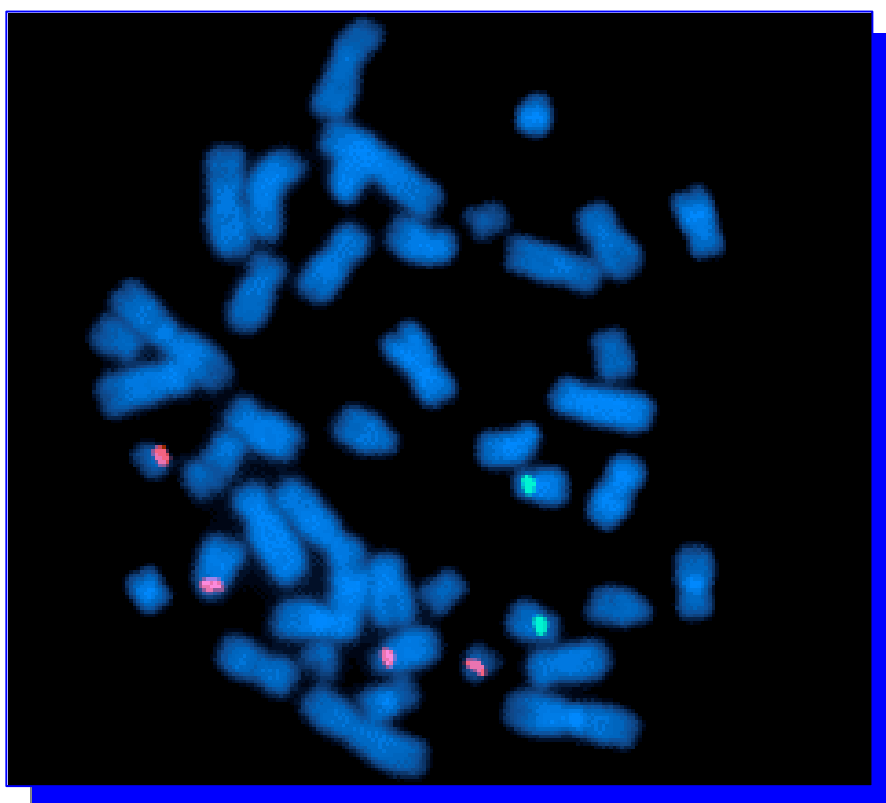


## A citogenética na caracterização genômica do trigo

Sandra Patussi Brammer



Passo Fundo, RS

2003

### Introdução

O trigo é uma das espécies mais estudadas mundialmente, tanto dos pontos de vista científico e tecnológico quanto do econômico. A partir de sua domesticação, nas lavouras do Sudoeste da Ásia, em 7000 a 9000 a.C., a cultura desse cereal apresentou grande expansão (Bell, 1987), e a variabilidade encontrada é de nada menos de 17.000 cultivares disponíveis em todo o mundo (Mota, 1982, citado por

Angra, 1995). Desde o início do século XX, numerosos pesquisadores em vários países e, mais recentemente, no Brasil, dedicam-se ao estudo das peculiaridades do sistema genético dessa espécie (Mackey, 1963, 1975; Feldman, 1977; Moraes-Fernandes, 1982; Braun et al., 1997).

A obtenção de cultivares de trigo com características agrônomicas desejáveis, através de cruzamentos, pode ser mais rápida e eficiente com a combinação do uso de técnicas citogenéticas e seleção agrônômica, pois permitem ao melhorista, conjuntamente com o citogeneticista, analisar, mediante testes de progênies, a influência do genótipo quanto à ocorrência de anormalidades cromossômicas, bem como anomalias na estrutura dos grãos de pólen. Essas anormalidades afetam a fertilidade, são responsáveis pela ocorrência de progênies desuniformes nos cruzamentos e prejudicam a adaptação de cultivares.

Em virtude de possuir constituição cromossômica complexa, o trigo tem uma peculiaridade especial: nas suas células, coexistem os genomas de 3 espécies primitivas diferentes, resultantes das hibridizações naturais, que lhe confere excelente capacidade de adaptação às mais variadas condições ecológicas. Assim sendo, o conhecimento dos padrões de herança, bem como a localização dos caracteres nos cromossomos, tem permitido ao melhoramento genético avanços na incorporação de genes de importância econômica entre os genótipos promissores.

### O genoma do trigo

As espécies conhecidas de trigo formam uma série poliplóide, e suas relações dentro da tribo *Triticeae* foram extensivamente estudadas por meio da análise de genomas. A subtribo *Triticinae* é formada pelos gêneros *Triticum*, *Aegilops*, *Agropyron*, *Secale* e *Haynaldia*, os quais apresentam origem relativamente recente. A hibridação entre esses gêneros é possível, permitindo que ocorra a introgressão gênica. Conseqüentemente, constituem valiosos recursos genéticos para a prospecção de genes e posterior uso no melhoramento do trigo cultivado. As relações entre tais espécies são estudadas pela análise dos respectivos genomas (Moraes-Fernandes et al., 2000).

No caso de trigo, cada genoma contém 7 cromossomos e é designado por uma letra maiúscula. Assim, têm-se trigos diplóides, tetraplóides e hexaplóides: *Triticum monococcum* L. ( $2n=2x=14$ , AA), *Triticum turgidum* L. ( $2n=4x=28$ , AABB) e *Triticum aestivum* L. em Thell ( $2n=6x=42$  AABBDD) (Mackey, 1975). No trigo de panificação (*T. aestivum*) combinam-se os genomas completos de três espécies diplóides distintas (AABBDD), mas relacionadas geneticamente. A complexidade deste último torna-se um problema relevante quando se pretende realizar mapeamento genético, desenvolvimento de marcadores moleculares, seqüenciamento de genes funcionais e transferência de genes, o que justifica ainda mais as pesquisas com a cultura. Desse modo, muitos genes apresentam herança polissômica, isto é, parte dos genes presentes no genoma A pode estar repetida nos genomas B e D, tornando mais complexos os padrões de segregação mendeliana e dificultando as análises genéticas (Moraes-Fernandes, 1982).

Além do mencionado, a poliploidia natural confere ao trigo certas características que facilitam a incorporação de genes de espécies próximas. A associação entre melhoramento genético vegetal e princípios básicos da genética tem sido importante para os grandes avanços na adaptação de novos ambientes, bem como nos aumentos de rendimento e na qualidade do produto comercial (Federizzi et al., 1999).

Moraes-Fernandes et al. (2000) enfatizam que o conhecimento sobre relações citotaxonômicas, estrutura citogenética e história evolutiva das espécies envolvidas nos cruzamentos também é importante para a escolha da espécie doadora de características como resistência a doenças. Vários genes de resistência a estresses bióticos e abióticos estão localizados em cromossomos homeólogos com distâncias similares do centrômero, sugerindo que eles devem representar variantes alélicas em diferentes locos homeólogos. Em razão do baixo nível de polimorfismo encontrado dentro das cultivares de trigo, o uso de isolinhas representa, provavelmente, um melhor germoplasma para identificar genes de resistência, por possuírem estes maior nível de polimorfismo (Autrique et al., 1995).

## **A citogenética clássica, uso de séries aneuplóides e bandeamento cromossômico**

A citogenética clássica desenvolveu-se principalmente a partir do início do século passado e seu progresso acompanhou o aprimoramento de técnicas e equipamentos de microscopia. É a ciência que estuda os constituintes celulares portadores da informação genética (cromossomos). Compreende qualquer estudo relativo ao cromossomo, em suas diferentes formas, tanto no que diz respeito a morfologia, organização, função e replicação quanto no tocante à sua variação e evolução (Sacchet, 1999).

Na área vegetal vem apresentando um grande avanço desde a década de 30 e, no caso de trigo, vem fornecendo uma contribuição valiosa ao melhoramento varietal (Moraes-Fernandes, 1982). Além disso, a citogenética impulsionou as demais áreas da biotecnologia, associando-se a estas como valiosa ferramenta para as pesquisas científicas, tanto básicas como aplicadas.

A estrutura citogenética de trigo tornou-se mais bem conhecida a partir dos trabalhos de Sears (1939), que desenvolveu a primeira série dos 21 monossômicos para a cultivar Chinese Spring. As diferentes progênies monossômicas recebem sua denominação de acordo com a identificação do cromossomo para o qual há apenas uma dose em vez do par. São utilizadas no mapeamento genético, identificando o cromossomo portador do gene em estudo, após cruzamentos entre monossômicos para cada par e a cultivar a ser analisada, através de distorções observadas nos padrões de segregação. Atualmente, as diversas séries aneuplóides desenvolvidas são utilizadas para localizar nos cromossomos os genes que se deseja mapear.

Através de plantas nulissômicas para um par de cromossomos, mas tetrassômicas para outro par, é possível, em muitos casos, restaurar praticamente o fenótipo normal, uma vez que em muitos genótipos pode haver a compensação da deficiência. Pesquisas realizadas nesse tema demonstraram a ocorrência de homeologia genética, isto é, a presença, em cromossomos homeólogos, de genes similares. Por exemplo, na cultivar Chinese Spring, uma planta sem o par cromossômico 1A e com dose quádrupla dos cromossomos do par 1B ou 1D tem fenótipo normal. Como a homologia não é perfeita, pois não ocorre com todos os genes, os cromossomos são chamados homeólogos (Moraes-Fernandes, 1982; Law et al., 1987).

A introgressão de genes pode ser incrementada por procedimentos eficientes para a detecção de cromossomos ou segmentos cromossômicos (Jiang et al., 1994), pois o estado híbrido de uma plântula pode ser determinado pelo número somático de cromossomos e pelo comportamento meiótico (Sharma e Gill, 1983; Sethi, 1989).

As técnicas de bandeamento cromossômico "expandiram" os horizontes da citogenética, e a primeira aplicação do bandeamento deu-se no pareamento cromossômico. Essas técnicas têm possibilitado compreender melhor as alterações cromossômicas que se estabelecem em cada genótipo (Guerra, 1988).

Os bandeamentos cromossômicos (bandeamento C e N) têm funcionado como poderoso instrumento na análise citogenética e na manipulação do genoma de trigo (Gill et al., 1991). Usando-se a técnica do bandeamento C, é possível reconhecer as regiões de heterocromatina constitutiva, permitindo a identificação de cromossomos

específicos. Em triticales, resultado do cruzamento entre trigo e centeio, o bandeamento C pode auxiliar na identificação de cromossomos provenientes de trigo e de centeio. Segundo Seal & Bennett (1982), os cromossomos de centeio são preferencialmente corados com Giemsa. Assim, esse procedimento pode ser empregado na caracterização de diferentes acessos de uma mesma espécie, na identificação de linhas de adição e de substituição (Friebe et al., 1993) e na detecção de alterações estruturais, como deleções, inversões e translocações (Gill et al., 1991).

O bandeamento N é um procedimento inicialmente reportado por Gerlach (1977) e modificado por Endo & Gill (1984). Consiste na prolongada imersão das lâminas em ácido acético 45% quente e uma curta imersão em tampão fosfato quente. Assim como o bandeamento C, é uma técnica usada na análise de cariótipos e na construção de idiogramas de trigo e de espécies próximas (Jewell, 1979; Gill et al., 1991).

### **A citogenética molecular e sua importância na caracterização de uma espécie**

A hibridização *in situ* (HIS) é um método empregado para a visualização de seqüências definidas de ácidos nucleicos, em preparações celulares, através da hibridação de seqüências complementares (sondas). Esse método, descrito por Pardue e Gall (1969), permite a detecção de seqüências específicas em cromossomos metafásicos, bem como em núcleos interfásicos. A técnica proporciona a interação entre conhecimento da biologia celular, citogenética clássica e genética molecular (Rogatto & Rainho, 2000) e consiste basicamente no pareamento, ou hibridização, de um determinado fragmento de DNA, RNA ou RNA complementar situado dentro da célula do organismo que está sendo estudado. O objetivo é verificar se a célula, ou tecido, possui essa seqüência de nucleotídeos e, em alguns casos, conhecer também a sua exata localização na célula ou no cromossomo.

A HIS tem sido adotada para localizar as mais diversas seqüências de nucleotídeos, como genes de cópia única nos cromossomos, moléculas de RNA mensageiro no citoplasma, DNA viral inserido no cromossomo etc. Os avanços nessa área vêm permitindo maior disponibilidade de sondas e de diferentes protocolos, facilitando as análises e ampliando o seu uso nas investigações de regiões genômicas de interesse, em escala de uma única célula (Rogatto & Rainho, 2000).

A técnica de Hibridização *in situ* é muito usada no mapeamento de genomas de plantas, na detecção de seqüências únicas e, principalmente, de seqüências de DNA repetitivo. O padrão de HIS em cromossomos somáticos metafásicos usando seqüências repetitivas em tandem é apontado como um excelente marcador físico para a identificação de cromossomos (Friebe et al., 1992; Brasileiro-Vidal & Guerra, 2002)

### **Conclusão**

O conhecimento mais exato possível da origem e relações entre as espécies indicará os procedimentos adequados à sua manipulação genética dentro de um

programa de melhoramento genético de trigo. Contudo, se, por um lado, o trigo é uma das espécies de cereais com maior genoma e com grande complexidade genética, por outro, é possível explorar recursos citogenéticos, através do uso de modernas ferramentas biotecnológicas, como a citogenética molecular, associadas à citogenética clássica e à engenharia cromossômica.

Portanto, o conhecimento adquirido nas áreas de biologia celular e molecular tem contribuído para o entendimento de como os genes estão organizados nos genomas. Os esforços continuados para mapear, isolar e caracterizar genes associados à resistência a patógenos têm identificado vários genes importantes agronomicamente.

### Referências bibliográficas

- ANGRA, D. C. **Transferência da resistência à ferrugem da folha através de cruzamentos intergenéricos entre *Triticum aestivum* e *Agropyron elongatum***. 1985. 85 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.
- AUTRIQUE, E.; SINGH, R. P.; TANKSLEY, S. D.; SORRELL, M. E. Molecular markers for four leaf rust resistance genes introgressed into wheat relatives. **Genome**, v. 38, p. 75-83, 1995.
- BELL, G. D. H. The history of wheat cultivation. In: LUPTON, F. G. H. **Wheat breeding**. London: Chapman and Hall, 1987. p. 31-50.
- BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; GUERRA, M. Citogenética molecular em cereais. In: BRAMMER, S. P.; IORCZESKI, E. J. (Org.). **Atualização em técnicas celulares e moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2002. p. 277-298.
- BRAUN, H. J.; ALATY, F.; KRONSTAD, W. E.; BENIWAL, S. P. S.; MCNAB, A. (Ed.). **Wheat: prospects for global improvement**. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1997. 582 p.
- ENDO, T. R.; GILL, B. S. Somatic karyotype, heterochromatin distribution, and nature of chromosome differentiation in common wheat, *Triticum aestivum* L. em Thell. **Chromosoma**, v. 89, p. 361-369, 1984.
- FEDERIZZI, L. C.; SCHEEREN, P. L.; NETO, J. F. B.; MILACH, S. C. K.; PACHECO, M. T. Melhoramento do trigo. In: BORÉM, A. **Melhoramento de espécies cultivadas**. Viçosa: UFV, 1999. p. 535-587.
- FELDMAN, M. Wheats. In: SIMMONDS, N. W. (Ed.). **Evolution of crop plants**. London: Longman, 1977. p. 120-128.
- FRIEBE, B.; TULEEN, N.; JIANG, J.; GILL, B. S. Standart karyotype of *Triticum longissimum* and its cytogenetic relationship with *T. aestivum*. **Genome**, v. 36, p. 731-742, 1993.

- FRIEBE, B.; ZELLER, F. J.; MUKAI, Y.; FORSTER, B. P.; BARTOS, P.; MCINTOSH, R. A. Characterization of rust-resistant wheat *Agropyron* intermedium derivatives by C-banding, in situ hybridization and isozyme analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 83, p. 775-782, 1992.
- GERLACH, W. L. N-banded karyotypes of wheat species. **Chromosoma**, v. 62, p. 49-56, 1977.
- GILL, B. S.; FRIEBE, B.; ENDO, T. R. Standard karyotype and nomenclature system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*). **Genome**, v. 34, p. 830-839, 1991.
- GUERRA, M. Heterocromatina e bandeamento cromossômico. In: GUERRA, M. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. p. 31-34.
- JEWELL, D. C. Chromosome N-Banding in *Triticum aestivum* cv. Chinese Spring and *Aegilops variabilis*. **Chromosoma**, v. 71, p. 129-134, 1979.
- JIANG, J.; FRIEBE, B.; GILL, B. S. Recent advances in alien gene transfer in wheat. **Euphytica**, v. 73, p. 199-212, 1994.
- LAW, C. N.; SNAPE, J. W. ; WORLAND, A. J. Aneuploidy in wheat and its uses in genetic analysis. In: LUPTON, F. G. H. **Wheat breeding**. London: Chapman and Hall, 1987. p. 71-108.
- MACKEY, J. Species relationships in *Triticum*. In: INTERNATIONAL WHEAT GENETICS SYMPOSIUM, 2., 1963, Lund, Sweden. **Proceedings...** Lund: University of Lund – Genetics Institute, 1963. v. 2, p. 237-276.
- MACKEY, J. **The boundaries and subdivision of the genus *Triticum***. Uppsala: Swedish University of Agricultural Sciences, 1975. 23 p. Trabalho apresentado no XII International Botany Congress, Leningrad, 1975.
- MORAES-FERNANDES, M. I. B. de. Citogenética. In: OSÓRIO, E. A. (Ed.). **Trigo no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1982. p. 95-144.
- MORAES-FERNANDES, M. I. B. de; ZANATTA, A. C. A.; PRESTES, A. M.; CAETANO, V. R.; BARCELLOS, A. L.; ANGRA, D. C.; PANDOLFI, V. Cytogenetics and immature embryo culture at Embrapa Trigo breeding program: transfer of disease resistance from related species by artificial resynthesis of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell). **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, p. 1051-1062, 2000.
- PARDUE, M. L.; GALL, J. G. Molecular hybridization to radioactive DNA to the DNA of cytological preparations. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 61, p. 600-604, 1969.
- ROGATTO, S. R.; RAINHO, C. A. Citogenética molecular. In: ROGATTO, S. R. **Citogenética sem risco: biossegurança e garantia de qualidade**. São Paulo: FUNPEC, 2000. p. 134-152.

SACCHET, A. M. O. F. Citogenética vegetal: instrumento de pesquisa e ponte como ensino médio e fundamental. In: SACCHET, A. M. O. F. (Org.). **Genética para que te quero?** Porto Alegre: Ed. UFRGS, 1999. p. 87-95.

SEAL, A. G.; BENNETT, M. D. Preferential C-banding of wheat or rye chromosomes. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 63, p. 227-233, 1982.

SEARS, E. R. Cytogenetic studies with polyploid species of wheat. I. Chromosomal aberrations in the progeny of a haploid of *Triticum vulgare*. **Genetics**, v. 124, p. 509-523, 1939.

SETHI, G. S. Towards the introgression of rye genes into wheat. In: MUJEEB-KAZI, A.; SITCH, L. A. (Ed.). **Review of advances in plant biotechnology, 1985 – 1988**. Mexico: CIMMYT, 1989. p. 145-155.

SHARMA, H. C.; GILL, B. S. New hybrids between *Agropyron* and wheat. 2. Production, morphology and cytogenetic analysis of F<sub>1</sub> hybrids and backcross derivatives. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 66, p. 111-121, 1983.



Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento



Comitê de Publicações da Unidade

Presidente: Irineu Lorini

Membros: Beatriz M. Emygdio, Gilberto O. Tomm, José Maurício C. Fernandes, Martha Z. de Miranda, Renato S. Fontaneli, Sandra P. Brammer, Sírio Wiethölter

Expediente

Referências bibliográficas: Maria Regina Martins

Editoração eletrônica: Márcia Barrocas Moreira Pimentel

BRAMMER, S. P. **A citogenética na caracterização genômica do trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2003. 6 p. html. (Embrapa Trigo. Documentos Online; 31). Disponível em: [http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p\\_do31.htm](http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do31.htm)