%, adicionando uma gota de água glicerizada visando aumentar a longevidade da lâmina. Estando a lâmina montada, esta foi passada por três vezes sobre a chama de uma lamparina a álcool, e então se processou a lutagem.

Os meiócitos foram avaliados em um microscópio Carl Zeiss, modelo Amplival, a uma magnitude de 1000 X. Observou-se todos os estágios da meiose (meiose I e II), bem como os produtos meióticos (formação de díades, tríades e tétrades). Avaliou-se em torno de 250 meiócitos por lâmina de acordo com metodologia utilizada por MOK & PELOQUIN (1975b).

3.2.2. Características de florescimento

Foram avaliadas:

A - Quantidade de pólen na antera

Adotou-se um critério de notas onde:

1 - Quantidade muito reduzida de pólen

2 - Pouco pólen

3 - Quantidade regular de pólen

4 - Abundância de pólen

B - Viabilidade e Freqüência de pólen $2n$

Para avaliação destas características as anteras foram coletadas 3 dias após a abertura da flor e armazenadas em álcool 70% em geladeira até utilização. Em cada parcela procurou-se coletar no mínimo 5 flores,

visando uma melhor amostragem na avaliação das características de florescimento. Os grãos-de-pólen foram retirados das anteras com o auxílio de um estilete e depositados sobre a superfície de uma lâmina, contendo carmim acético 2% e uma gota de água glicerinada. A viabilidade e a frequência de pólen 2n foram determinadas pela colorabilidade e pelo tamanho através de amostras constituídas de aproximadamente 200 grãos-de-pólen, observados a uma magnitude de 200 X em um microscópio Carl Zeiss, modelo Amplival, de acordo com as fórmulas:

$$\text{Viabilidade} = \frac{\text{Número de grãos-de-pólen 2n corados}}{\text{Número de grãos-de-pólen 2n corados e não corados}}$$

$$\text{Frequência} = \frac{\text{Número de grãos-de-pólen 2n corados}}{\text{Número total de grãos-de-pólen corados}}$$

Em cada lâmina avaliada, cerca de 20 grãos-de-pólen n e 20 grãos-de-pólen 2n foram medidos com o auxílio de uma ocular OSM 0,5 a uma magnitude de 400X.

As fotomicrografias dos meiócitos e grãos-de-pólen foram feitas utilizando-se filmes Ektachrome da Kodak, 64 ASA.

3.3. Análise Estatística

Para os caracteres de florescimento foi realizada uma análise de variância, de acordo com o seguinte modelo matemático:

$$Y_{ij} = m + c_i + b_j + e_{(ij)}$$

onde;

Y_{ij} é a observação do clone i no bloco j ;

m é a média geral do caráter;

c_i é o efeito do clone i ; $i = 1, 2, \dots, 28$;

b_j é o efeito do bloco j ; $j = 1, 2, 3$;

e_{ij} é o efeito do erro experimental, associado à observação Y_{ij}

Por não apresentarem aditividade, os dados de frequência de pólen $2n$ e viabilidade de pólen (n e $2n$) foram transformados em $(\log(x + 10))$, bem como os dados de quantidade de pólen em $\text{Arc Sen}((\sqrt{x/100}) + 0,5)$.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. *Comportamento Cromossômico na Meiose*

Através da comparação das anormalidades encontradas com as fases normais da microsporogênese da batata foi possível detectar diferentes mecanismos de restituição nuclear que levam à formação de pólen $2n$. Os clones avaliados são diplóides ($2n=2x=24$) e, por isso, é esperada a formação de 12 bivalentes com o pareamento no paquíteno (Figura 8-A). De acordo com HERMSEN (1984), no diplóteno os cromossomas homólogos, devido ao seu pequeno tamanho, ficariam presos por somente um quiasma. No entanto, se há a atuação de mutantes sinápticos, univalentes são formados afetando diretamente a frequência de permuta genética. Como a avaliação do pareamento cromossômico, ocorrência de quiasmas e contagens de bivalentes no paquíteno, diplóteno, diacinese e metáfase I (Figura 8) foi dificultada pelo tamanho reduzido dos cromossomas e pela ocorrência de profundidade de campo, neste trabalho optou-se por pesquisar a presença de mutantes sinápticos através da observação de cromossomas atrasados na anáfase I. Somente o clone 27-6 apresentou esta anormalidade, mas com frequência muito baixa (apenas um meiócito em uma repetição). Portanto, não foi detectada a ocorrência de mutantes sinápticos nos clones estudados através da metodologia empregada.

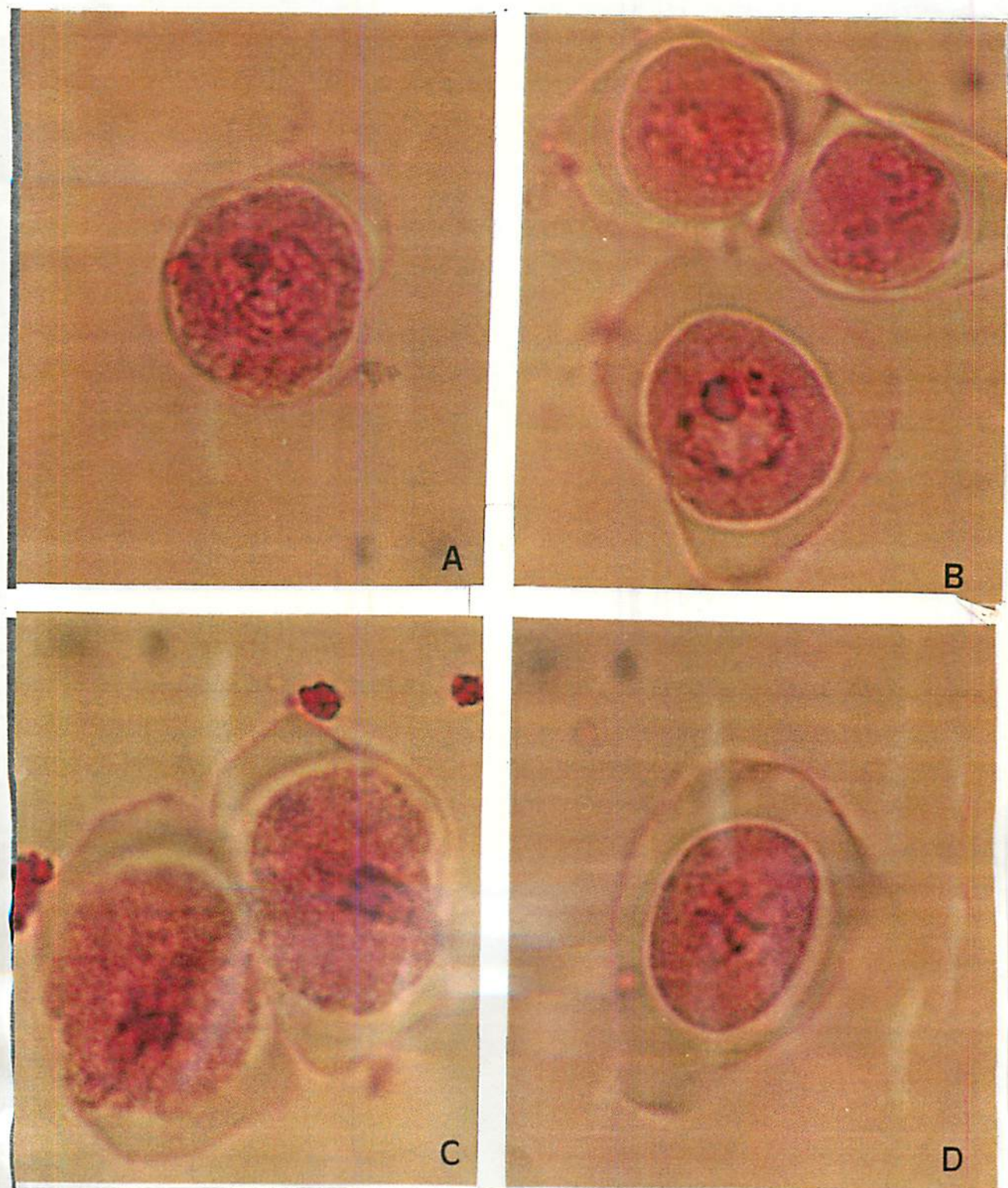


FIGURA 8. Aspectos da microsporogênese normal de clones diplóides de batata. A-Paquítieno. B-Diplóteno. C-Metáfase I. D-Anáfase I. Aumento total: 2048X.



Na observação da telófase I e prófase II normais, a dificuldade residiu no fato de separar as duas fases, sendo que na telófase I (Figura 9-A) os cromossomas chegam aos pólos, se descondensam e posteriormente, na prófase II (Figura 9-B) voltam a se condensar. Provavelmente, esta passagem da telófase I para a prófase II é muito rápida ou inexistente. Na prófase II foi possível detectar o mecanismo de citocinese prematura-1 (Figura 9-B) que leva à formação de díades geneticamente equivalentes a SDR. Este mecanismo foi encontrado em 10 dos 28 clones avaliados (35,71%).

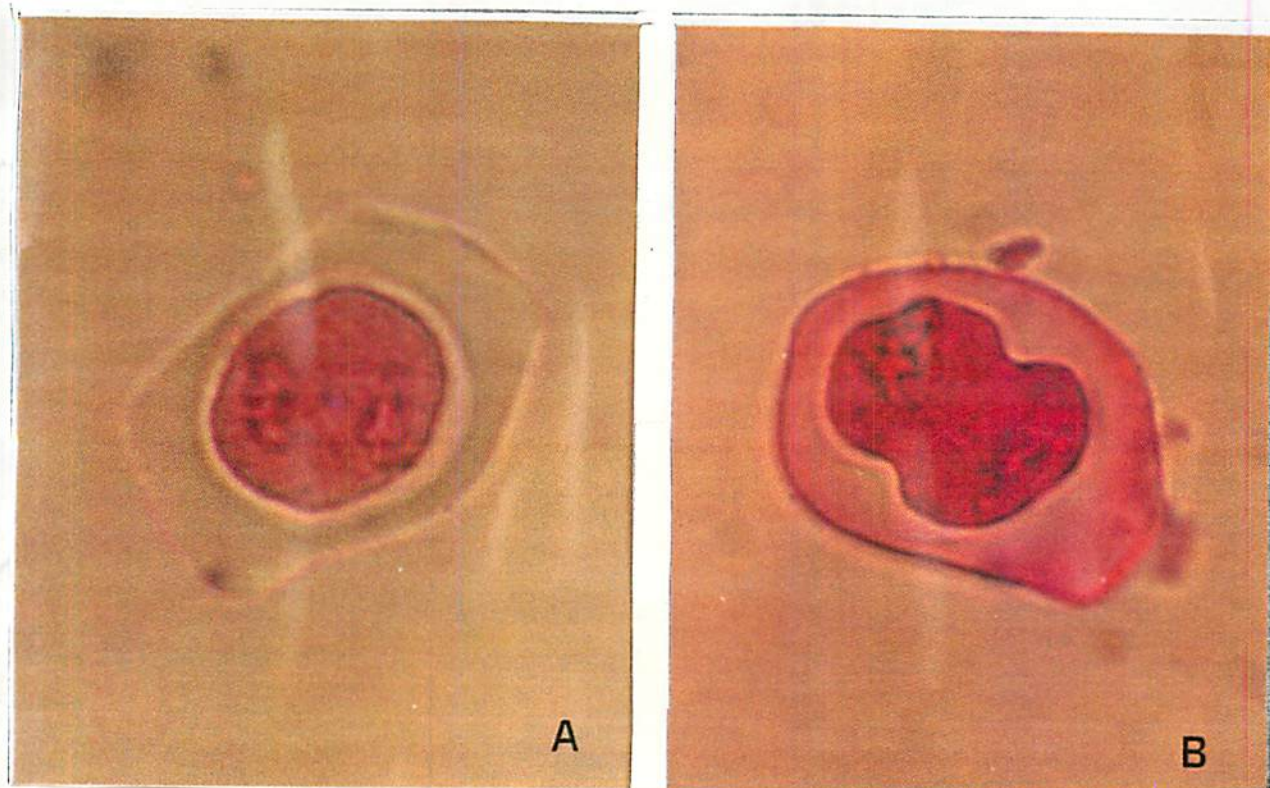


FIGURA 9. Aspectos da microsporogênese em clones diplóides de batata. A- Telófase I. B-Citocinese prematura-1 (pc-1). Aumento total:2048X.

Na metáfase II (Figura 10-A), os dois conjuntos cromossômicos se localizam no equador da célula, dispostos perpendicularmente com um ângulo de aproximadamente 60 graus entre eles (MOK & PELOQUIN, 1975a; SOUTER et alli, 1980). Três anormalidades no comportamento cromossômico foram encontradas nesta fase. A citocinese prematura (Figura 10-B) foi encontrada em 6 dos 28 clones avaliados (21,42%). O mecanismo responsável por esta anormalidade é o **pc-2** (citocinese prematura-2), levando à formação de díades geneticamente equivalentes a SDR. O mecanismo de fusos paralelos (**ps**) foi o mais frequente, sendo encontrado em 23 dos 28 clones avaliados (82,14%). Neste mecanismo, os fusos na metáfase II ficam dispostos de forma paralela (Figura 10-C), havendo posterior segregação das cromátides paralelamente para os pólos, levando à formação de díades geneticamente equivalentes a FDR. Uma última anormalidade encontrada na metáfase II foi a presença do mecanismo de fusos fundidos (**fs**), onde os dois conjuntos cromossômicos se tornam unidos, havendo posterior segregação para os pólos (Figura 10-D). Este mecanismo foi detectado em 16 dos 28 clones avaliados (57,14%). O produto final ainda é discutido.

VEILLEUX & LAUER (1981) relatam que o mecanismo de fusos fundidos pode ser uma manifestação diferente do gene **ps** (fusos paralelos) e, com isto levaria à formação de díades. RAMANNA (1974) atribuiu a este mecanismo a formação de tríades, havendo a presença de um micrósporo não reduzido (2n) e dois micrósporos reduzidos (n). Dos 16 clones em que o mecanismo **fs** se manifestou, este ocorreu associado ao mecanismo **ps** em 15 clones (Tabela 2). Não houve formação de tríades em 7 dos 16 clones com mecanismo **fs**, ao passo que díades foram formadas em todos os 16

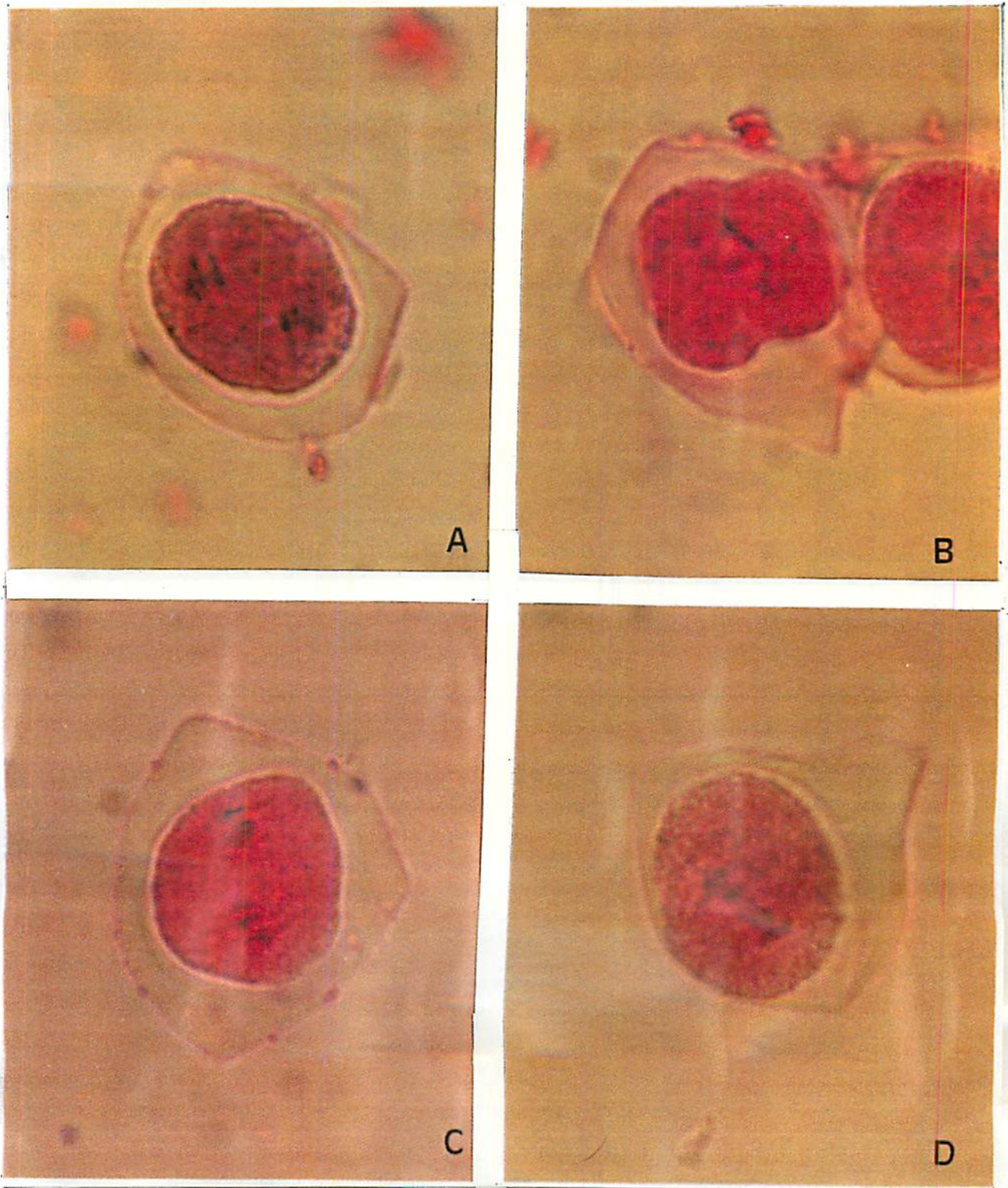


FIGURA 10. Aspectos da microsporogênese de clones diplóides de batata. A-Metáfase II normal. B-Citocinese prematura-2 (**pc-2**). C-Fusos paralelos (**ps**). D-Fusos fundidos (**fs**). Aumento total: 2048X.

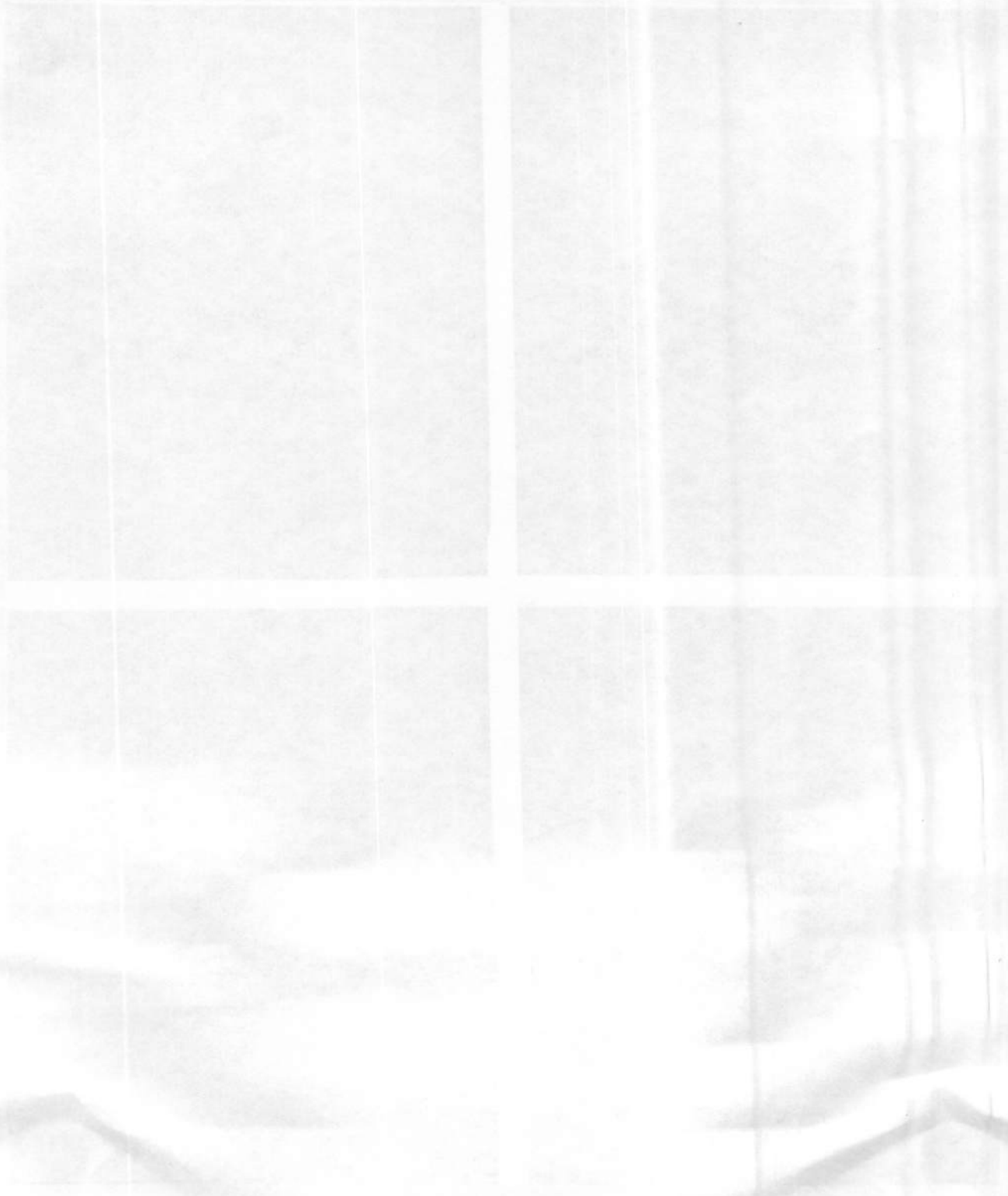


Fig. 5. Morphology of the blend of polybutadiene (PB) and polystyrene (PS) prepared by the emulsion copolymerization of PB and PS in the presence of a surfactant. The morphology of the blend is shown in the four micrographs. The blend was prepared by the emulsion copolymerization of PB and PS in the presence of a surfactant. The morphology of the blend is shown in the four micrographs. The blend was prepared by the emulsion copolymerization of PB and PS in the presence of a surfactant. The morphology of the blend is shown in the four micrographs.

TABELA 2. Número de meiócitos observados, mecanismos e modo de formação de pólen $2n$ de 28 clones híbridos de dihaplóides de *Solanum tuberosum* x *Solanum chacoense*.

Clone	Nº de meiócitos observados	Mecanismos de formação pólen $2n$ *	Modo de formação de pólen $2n$ **
4-6	298	ps, fs, pc-2	FDR/SDR
4-10	566	pc-2	SDR
9-2	311	ps	FDR
9-3	888	ps, fs	FDR
9-6	840	ps, fs	FDR
10-2	870	ps, fs, pc-2	FDR/SDR
10-4	870	ps, fs	FDR
13-8	538	ps, fs	FDR
13-9	286	ps, fs	FDR
13-11	338	ps, fs, pc-1	FDR/SDR
15-4	825	ps, pc-2	FDR/SDR
15-9	702	ps, fs	FDR
15-12	462	ps, pc-1	FDR/SDR
15-15	924	ps	FDR
15-16	939	ps, fs, pc-1	FDR/SDR
17-5	837	ps, fs, pc-2	FDR/SDR
18-3	777	pc-1	SDR
18-11	957	ps, fs, pc-2	FDR/SDR
18-12	568	ps	FDR
21	732	ps, fs	FDR
26-5	888	ps	FDR
26-6	891	ps, fs, pc-1	FDR/SDR
26-7	930	ps, fs	FDR
27-6	840	ps, pc-1	FDR/SDR
27-9	903	pc-1	SDR
28	906	pc-1, ps	FDR/SDR
35-2B	894	pc-1	SDR
36	849	pc-1, fs	FDR/SDR

* **ps** (fusos paralelos); **fs** (fusos fundidos); **pc-1** (citocinese prematura-1) e **pc-2** (citocinese prematura-2).

** FDR (First Division Restitution); SDR (Second Division Restitution)

clones (Tabela 3), reforçando a suposição de VEILLEUX & LAUER (1981), onde o produto final seria uma díade, geneticamente equivalente a FDR.

Nos mecanismos de fusos paralelos, fusos fundidos, citocinese prematura-1 e citocinese prematura-2 o produto final é uma díade (Figura 11-A), diferindo apenas se geneticamente equivalente a FDR (**ps** e **fs**) ou SDR (**pc-1** e **pc-2**). Se a meiose continua seu processo normal, ou seja, na metáfase II os conjuntos cromossômicos estão dispostos perpendicularmente a um ângulo de 60 graus, na anáfase II os cromossomas segregam para os pólos, se descondensam na telófase II, havendo posterior citocinese, levando à formação de quatro micrósporos reduzidos. O produto final será uma tétrade (Figura 11-B).

Houve formação de tríades em 9 clones avaliados (Tabela 3). Isto pode ser explicado pela fusão de cromátides não-irmãs, havendo a formação de dois micrósporos reduzidos e um micrósporo não reduzido (Figura 11-A). Segundo LAM (1974), isto é possível quando, na metáfase II, os fusos estão com uma disposição de 90°. A Figura 11-C mostra a formação da tríade, com a segregação das cromátides não-irmãs.

Na Tabela 2 estão relacionados os mecanismos e os modos de formação de pólen 2n dos 28 clones avaliados, bem como o número de meiócitos observados em cada clone. Para cada repetição, procurou-se avaliar pelo menos 250 meiócitos nas fases de meiose I e II, segundo metodologia adotada por MOK & PELOQUIN (1975b). Houve perda de parcelas em alguns clones (4-6, 4-10, 9-2, 13-8, 13-9, 13-11, 15-9, 15-12, 18-12), mas pelo menos uma parcela foi avaliada por clone.

Nota-se na Tabela 2, que em 12 dos 28 clones avaliados o modo de formação do pólen 2n foi FDR associado ao SDR. Clones que são homozigotos recessivos para mais de um loco responsável pela formação de

TABELA 3. Frequência dos mecanismos de produção de pólen 2n e normais e dos produtos meióticos em 28 clones híbridos de dihaplóides de *Solanum tuberosum* x *Solanum chacoense*.

Clone	Frequência (%)									
	Total	Mecanismos da formação de pólen 2n					Produto meiótico			
		ps	fs	pc-1	pc-2	Normal	Total	Díade	Tríade	Tétrade
4-6	110	1,8	8,1	0,0	62,7	27,2	32	21,8	37,5	40,6
4-10	90	0,0	0,0	0,0	6,6	93,3	304	2,3	0,0	97,6
9-2	116	5,1	0,0	0,0	0,0	94,8	61	0,0	0,0	100,0
9-3	213	19,7	14,5	0,0	0,0	65,7	430	3,2	0,2	96,5
9-6	117	23,0	1,7	0,0	0,0	75,2	251	3,5	3,9	92,4
10-2	98	15,3	14,2	0,0	1,0	69,3	377	19,6	0,0	80,3
10-4	265	10,5	16,9	0,0	0,0	72,4	465	24,9	3,6	71,3
13-8	51	15,6	1,9	0,0	0,0	82,3	213	15,4	4,6	79,8
13-9	19	5,2	31,5	0,0	0,0	63,1	115	78,2	9,5	12,1
13-11	64	7,8	35,9	1,5	0,0	56,2	225	16,8	0,0	83,1
15-4	250	2,8	0,0	0,0	2,0	95,2	324	4,3	0,0	95,6
15-9	134	3,7	0,7	0,0	0,0	95,5	210	4,7	0,9	94,2
15-12	268	3,7	0,0	0,3	0,0	95,8	163	0,0	0,0	100,0
15-15	182	13,1	0,0	0,0	0,0	86,8	234	0,0	0,0	100,0
15-16	140	0,0	5,0	6,4	0,0	88,5	109	35,7	0,0	64,2
17-5	76	1,3	14,4	0,0	21,0	63,1	61	52,4	0,0	47,5
18-3	130	0,0	0,0	33,8	0,0	66,1	233	35,6	2,1	62,2
18-11	138	10,8	16,6	0,0	3,6	68,8	100	16,0	1,0	83,0
18-12	216	3,7	0,0	0,0	0,0	96,2	143	0,0	0,0	100,0
21	219	6,3	0,9	0,0	0,0	92,6	173	2,8	0,0	97,1
26-5	157	5,0	0,0	0,0	0,0	94,9	106	0,0	0,0	100,0
26-6	310	4,8	0,6	3,8	0,0	90,6	367	37,8	0,0	62,1
26-7	219	10,0	0,4	0,0	0,0	89,4	251	2,3	0,0	97,6
27-6	35	2,8	0,0	40,0	0,0	57,1	194	58,7	2,5	38,6
27-9	66	0,0	0,0	59,0	0,0	40,9	134	8,9	0,0	91,0
28	41	4,8	0,0	7,3	0,0	87,8	265	10,5	0,0	89,4
35-2B	93	0,0	0,0	66,6	0,0	33,3	137	72,2	0,0	27,7
36	55	0,0	1,8	87,2	0,0	10,9	69	47,8	0,0	52,1

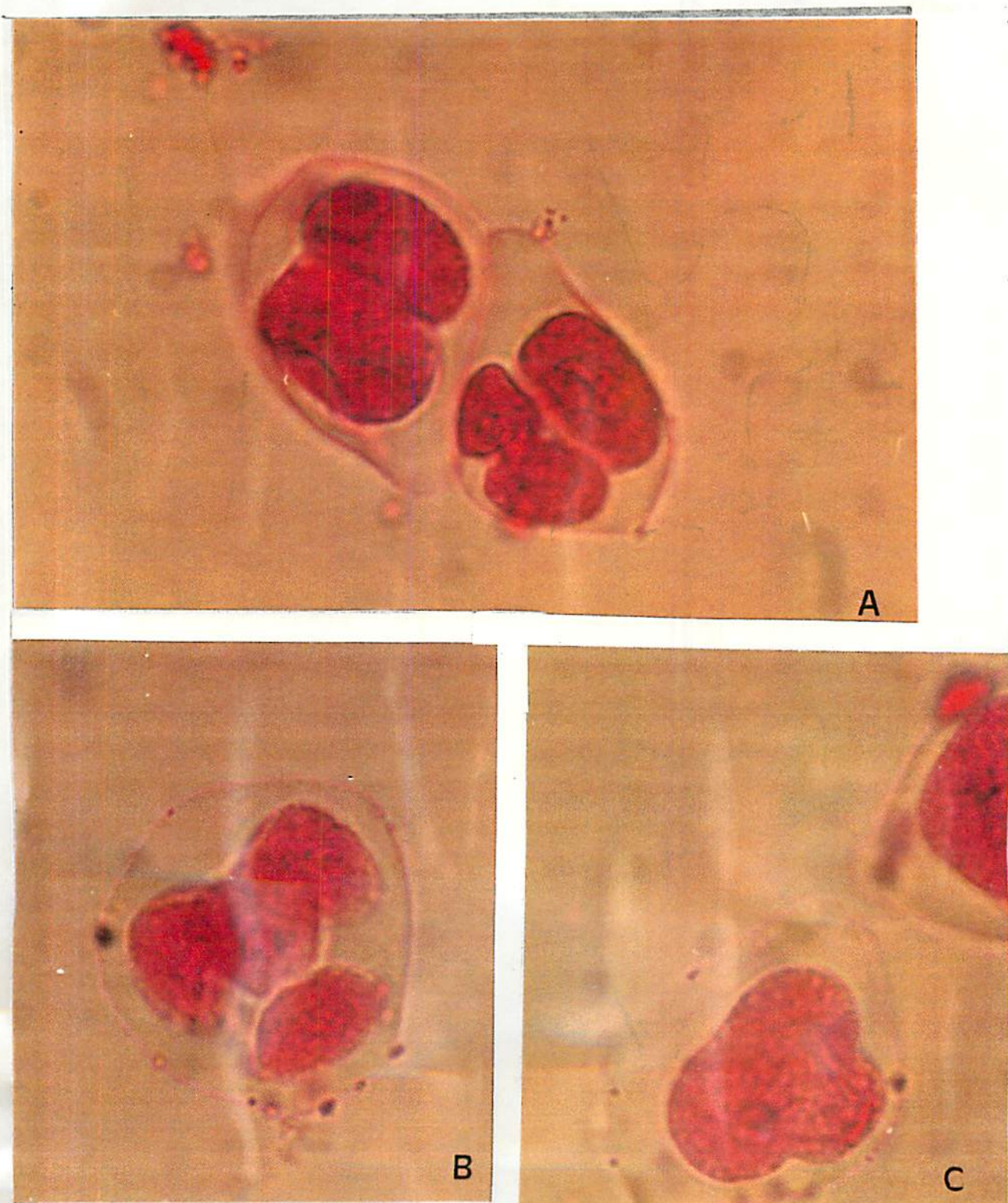


FIGURA 11. Produto final na microsporogênese em clones diplóides de batata. A-Díade e Tríade. B-Tétrade. C-Segregação de cromátides não-irmãs, levando à formação de tríades. Aumento total:2048X.

pólen 2n (**ps**, **fs**, **pc-1**, **pc-2**), podem produzir micrósporos não reduzidos por mais de um mecanismo. No entanto, somente um mecanismo é funcional em uma célula-mãe dos grãos-de-pólen (MOK & PELOQUIN, 1975b).

A exata explicação na preferência dos diferentes mecanismos permanece desconhecida, mas torna evidente a atuação de um complexo processo de regulação gênica.

Na Tabela 3 estão relacionadas as freqüências dos meiócitos nos diferentes mecanismos de formação de pólen 2n. Estas freqüências variaram dentro de um mesmo clone (ao avaliar as diferentes repetições), podendo ser explicada pela penetrância incompleta e expressividade variável dos genes responsáveis pela formação de pólen 2n (**ps**, **fs**, **pc-1**, **pc-2**). Esta variação na freqüência dos mecanismos ocorreu também dentro de uma mesma família. Nas famílias 15 (clones 15-4, 15-9, 15-12, 15-15, 15-16) e 18 (clones 18-3, 18-11, 18-12) houve a atuação dos quatro mecanismos na formação de pólen 2n (**ps**, **fs**, **pc-1**, **pc-2**). Nota-se também que não se evidenciou um efeito epistático dos genes responsáveis pela formação de pólen 2n. Na família 15 isto pode ser melhor visualizado, onde cada clone apresentou uma freqüência diferente quanto à "preferência" na atuação dos mecanismos responsáveis pela formação de grão-de-pólen 2n.

WATANABE & PELOQUIN (1993) avaliando espécies 2x, 4x e 6x de *Solanum* acharam correlações altas entre a freqüência de **ps** com freqüência de díades ($r = 0,896$); freqüência de **pc-1** com freqüência de díades ($r = 0,942$) e freqüência de **fs** com freqüência de tríades ($r = 0,732$). Estas correlações foram feitas no presente trabalho, encontrando coeficientes de correlação baixos. Os coeficientes foram: freqüência de **ps** com freqüência de díades ($r = 0,357$); freqüência de **pc-1** com freqüência de díades ($r = 0,490$); freqüência de **pc-2** com freqüência de díades ($r = 0,075$).

Com relação ao mecanismo **fs**, foram feitas correlações com as freqüências de díades e tríades obtendo-se coeficientes de correlação de $r = 0,246$ e $r = 0,164$, respectivamente. Este fato reforça mais uma vez a hipótese de VEILLEUX & LAUER (1981), onde o mecanismo **fs** seria um variante fenotípico do mecanismo **ps**, levando à formação de díades.

O fato de no presente trabalho terem sido encontrados coeficientes de correlação baixos pode ser explicado pela presença de mais um mecanismo de formação de pólen $2n$ em 20 dos 28 clones avaliados (Tabela 2). WATANABE & PELOQUIN (1993) trabalharam com clones que apresentaram um único mecanismo de formação de pólen $2n$, o que provavelmente os levou a obter coeficientes de correlação altos.

Ao analisar os clones que apresentaram um único mecanismo de formação de pólen $2n$ (clones 4-10, 9-2, 15-15, 18-3, 18-12, 26-5, 27-9, 35-2B), o coeficiente de correlação entre freqüência dos mecanismos de formação de pólen $2n$ e freqüência de díades foi muito superior aos encontrados até então neste trabalho ($r = 0,776$).

Em alguns clones, não se observou resultados lógicos ao avaliar a freqüência de mecanismos de produção de pólen $2n$ e a freqüência de produtos meióticos. Estes resultados também contribuíram para o baixo valor dos coeficientes de correlação. A avaliação constou de uma amostragem aleatória, contribuindo para uma distribuição heterogênea das fases da meiose (I e II) nos 28 clones avaliados.

Com base na Tabela 3, os clones 10-4, 13-8 e 13-9 devem merecer atenção especial em programas de melhoramento, visto que obtiveram freqüências de mecanismo **ps** altas (maior que 5%), com posterior freqüência de formação de díades alta (maior que 5%). Deve-se ressaltar que estas díades formadas são geneticamente equivalentes a FDR.

Mas os clones 10-2, 13-11, 18-11 e 26-6, apesar de terem o modo de formação FDR associado a SDR, possuem freqüência de mecanismos que levam à formação de díades geneticamente equivalentes a SDR muito baixa, podendo também ser utilizados em programas de melhoramento.

A presença de citomixia foi detectada nos clones 13-9 e 18-3, mas também em freqüência muito baixa, somente em uma das repetições avaliadas (5,86 e 5,26%, respectivamente). Pode ter havido um fator ambiental, como estresse hídrico, que levou à formação da citomixia (TAKATS, 1959). É esperado que nos grãos-de-pólen formados, haja desbalanceamento cromossômico, visto que além do citoplasma, pode haver transferência da cromatina.

No clone 9-6 houve, além da formação de díades, tríades e tétrades, a formação de pântades e héxades, mas também em freqüência muito baixa (0,36%). Neste caso pode ter havido a atuação de variantes sinápticos, os quais alterariam o pareamento dos bivalentes, havendo uma posterior segregação cromossômica irregular, levando à formação de diferentes arranjos no estágio final de formação do grão-de-pólen. Estes grãos-de-pólen, provavelmente, por estarem com desbalanço cromossômico, serão não competitivos ou estéreis. Se forem competitivos, ao fecundar o óvulo, provavelmente este será abortado, devido ao desbalanceamento cromossômico.

4.2. Características de Florescimento

Na Tabela 4 estão relacionadas as médias das características de florescimento avaliadas, bem como o modo de formação de pólen $2n$ dos 28

TABELA 4. Médias de freqüência de pólen 2n (%), viabilidade de pólen 2n (%), quantidade de pólen na antera, viabilidade de pólen n (%) e modo de formação de pólen 2n de 28 clones híbridos de dihaplóides de *Solanum tuberosum* x *Solanum chacoense*, avaliados em casa-de-vegetação no Departamento de Biologia, ESAL, Lavras-MG, no período de primavera de 1991, outono de 1992 e primavera de 1992.

Clones	Freqüência de pólen 2n (%)			Viabilidade de pólen 2n (%)			Quantidade de pólen na antera ¹			Viabilidade de pólen n (%)			Modo de formação pólen 2n ²
	Prim/91 ³	Out/92 ³	Prim/92	Prim/91 ³	Out/92 ³	Prim/92	Prim/91 ³	Out/92 ³	Prim/92	Prim/91 ³	Out/92 ³	Prim/92	
4-8	7,2	5,2	•	85,6	79,4	•	2,7	3,0	•	56,9	55,6	•	FDR/SDR
4-10	1,3	26,1	•	43,3	47,7	•	3,7	3,0	•	75,5	41,7	•	SDR
9-2	12,7	25,4	9,09	81,6	76,1	100,0	2,0	2,7	3,0	41,5	51,3	84,3	FDR
9-3	18,0	12,9	25,9	92,7	60,3	92,5	1,3	1,7	2,0	40,4	24,8	22,8	FDR
9-6	0,0	6,9	9,45	0,0	33,3	90,4	1,3	1,0	2,6	9,0	12,1	57,3	FDR
10-2	0,0	18,1	8,45	0,0	79,4	62,5	1,0	1,0	1,3	36,6	23,8	42,3	FDR/SDR
10-4	11,6	10,3	4,7	80,0	68,8	45,4	1,7	2,0	1,6	13,0	36,9	44,8	FDR
13-8	0,0	6,1	•	0,0	54,6	•	3,3	1,9	•	90,3	49,7	•	FDR
13-9	0,0	8,9	9,37	0,0	52,5	30,0	2,3	1,7	1,0	57,9	45,0	3,4	FDR
13-11	2,4	6,9	1,52	55,6	50,0	40,0	1,7	1,7	2,0	30,7	49,0	51,8	FDR/SDR
15-4	0,3	8,1	3,18	33,3	88,4	71,4	2,7	3,0	3,0	63,6	80,8	81,7	FDR/SDR
15-9	0,0	12,2	1,72	0,0	97,0	90,0	3,7	4,0	2,3	58,7	57,3	74,9	FDR
15-12	0,0	16,3	4,09	0,0	78,7	58,3	4,0	2,7	3,0	79,2	54,6	72,8	FDR/SDR
15-15	1,4	17,2	6,37	66,7	84,4	78,1	2,7	3,7	3,0	77,9	65,6	65,7	FDR
15-16	4,8	27,9	9,89	48,2	57,9	48,1	1,0	1,3	1,0	34,2	23,8	41,5	FDR/SDR
17-5	16,9	4,9	4,54	30,4	29,3	42,8	1,0	1,7	1,0	14,4	26,0	20,4	FDR/SDR
18-3	5,3	0,7	2,6	89,1	33,3	66,6	2,3	1,7	1,3	60,9	37,3	60,5	SDR
18-11	50,9	•	17,85	88,9	•	76,9	1,0	•	2,0	10,1	•	7,4	FDR/SDR
18-12	0,4	31,5	2,55	41,7	81,8	100,0	2,3	2,1	1,3	81,8	19,7	83,2	FDR
21	15,8	10,8	4,71	66,0	50,1	65,2	1,7	1,0	2,0	11,4	26,0	72,9	FDR
26-5	0,3	15,2	1,95	33,3	60,7	70,5	3,0	3,0	2,3	80,6	70,3	81,0	FDR
26-6	5,8	6,9	5,88	91,1	67,8	42,8	3,3	2,0	3,0	66,0	74,3	69,2	FDR/SDR
26-7	0,0	10,4	4,42	0,0	30,4	96,5	3,3	4,0	2,3	77,8	63,3	69,0	FDR
27-6	0,0	8,3	3,95	0,0	80,6	100,0	2,7	3,0	3,0	29,3	46,1	65,6	FDR/SDR
27-9	0,0	8,7	2,47	0,0	77,8	88,2	3,0	1,3	2,3	90,5	33,1	79,1	SDR
28	0,2	11,8	3,52	33,3	83,8	79,1	1,7	3,0	2,0	71,9	69,2	75,1	FDR/SDR
35-2B	7,5	15,8	7,56	83,3	52,2	68,7	2,7	2,0	2,0	22,8	20,5	31,9	SDR
36	•	1,1	6,78	•	63,4	68,7	•	2,7	2,3	•	51,8	46,7	FDR/SDR
Média	6,03	11,95	6,9	42,37	63,69	70,9	2,3	2,3	2,1	51,21	44,8	66,21	

1 - Notas: 1 - Quantidade muito reduzida de pólen; 2 - Pouco pólen; 3 - Quantidade regular de pólen; 4 - Abundância de pólen.

2 - FDR (First Division Restitution); SDR (Second Division Restitution).

3 - Dados obtidos por CUNHA (1992)

* - Produziu botões florais, mas não se desenvolveram até a abertura das flores.

clones híbridos. Os dados da primavera/91 e outono/92 foram avaliados por CUNHA (1992).

Com relação à freqüência de pólen $2n$, as médias da primavera/91 e primavera/92 não apresentaram muita diferença ($\bar{x} = 6,03$ e $\bar{x} = 6,9$, respectivamente), sendo que no outono/92 a média apresentou-se maior ($\bar{x} = 11,95$).

CUNHA (1992) sugere que a temperatura deve ter sido prejudicial para a formação de pólen $2n$ no ensaio de primavera. As temperaturas observadas no ensaio de primavera/92 não diferiram muito das temperaturas observadas por CUNHA (1992).

Tão importante quanto avaliar a freqüência de pólen $2n$, é também avaliar a viabilidade dos mesmos. No ensaio de primavera/92, a média foi superior aos outros ensaios (primavera/91 e outono/92). Os clones variaram de 30 a 100% de viabilidade de pólen $2n$ (Tabela 4). Deve-se associar a freqüência de pólen $2n$ à viabilidade dos mesmos, bem como o modo de formação de pólen $2n$, visando obter informações para a utilização de clones que possam aumentar a chance de sucesso em cruzamentos, transmitindo alta heterozigose às progênies. Com base nisto os clones 9-2, 9-3, 9-6, 10-4 e 15-15 podem ser utilizados em programas de melhoramento, pois reúnem freqüências de pólen $2n$ superiores a 5% (QUINN et alii, 1974), viabilidade alta de pólen $2n$ (maior que 50%) e modo de formação FDR. O clone 18-11, apesar de possuir o modo de formação FDR associado a SDR, mostrou freqüência e viabilidade de pólen $2n$ altas, podendo também ser uma opção em programas de melhoramento. Vale ressaltar que a freqüência de mecanismos de formação de pólen $2n$ geneticamente equivalente a SDR foi baixa (3,6%).

O tipo de restituição nuclear parece afetar a frequência de pólen $2n$. MOK & PELOQUIN (1975b) observaram diferenças na frequência de pólen $2n$ no mecanismo de fusos paralelos (3-20%), citocinese prematura-1 (14-34%) e citocinese prematura-2 (14-18%). A variação fenotípica da expressividade dos mecanismos de formação de pólen $2n$ pode ser devido à atuação de mais de um mecanismo de restituição nuclear (VEILLEUX & LAUER, 1981).

Segundo CUNHA (1992), a produção de grãos-de-pólen n é tão importante quanto a de $2n$, quando se deseja manter o nível diplóide durante os processos de recombinação gênica e melhoramento destas populações. Em seu trabalho, a autora observou grandes diferenças entre os clones mas de modo geral, aqueles que apresentaram frequências mais elevadas de pólen $2n$ produziram baixa viabilidade de pólen n . Na Tabela 4 isto pode ser melhor visualizado onde no clone 18-11 houve alta frequência de pólen $2n$ nos ensaios de primavera/91 e primavera/92 (50,9 e 17,85, respectivamente), com baixa viabilidade de pólen n (10,1 e 7,4, respectivamente).

No clone 13-9 houve baixa viabilidade de pólen n (3,4%). Isto pode ser devido a uma alta frequência de pólen $2n$ (9,37%), bem como à presença de citomixia detectada na análise do comportamento cromossômico, levando à formação de gametas desbalanceados. A citomixia foi detectada também no clone 18-3, mas este apresentou alta viabilidade de pólen n (60,5%), bem como baixa frequência de pólen $2n$ (2,6%).

Se o período de duração em que as células são sensíveis a estímulos que induzem a formação de gametas $2n$ é curto, então as diferenças nas frequências de díades dentro de um mesmo lóculo podem refletir condições microambientais temporariamente distintas (VEILLEUX et

alii, 1982). Na Tabela 5 estão relacionadas a freqüência esperada de pólen $2n$ com base na avaliação de estágios meióticos anteriores à formação do grão-de-pólen e também a freqüência observada de grão-de-pólen $2n$ com base na colorabilidade dos mesmos. Houve uma correlação muito baixa entre a freqüência esperada e freqüência observada de pólen $2n$ ($r = 0,142$), o que não ocorreu no trabalho de WATANABE & PELOQUIN (1993), onde encontraram correlação alta ($r = 0,857$).

A microsporogênese ocorre em torno de uma semana antes da abertura das flores. Com isto, as amostras dos meiócitos são coletadas em condições ambientais diferentes das amostras dos grãos-de-pólen. Isto associado à expressividade variável dos mutantes meióticos (**ps**, **fs**, **pc-1**, **pc-2**), pode acarretar diferenças significativas na freqüência esperada e observada dos grãos de pólen $2n$ (SOUTER et alii, 1980).

Os diâmetros dos grãos-de-pólen n e $2n$ avaliados foram de $22,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$ e $27,4 \pm 0,5 \mu\text{m}$, respectivamente (Figura 12). Estes resultados estão de acordo com CUNHA (1992), QUINN et alii (1974) e RAMANNA (1974); onde o pólen $2n$ tem tamanho superior (em torno de 30%) ao pólen n .

A utilização de pólen não reduzido ($2n$) tem vantagens em relação ao óvulo $2n$, pois a avaliação da freqüência de pólen é mais rápida (QUINN et alii, 1974), ao passo que para se avaliar a freqüência de óvulos $2n$ em organismos diplóides são necessárias técnicas mais sofisticadas. A freqüência de produção de óvulos $2n$, é usualmente baixa (De MAINE et alii, 1986). Cinco clones utilizados pelos autores citados produziram somente 0,09 a 1,35 sementes por polinização, embora fossem sabidamente produtores de óvulos $2n$. Em genótipos de batata diplóide os óvulos $2n$ são derivados principalmente do modo de formação SDR (STELLY &

TABELA 5. Freqüências esperadas com base em observações de meiócitos na prófase II, metáfase II e anáfase II e estágios de díades e freqüências observadas de pólen 2n de 28 clones híbridos de dihaplóides de *Solanum tuberosum* x *Solanum chacoense*.

Clone	% esperada de pólen 2n Pro II, Met II e Ana II	Díade	% observada de pólen 2n
4-6	72,7	21,8	*
4-10	6,7	2,3	*
9-2	5,2	0,0	9,09
9-3	34,3	3,2	25,90
9-6	24,8	3,5	9,45
10-2	30,6	19,6	8,45
10-4	27,5	24,9	4,70
13-8	17,6	15,4	*
13-9	36,8	78,2	9,37
13-11	45,3	16,8	1,52
15-4	4,8	4,3	3,18
15-9	4,5	4,7	1,72
15-12	4,1	0,0	4,09
15-15	13,2	0,0	6,37
15-16	11,4	35,7	9,89
17-5	36,8	52,4	4,54
18-3	33,8	35,6	2,60
18-11	31,2	16,0	17,85
18-12	3,7	0,0	2,55
21	7,3	2,8	4,71
26-5	5,1	0,0	1,95
26-6	9,4	37,8	5,88
26-7	10,5	2,3	4,42
27-6	42,9	58,7	3,95
27-9	59,1	8,9	2,47
28	12,2	10,5	3,52
35-2B	66,7	72,2	7,56
36	89,1	47,8	6,78

* Produziu botões florais mas que não se desenvolveram até a abertura das flores.

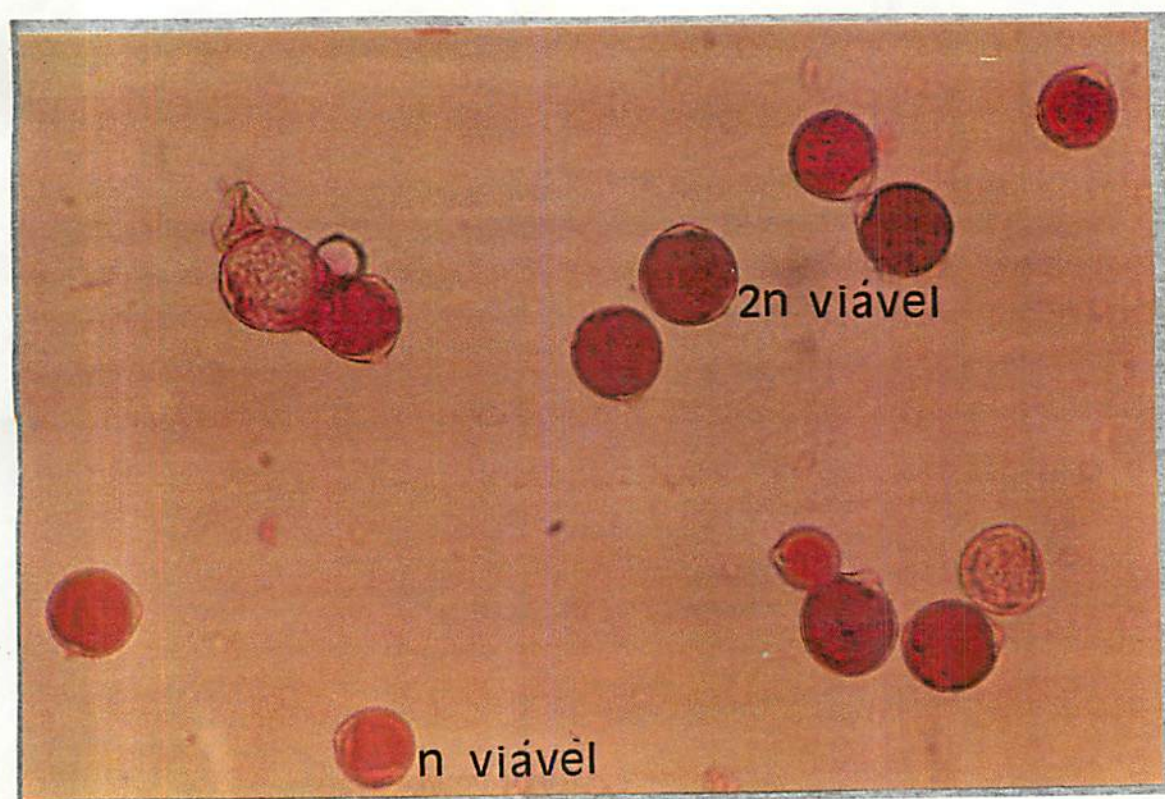


FIGURA 12. Amostra de pólen n e $2n$ em clones diplóides de batata. Aumento Total:448X.

PELOQUIN, 1986), enquanto que o pólen $2n$ via FDR é comumente encontrado em germoplasmas diplóides (DEN NIJS & PELOQUIN, 1977).

O primeiro relato do sucesso da utilização de pólen $2n$ via FDR em transferir caracteres favoráveis do nível diplóide ao tetraplóide foi apresentado por IWANAGA et alii (1989). Os autores trabalharam com resistência ao nematóide das galhas da raiz, (Root-knot nematodes), utilizando como fonte de resistência espécies diplóides de *S. sparsipilum*, *S. chacoense*, *S. phureja* e *S. stenotomum*. Através de seleção recorrente fenotípica, a freqüência da resistência na população foi aumentada, sendo combinada com caracteres fenotípicos desejáveis e uma maior produção de

pólen $2n$ via FDR em populações diplóides avançadas. Como resultado, a transferência dos genes para resistência ao nematóide de espécies selvagens para cultivares de batata pode ser facilmente alcançada, utilizando a seleção fenotípica.

Os autores ainda concluíram que a resistência do parental transmitida via pólen $2n$ é mais eficiente do que no pólen n . Esta eficiência é provavelmente devido ao fato de que o pólen $2n$ via FDR restringe o rearranjo de alelos entre o centrômero e a permuta.

Fica evidente o grande potencial dos gametas não reduzidos, principalmente pólen $2n$ via FDR, no melhoramento da batata. Com base nisto, é de suma importância a utilização de métodos alternativos que possam contribuir para a ampliação da base genética e com isto, no potencial de seleção da cultura da batata.

5. CONCLUSÕES

- Quatro mecanismos participaram da formação de pólen $2n$ nos 28 clones avaliados: fusos paralelos (**ps**) e fusos fundidos (**fs**), geneticamente equivalentes a FDR, com freqüência de 82,14% e 57,14%, respectivamente; citocinese prematura-1 (**pc-1**) e citocinese prematura-2 (**pc-2**), geneticamente equivalentes a SDR, com freqüência de 35,71% e 21,42%, respectivamente.

- Em um mesmo clone detectou-se a atuação de mais de um mecanismo de formação de pólen $2n$ (20 clones avaliados), sendo que a combinação mais freqüente foi **ps/fs** (15 clones avaliados).

- Os clones 9-2, 9-3, 9-6, 10-4 e 15-15 poderiam aumentar a chance de sucesso no cruzamento com espécies tetraplóides, pois apresentaram freqüência e viabilidade altas de pólen $2n$, bem como somente o modo de formação FDR.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLARD, R.W. **Princípios do melhoramento genético das plantas.** São Paulo, Editora Edgard Blücher, 1971. 381p.
2. BAMBERG, J.B. & HANNEMAN JR., R.E. Rapid ploidy screening of tuber-bearing *Solanum* (potato) species through pollen diameter measurement. **American Potato Journal**, Orono, **68**(5):279-85, 1991.
3. BINGHAM, E.T. Backcrossing tetraploidy into diploid *Madicago falcata* L. using 2n eggs. **Crop Science**, Madison, **30**(6):1353-4, 1990.
4. _____. Maximizing heterozygosity in autopolyploids In: LEWIS, W.H., ed. **Polyploidy: biological relevance.** New York, Plenum Press, 1980. p.471-89.
5. BOOCK, O.J. Genética e melhoramento da batatinha. In: KERR, W.E., ed. **Melhoramento e Genética.** São Paulo, 1969. p.149-59.
6. CHASE, S.S. Analytic breeding in *Solanum tuberosum* L. A scheme utilizing parthenotes and other diploid stocks. **Canadian Journal os Genetics and Cytology**, Ontario, **5**:359-63, 1963.

7. CONCILIO, L. & PELOQUIN, S.J. Evaluation of the 4x X 2x breeding scheme in a potato breeding program adapted to local conditions. **Journal of Genetics & Breeding**, Roma, 45(1):13-8, 1991.
8. CUNHA, A.L. **Caracterização agronômica e produção de pólen 2n de híbridos de dihaplóides de *Solanum tuberosum* *Solanum chacoense***. Lavras, ESAL, 1992. 83p. (Tese MS).
9. De JONG, H.; TAI, G.C.C.; RUSSEL, W.A.; JOHNSTON, G.R. & PROUDFOOT, K.G. Yield potential and genotype - environment interactions of tetraploid - diploid (4x-2x) potato hybrids. **American Potato Journal**, Orono, 58(4):191-9, 1981.
10. De MAINE, M.J.; FARRER, L.A. & PHILLIPS, M.S. Breeding for quantitative resistance to potato cyst nematode (*Globodera pallida*) in tetraploid potatoes using dihaploids and unreduced gametes. **Euphytica**, Wageningen, 35(3):1001-6, 1986.
11. DEN NIJS, T.P.M. & PELOQUIN, S.J. Polyploid evolution via 2n gametes. **American Potato Journal**, Orono, 54(8):377-86, 1977.
12. De WET, J.M.J. Origins of poliploidy. In: LEWIS, W.H., ed. **Polyploidy: biological relevance**. New York, Plenum Press, 1980. p.3-16.
13. DUNBIER, M.W. & BINGHAM, E.T. Maximum heterozigosity in alfalfa: results using haploid-derived autotetraploids. **Crop Science**, Madison, 15(4):527-31, 1975.

14. GOTTSCHALK, W. The origin of the potato - an open problem. **The Nucleus**, Boston, **27**(1,2):37-44, 1984.
15. HANNEMAN, R.E. & PELOQUIN, S.J. Use of Phureja and haploids to enhance the yield of cultivated tetraploid potatoes. **American Potato Journal**, Orono, **46**(11):436, 1969.
16. HAWKES, J.G. History of the potato. In: HARRIS, P.M. **The Potato Crop: the scientific basis of improvement**. London, Chapman and Hall, 1978. p.1-14.
17. HERMSEN, J.G.Th. Crossability, fertility and cytogenetic studies in *S. acaule* x *S. bulbocastanum*. **Euphytica**, Wageningen, **15**(2):149-55, 1966.
18. _____. Mechanisms and genetic implications of 2n -gametes formation. **Iowa State Journal of Research**, Ames, **58**(4):421-34, 1984.
19. HERMUNDSTAD, S.A. & PELOQUIN, S.J. Male fertility and 2n pollen production in haploid-wild species hybrids. **American Potato Journal**, Orono, **62**(9):479-87, 1985.
20. HOOPES, R.W. & PLAISTED, R.L. Potato. In: FEHR, W.R., ed. **Principles of cultivar development, crop species**. New York, MacMillan Pub.Co., 1987. v.2, p.385-436.

21. HOUGAS, R.W. & PELOQUIN, S.J. The potential of potato haploids in breeding and genetic research. **American Potato Journal**, Orono, **35**(10):701-7, 1958.
22. HOWARD, H.W. **Genetics of the potato**. New York, Springer-Verlag, 1970. 111p.
23. IWANAGA, M. Discovery of a synaptic mutant in potato haploids and its usefulness for potato breeding. **Theoretical and Applied Genetic**, Vienna, **68**:87-93, 1984.
24. _____; JATALA, P.; ORTIZ, R. & GUEVARA, E. Use of FDR 2n pollen to transfer resistance to root-knot nematodes into cultivated 4x potatoes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Alexandria, **114**(6):1008-1013, 1989.
26. _____ & PELOQUIN, S.J. Origin and evolution of cultivated tetraploid potatoes via 2n gametes. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, **61**:161-9, 1982.
27. _____ & _____. Synaptic mutant affecting only megasporogenesis in potatoes. **The Journal of Heredity**, Baltimore, **70**(6):385-9, 1979.
28. _____. & SCHMIEDICHE, P. Uso de especies silvestres para mejorar los cultivares de papa. **CIP Circular**, **17**(2):1-7, 1989.

29. JACKSON, R.C. & CASEY, J. Cytogenetics of polyploids. In: LEWIS, W.H., ed. **Polyploidy: biological relevance**. New York, Plenum Press, 1980. p.17-44.
30. JACOBSEN, E. & SOPORY, S.K. The influence and possible recombination of genotypes on the production of microspore embryoids in anther cultures of *Solanum tuberosum* and dihaploid hybrids. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, **52**:119-23, 1978.
31. JOHNSTON, S.A.; RUHDE, R.W.; EHLENFELDT, M.K. & HANNEMAN JR., R.E. Inheritance and microsporogenesis of a synaptic mutant (sy-2) from *Solanum commersonii* Dun. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ontario, **28**(4):520-4, 1986.
32. LAM, S.L. Origin and formation of unreduced gametes in the potato. **The Journal of Heredity**, Baltimore, **65**(3):175-8, 1974.
33. LANGE, N. & WAGENVOORT, M. Meiosis in triploid *S. tuberosum*. **Euphytica**, Wageningen, **22**(1):8-18, 1973.
34. LUNDEN, A.P. Some more evidence of autotetraploid inheritance in the potato (*Solanum tuberosum*). **Euphytica**, Wageningen, **9**(2):225-34, 1960.

35. MARIS, B. Comparison of diploid and tetraploid potato families derived from *Solanum phureja* x dihaploid *S. tuberosum* hybrids and their vegetatively doubled counterparts. **Euphytica**, Wageningen, **46(1):15-33**, 1990
36. Mc COY, T J The inheritance of 2n pollen formation in diploid alfalfa *Medicago sativa*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ontario, **24(3):315-23**, 1982.
37. Mc HALE, N.A. Environmental induction of high frequency 2n pollen in diploid *Solanum*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ontario **25:609-15**, 1983.
38. MENDIBURU, A.O & PELOQUIN, S.J. High yielding tetraploids from 4x 2x and 2x 2x matings. **American Potato Journal**, Orono, **48(8):300-01**, 1971
39. _____ & _____ Synthesis of tetraploid potatoes by interdiploid matings **American Potato Journal**, Orono, **47(9):357**, 1970.
40. _____ & _____ The significance of 2n gametes in potato breeding. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, **49:53-61**, 1977.
- 41 MENDOZA, H.A. & HAYNES, F.L. Genetic basis of heterosis for yield in the autotetraploid potato. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, **45:21-5**, 1974.

42. MOK, D.W.S. & PELOQUIN, S.J. Breeding value of $2n$ pollen (diplandroids) in tetraploid x diploid crosses in potato. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, 46:307-14, 1975a.
43. _____ & _____. The inheritance of three mechanisms of diplandroid ($2n$ pollen) formation in diploid potatoes. **Heredity**, Edinburgh, 35(3):295-302, 1975b.
44. _____ & _____. Three mechanisms of $2n$ pollen formation in diploid potatoes. **American Potato Journal**, Orono, 49(9):362, 1972.
45. _____; _____ & MENDIBURU, A.O. Genetic evidence for mode of $2n$ pollen formation and S-locus mapping in potatoes. **Potato Research**, Wageningen, 19:157-64, 1976.
46. OKWUAGWU, C.D. & PELOQUIN, S.J. A method of transferring the intact parental genotype in the offspring via meiotic mutants. **American Potato Journal**, Orono, 58(10):512-3, 1981.
47. ORJEGA, G.; FREYRE, R. & IWANAGA, M. Production of $2n$ pollen in diploid *Ipomoea trifida*, a putative wild ancestor of sweet potato. **The Journal of Heredity**, Baltimore, 81(6):462-7, 1990.
48. PELOQUIN, S.J. Breeding methods for achieving phenotypic uniformity. In: _____. **Production of potatoes from true seed**. Philippines, International Potato Center, 1979. p.151-5.

49. PELOQUIN, S.J. Chromosomal and cytoplasmic manipulations. In: FREY, K.J. **Plant Breeding Symposium**. 2nd., Iowa State University, Iowa State University Press, 1981. p.117-37.
50. _____. New approaches to breeding for the potato for the year 2000. In: HOOKER, W.J., ed. **Research for the Potato in the year 2000**. Lima, CIP, 1983. p.32-4.
51. _____. Sexual polyploidization in relation to breeding and evolution. **American Potato Journal**, Orono, 49(9):363, 1972.
52. QUINN, A.A.; MOK, D.W.S. & PELOQUIN, S.J. Distribution and significance of diplandroids among the diploid Solanums. **American Potato Journal**, Orono, 51(1):16-21, 1974.
53. RAMANNA, M.S. A re-examination of the mechanisms of $2n$ gamete formation in potato and its implications for breeding. **Euphytica**, Wageningen, 28(3):537-61, 1979.
54. _____. First division restitution gametes through fertile desynaptic mutants of potato. **Euphytica**, Wageningen, 32(2):337-50, 1983.
55. _____. The origin of unreduced microspores due to aberrant cytokinesis in the meiocytes of potato and its genetic significance. **Euphytica**, Wageningen, 23(1):20-30, 1974.

56. RHOADES, M.M. & DEMPSEY, E. Induction of chromosome doubling at meiosis by the elongate gene in maize. **Genetics**, Madison, **54**:505-22, 1966.
57. SIMMONDS, N.W. Potatoes. In: _____. **Evolution of Crop Plants**. London, Longman, 1979. p.279-83.
58. SIMON, P.W. & PELOQUIN, S.J. Pollen vigor as a function of mode of $2n$ gamete formation in potatoes. **The Journal of Heredity**, Baltimore, **67**(4):204-8, 1976.
59. SOUTER, E.W.; DAWE, J.C. & PELOQUIN, S.J. $2n$ pollen formation via parallel spindles in the potato cultivar Sebago. **American Potato Journal**, Orono, **57**(9):449-55, 1980.
60. STEBBINS JR., G.L. Types of polyploids: Their classification and significance. **Advances in Genetics**, New York, **1**:403-29, 1947.
61. STELLY, D.M. & PELOQUIN, S.J. Diploid female gametophyte formation in 24-chromosome potatoes: genetic evidence for the prevalence of the second meiotic division restitution mode. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ontario, **28**(1):101-8, 1986.
62. TAYLOR, L.M. Variation patterns of parthenogenetic plants derived from "unreduced" embryo-sacs of *Solanum tuberosum* subspecies *andigena* (Juz et Buk.) Hawkes. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, **52**:241-9, 1978.

63. UGENT, D. The potato: what is the botanical origin of this important crop plant, and how did it first become domesticated? **Science**, Washington, **170**(3963):1161-6, 1970.
64. VEILLEUX, R.E. & LAUER, F.I. Variation for $2n$ pollen production in clones of *Solanum phureja* Juz. and Buk. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, **59**:95-100, 1981.
65. _____; Mc HALE, N.A. & LAUER, F.I. $2n$ gametes in diploid *Solanum*: Frequency and types of spindle abnormalities. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ontario, **24**(3):301-14, 1982.
66. VORSA, N. & BINGHAM, E.T. Cytology of $2n$ pollen formation in diploid alfalfa, *Medicago sativa*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ontario, **21**:525-30, 1979.
67. WATANABE, K. & PELOQUIN, S.J. Cytological basis of $2n$ pollen formation in a wide range of $2x$, $4x$ and $6x$ taxa from tuber-bearing *Solanum* species. **Genome**, Ottawa, **36**(1):8-13, 1993.
68. _____ & _____. Occurrence and frequency of $2n$ pollen in $2x$, $4x$ and $6x$ wild tuber-bearing *Solanum* species from Mexico, and Central and South Americas. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, **82**:621-6, 1991.

69. WATANABE, K. & PELOQUIN, S.J. Occurrence of $2n$ pollen and ps gene frequencies in cultivated groups and their related wild species in tuber-bearing Solanums. **Theoretical and Applied Genetics**, Vienna, **78**:329-36, 1989.
70. WERNER, J.E. & PELOQUIN, S.J. Frequency and mechanisms of $2n$ egg formation in haploid Tuberosum - wild species F_1 hybrids. **American Potato Journal**, Orono, **64**(12):641-54, 1987.
71. _____ & _____. Inheritance and two mechanisms of $2n$ egg formation in $2x$ potatoes. **The Journal of Heredity**, Washington, **81**(5):371-4, 1990.
72. _____ & _____. Occurrence and mechanisms of $2n$ egg formation in $2x$ potato. **Genome**, Ottawa, **34**(6):975-82, 1991.
73. YÉRK, G.L. & PELOQUIN, S.J. Selection of potato haploid parents for use in crosses with $2x$ (2 endosperm balance number) wild species. **Crop Science**, Madison, **30**(4):943-6, 1990.