

Análise citogenética em acessos de trigo armazenados a longo e médio prazo

ISSN 0102-0129

Fevereiro, 2010

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 287

Análise citogenética em acessos de trigo armazenados a longo e médio prazo

Milene Rocha Ribeiro
Rafael de Carvalho da Silva
Andréa del Pilar de Souza Peñaloza
Sandra Patussi Brammer
Ana Cristina Brasileiro-Vidal
Clara de Oliveira Goedert
Sileuza dos Santos
Ana Rafaela da Silva Oliveira
Marisa Toniolo Pozzobon

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia
Brasília, DF
2010

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia

Endereço: Parque Estação Biológica – PqEB – Av. W5 Norte
Caixa Postal 02372 – Brasília, DF – Brasil – CEP: 70770-917

Fone: (61) 3448-4700 / Fax: (61) 3340-3624

Home page: <http://www.cenargen.embrapa.br/>

E-mail (sac): sac@cenargen.embrapa.br

Comitê Local de Publicações

Presidente: *Lúcio Brunale*

Secretária-Executiva: *Lígia Sardinha Fortes*

Membros: *José Roberto de Alencar Moreira*

Diva Maria de Alencar Dusi

Regina Maria Dechechi G. Carneiro

Samuel Rezende Paiva

Jonny Everson Scherwinski Pereira

Suplentes: *João Batista Tavares da Silva*

Margot Alves Nunes Dode

Normalização bibliográfica: Lígia Sardinha Fortes

Revisão de texto: José Cesamildo Cruz Magalhães

Editoração eletrônica: Rafaela Marcondes Oliveira

1ª edição (online)

Todos os direitos reservados.

A reprodução não autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

As opiniões nesta publicação são de exclusiva e de inteira responsabilidade dos autores, não exprimindo, necessariamente, o ponto de vista da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), vinculada ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento.

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**

Análise citogenética em acessos de trigo armazenados a longo e médio prazo. / Milene Rocha Ribeiro ... [et al.]. – Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010. 26p. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 287)

Revisão técnica: Alessandra Pereira Fávero.

1. Trigo. 2. Análise citogenética. 3. Armazenamento – longo e médio prazo. I. Ribeiro, Milene Rocha. II. Silva, Rafael de Carvalho da. III. Peñaloza, Andréa del Pilar de Souza. IV. Brammer, Sandra Patussi. V. Brasileiro-Vidal, Ana Cristina. VI. Goedert, Clara de Oliveira. VII. Santos, Sileuza dos. VIII. Oliveira, Ana Rafaela da Silva. IX. Pozzobon, Marisa Toniolo. X. Série.

575.21 – CDD 21.

© Embrapa 2010

Sumário

Resumo	6
Abstract	8
Introdução	9
Material e Métodos	11
Resultados e Discussão	12
Análise Mitótica.....	12
Análise Meiótica.....	16
Conclusões	21
Agradecimentos	21
Referências	22

Análise citogenética em acessos de trigo armazenados a longo e médio prazo

Milene Rocha Ribeiro

Rafael de Carvalho da Silva

Andréa del Pilar de Souza Peñaloza

Sandra Patussi Brammer

Ana Cristina Brasileiro-Vidal

Clara de Oliveira Goedert

Sileuza dos Santos

Ana Rafaela da Silva Oliveira

Marisa Toniolo Pozzobon

Resumo

Acessos de *Triticum aestivum* mantidos a longo e médio prazo na Embrapa foram analisados citogeneticamente por meio de técnicas de coloração convencional, a fim de verificar a estabilidade cromossômica em duas condições de armazenamento: Colbase-Cenargen (- 20°C e 5% de umidade) e câmaras frias do BAG-CNPT (10°C e 7% de umidade). Em mitose, independentemente das condições de armazenamento, apenas 18,5% dos acessos não apresentaram irregularidades, enquanto 14,8% apresentaram frequência de células com irregularidades abaixo de 10%. Foi observado um grau variado de anormalidades, tais como metáfases com quebras de cromossomos, anáfases com pontes e/ou fragmentos acêntricos, aderências e cromátides retardatárias. Na meiose, aderências cromossômicas em diacinese e metáfase I, presença de bivalentes não orientados na placa equatorial em metáfase I, cromossomos retardatários, pontes e/ou fragmentos em anáfase e telófase I e micronúcleos em telófase II foram as mais comuns. Apesar dessas, a maioria dos acessos (91,3%) apresentou Índice Meiótico acima de 90%, caracterizando-os como

citologicamente estáveis. Embora não detectadas as prováveis causas dessas anormalidades, sugere-se que sua ocorrência esteja vinculada à origem do acesso e não relacionada a tempo e condições de armazenamento.

Palavras-chave: *Triticum aestivum*, colbase, recursos genéticos, conservação *ex situ*.

Citogenetic studies in wheat accessions stored in the long and medium term

Abstract

Accessions of Triticum aestivum stored for long and medium term at Embrapa, were cytologically analyzed by conventional stain techniques, in order to investigate the chromosomal stability under two storage conditions: Base collection (Colbase) at Cenargen (- 20°C and 5% RH) and cold storage chambers of the Active genebank at CNPT (10°C and 7% RH). Although not predominantly, a variable degree of abnormalities were observed in meiosis and mitosis. Mitotic metaphases with breaks, anaphases with bridges and/or acentric fragments, stickiness and laggards chromosomes were observed. In meiosis, chromosome stickiness at diakinesis and metaphase I, the presence of non-oriented bivalents in the equatorial plate at metaphase I, lagging chromosomes, bridges and / or fragments in anaphase and telophase, and micronuclei in telophase I and II were the most common abnormalities. Despite these, most accessions showed meiotic index above 90%, what characterizes them as cytologically stable. Although the causes of these abnormalities have not been identified, it suggests that their occurrence is associated to each individual accession, and not related to time and storage conditions.

Key words: *Triticum aestivum*, Base collection (colbase), genetic resources, *ex situ* conservation.

Introdução

Com uma demanda nacional de 10 milhões de toneladas por ano, o trigo comum (*Triticum aestivum* L.) é um dos principais itens na pauta de importações, necessitando cerca de 7,5 milhões de toneladas, ao custo médio de um bilhão de dólares (PORTUGAL, 2001). Tendo em vista o aumento populacional, o trigo é uma das culturas estratégicas para a segurança alimentar mundial, sendo a de maior importância econômica em termos de volume de produção e comercialização (ESTADOS..., 2010). Além do mencionado, seu grão contém em média 60 a 80% de carboidratos, 1,5 a 2% de gorduras, 1,5 a 2,0% de vitaminas do complexo B e E, minerais e 8 a 15% de proteínas, das quais as gliadinas e gluteninas são as principais envolvidas na qualidade da panificação (BARBIERI; STUMPF, 2008).

O uso de variedades adaptadas não garante a autossuficiência na produção brasileira. Dessa forma, os programas de melhoramento de trigo no Brasil utilizam-se da introdução e do intercâmbio de material, bem como de amostras disponíveis em bancos de germoplasma, a fim de ampliar a base genética e obter genótipos mais produtivos, com boas aptidões industriais e resistentes às principais doenças da cultura. Esses bancos desempenham função importante na preservação, investigação e utilização de características valiosas encontradas nos parentais silvestres, nas espécies exóticas e em raças locais.

Na Coleção de Base (Colbase) da Embrapa, situada na Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), um acervo de mais de cinco mil acessos de germoplasma de *T. aestivum* é conservado sob temperatura de -20°C e 5% de teor de umidade. Periodicamente essas amostras são monitoradas quanto à germinação. Sabe-se, no entanto, que a conservação *ex situ* a longo prazo pode levar a alterações fisiológicas e genéticas do germoplasma.

Perdas de vigor e viabilidade das sementes decorrem da interação entre fatores endógenos, que definem a qualidade das sementes, e

fatores ambientais, como estresses bióticos e abióticos ocorridos durante o período de estocagem (RAJJOU; DEBEAUJON, 2008). Dentre esses fatores, cita-se a destruição do sistema de membranas ocasionado por alterações citológicas, decorrente do processo de envelhecimento natural, que pode implicar alterações metabólicas, fisiológicas e genéticas (ABDUL-BAKI; ANDERSON, 1972; ROBERTS, 1973a, 1973b). Entre as alterações genéticas, há relatos da ocorrência de quebras no DNA, causando redução na capacidade de síntese de proteínas (GHOSH et al., 1981), danos no metabolismo de DNA (COELLO; VÁZQUEZ-RAMOS, 1996) e até danos cromossômicos (MURATA et al., 1981). A degradação genética pode ser ocasionada pela perda da viabilidade de diferentes componentes genéticos e pelo acúmulo de mutações durante a estocagem (ROBERTS, 1988). Porém, as razões para o acúmulo de lesões que levam a quebras cromossômicas e possíveis mutações gênicas ainda não são claras (ROBERTS, 1988). De Vries (1901), citado por Roos (1988), foi um dos primeiros a reconhecer a relação entre envelhecimento da semente e ocorrência de anormalidades genéticas.

Fatores externos, como temperatura e umidade (fatores ambientais) e fatores internos (mudanças fisiológicas/ proteicas) decorrentes do tempo de envelhecimento, além dos fatores genéticos, poderiam ocasionar mudanças de alguns compostos endógenos ou de seus níveis, e isso poderia induzir a uma mutação. A maioria dos autores concorda que o mecanismo de deterioração das sementes está provavelmente envolvido, em alguma extensão, com o rompimento do ciclo de replicação normal do DNA, o que, por sua vez, afeta a divisão celular e, conseqüentemente, a viabilidade das células filhas (ROOS, 1988).

A qualidade fisiológica das sementes e a estratégia de monitoramento das amostras durante o armazenamento *ex situ* são fundamentais para garantir a adequada conservação dessas sementes por longo prazo e assegurar sua utilização em futuras demandas de melhoramento da cultura no país. Embora os recursos genéticos possuam valor real

ou potencial e sejam considerados a base para o desenvolvimento de variedades e cultivares, há a necessidade de valoração da diversidade genética presente, por meio da caracterização e utilização do germoplasma (BONOW, 2007). Porém, em geral o crescimento das coleções não tem sido acompanhado por igual caracterização e intensidade de uso, o que tem gerado descompasso entre a disponibilidade de germoplasma e o uso real desses materiais no melhoramento (CORDEIRO; ABADIE, 2007).

Nesse sentido, este trabalho teve como objetivo verificar a estabilidade cromossômica, através da análise citogenética, em acessos armazenados a longo e médio prazo na Embrapa.

Material e Métodos

Vinte acessos de *T. aestivum* foram selecionados por apresentarem uma porcentagem de germinação abaixo de 50%, verificada no primeiro monitoramento aos 6, 8 ou 18 anos, conforme o acesso, após incorporação na Coleção de Base de Sementes (Colbase) da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), Brasília, DF, entre 20 e 30 anos atrás (Tabela 1).

Para as análises, utilizaram-se amostras de sementes de 12 acessos mantidas a longo prazo na Colbase (-200C e 5% de umidade) e amostras de sementes de 15 acessos obtidas por meio de regeneração e mantidas a médio prazo (10°C e 7% de umidade) no Banco Ativo de Germoplasma de Trigo (BAG -Trigo da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS), totalizando 27 acessos analisados, com sete acessos em comum aos dois grupos de sementes. Dos 15 acessos mantidos no BAG Trigo, 13 encontravam-se armazenados por cerca de 20 anos e dois acessos entre 12 e 13 anos (COXILHA-726369/97, BEIJING 10-826832/98).

A análise mitótica, com detalhamento para as diferentes fases do processo de divisão, seguiu protocolo de Pozzobon e Valls (1997),

com pequenas modificações. As raízes coletadas a partir de sementes germinadas em papel germiteste foram pré-tratadas em solução saturada de paradiclorobenzeno (PDB) durante 2 horas, em temperatura ambiente. Em seguida, foram lavadas e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol:ácido acético, v:v) por tempo variável de ½ hora a 24 horas, em temperatura ambiente, hidrolizadas em HCl 1N, durante 11 minutos em banho-maria a 60°C. Em seguida, foram coradas com reativo de Schiff, por 30 minutos e, então, maceradas em uma gota de carmim acético 2% para a preparação das lâminas. Quando não eram analisadas logo após a fixação, estas eram repassadas para álcool 70% e mantidas sob refrigeração até a sua utilização. Um número mínimo de cinco a 10 células foi observado por indivíduo, mas, quando possível, um número maior de células apropriadas foi contado.

Para os estudos meióticos, as inflorescências foram coletadas de plantas mantidas em campo na Embrapa Trigo, obtidas a partir de amostras de sementes 12 acessos da Colbase e 11 do BAG-Trigo, com seis acessos em comum a ambas coleções (Tabela 2). As inflorescências foram fixadas em Carnoy (etanol:ácido acético, 3:1) por 24 horas e, posteriormente, transferidas e estocadas em álcool 70%, em refrigerador, até a análise. Na preparação das lâminas, as anteras foram maceradas e coradas em carmim propiônico 2% ou orceína acética 2%. Para acompanhar o processo meiótico, foram examinadas todas as células disponíveis, independentemente da fase de divisão em que se encontravam. O índice meiótico (IM), porcentagem de quartetos normais, foi calculado de acordo com Love (1949). Tétrades com quatro células de tamanho igual foram consideradas normais, e qualquer desvio foi considerado anormal. De acordo com o autor, para trigo um IM de 90% ou mais é considerado citologicamente estável.

Resultados e Discussão

Análise mitótica

A Tabela 1 mostra a porcentagem total de células com irregularidades, observadas durante a divisão mitótica para ambas as condições de

armazenamento, Colbase e BAG-Trigo. Independentemente das condições de armazenamento, dos 27 acessos analisados, nota-se que apenas 33,3% apresentaram frequência de células com irregularidades abaixo de 10%. Em cinco desses acessos (18,5%), não houve células mitóticas com irregularidades (Tabela 1, Figura 1A). Dois correspondem a material da Colbase (BRA 142433 = PF 83920 e BRA 142441 = PF 83419) e três do BAG-Trigo (BRA 036013 = PF 74101-367762/87, BRA 141968 = CEP 8430-RPB-86 e BRA 142760 = PF 84580-2238/BC86).

Para os acessos da Colbase com alterações cromossômicas, houve uma variação no percentual de células com irregularidades de 11 a 83%, sendo mais alta do que a variação observada no material armazenado no BAG-Trigo, que foi de 7 a 67%.

Tabela 1. e porcentagem de células com irregularidades observadas durante a divisão mitótica em acessos de trigo conservados na Colbase (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia) e no BAG-Trigo (Embrapa Trigo).

BRA	Condição Armaz.	Código Acesso no CNPT	Nº Total Células	Nº Células c/ Irreg.	Irreg.* (%)
009946	BAG-Trigo	PEL 72082-367615/87	189	14	7
016322	COLBASE	PEL-SL 1263-69	9	1	11
	BAG-Trigo	PEL-SL 1263-69-151120/85	68	9	13
021563	COLBASE	COXILHA	8	2	25
	BAG-Trigo	COXILHA-726369/97	31	8	26
036013	BAG-Trigo	PF 74101-367762/87	31	0	0
102326	COLBASE	C 6344	13	3	23
127256	COLBASE	BEIJING 10	6	5	83
	BAG-Trigo	BEIJING 10-826832/98	27	3	11
141968	BAG-Trigo	CEP 8430-RPB-86	4	0	0
141976	BAG-Trigo	HUNTER-2015/BC86	11	5	45
142077	COLBASE	NAPB 81014	4	2	50
	BAG-Trigo	NAPB 81014-2017/BC86	59	5	8

BRA	Condição Armaz.	Código Acesso no CNPT	Nº Total Células	Nº Células c/ Irreg.	Irreg.* (%)
142433	COLBASE BAG-Trigo	PF 83920 PF 83920-30561/88	4 37	0 3	0 8
142441	COLBASE	PF 83419	16	0	0
142794	COLBASE	PF 856	59	25	42
142760	BAG-Trigo	PF 84580-2238/BC86	6	0	0
142824	BAG-Trigo	PF 8537-2145/BC86	5	2	40
142891	COLBASE BAG-Trigo	PF 8561 PF 8561-2130/BC86	66 21	15 2	23 9,5
142964	COLBASE BAG-Trigo	TAW 12399-75 TAW 12399-75-2025/BC86	26 16	7 3	27 19
142999	COLBASE	PF 85489	45	5	11,1
143154	COLBASE	PF 85185	287	84	29
146188	BAG-Trigo	HD 2228-A-276923/86	73	49	67
148849	BAG-Trigo	OCEPAR 16, OC 868-NE 54557	7	3	42

*Irregularidades = metáfases com quebras cromossômicas e cromossomos fora da placa equatorial; anáfases com ponte e/ou fragmento e retardatários.

A comparação da estabilidade mitótica a longo e médio prazo, para o mesmo acesso, só foi possível para sete acessos: BRA 016322, 021563, 127256, 142077, 142433, 142891 e 142964. Para os acessos BRA 127256 (BEIJING 10), 142077 (NAPB 81014), 142891 (PF 8561) e 142964 (TAW 12399-75), o número de células anormais foi maior para a condição de armazenamento a longo prazo. Observaram-se porcentagens de 83% (BEIJING 10), 50% (NAPB 81014), 23% (PF 8561) e 27% (TAW 12399-75), para acessos armazenados a longo prazo, e 11% (BEIJING 10-826832/98), 8% (NAPB 81014-2017/BC86), 9,5% (PF 8561-2130/BC86) e 19% (TAW 12399-75-2025/BC86) para os mesmos acessos armazenados a médio prazo, respectivamente.

As irregularidades observadas foram: metáfases com quebras de cromossomos, anáfases com pontes (Figura 1B) e/ou fragmentos acêntricos, aderências e cromátides retardatárias (Figura 1C).

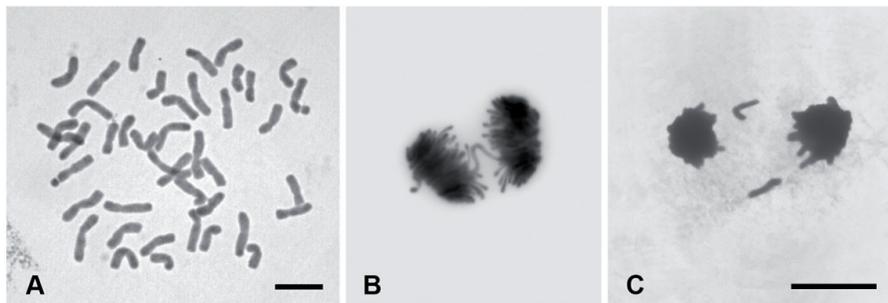


Figura 1. Células mitóticas de trigo. (A) Metáfase normal, $2n = 42$ cromossomos; (B) anáfase com presença de ponte; (C) final de anáfase com cromátides retardatárias. Escala: $10 \mu\text{m}$.

O surgimento das irregularidades pode ser em decorrência das condições e/ou do tempo de armazenamento das sementes, como também da genealogia dos materiais, cujos parentais podem ser instáveis geneticamente, sendo tais características herdadas e manifestadas nestes acessos. A primeira possibilidade parece aplicar-se aos quatro acessos acima descritos, nos quais houve uma redução na percentagem de irregularidades após regeneração do material e armazenamento por menor tempo.

Relatos de armazenamento a longo prazo de sementes, por mais de 15 anos, confirmam a hipótese de uma considerável longevidade nas sementes armazenadas nos bancos a -20°C e baixos valores de umidade (STOYANOVA et al., 2007). Por outro lado, a conservação de sementes em bancos de germoplasma requer uma multiplicação periódica, extremamente importante para a manutenção do vigor e da viabilidade das sementes. O envelhecimento das sementes pode,

portanto, estar relacionado a quebras do DNA e a alterações em seu metabolismo. Isso levaria a uma crescente redução da capacidade operacional dos mecanismos de sua restauração (WARNER; PRICE, 1989), o que explicaria a queda acentuada verificada na porcentagem de germinação das sementes nos referidos acessos e o aparecimento de células anormais à medida que as sementes envelhecem.

Por outro lado, a instabilidade mitótica encontrada para diferentes acessos já havia sido relatada anteriormente para algumas cultivares brasileiras de trigo (GUERRA; MORAES-FERNANDES, 1977; BRASILEIRO-VIDAL et al., 2005), as quais apresentaram diversas anomalias mitóticas, como cromátides retardatárias em anáfase e a formação de micronúcleos em telófase. Uma possível explicação para essa instabilidade estaria relacionada a fatores genéticos. A origem das instabilidades mitóticas não está clara, mas pode, provavelmente, ser resultado de quebras e fusões durante os estágios G1 (ponte dupla) ou G2 (ponte simples) (SYBENGA, 1992).

Análise meiótica

Na Tabela 2, verifica-se a variação na porcentagem de irregularidades observadas na meiose I e II, para 12 acessos da Colbase e 11 acessos do BAG-Trigo, cujas amostras de sementes foram germinadas e as plântulas levadas ao campo na Embrapa Trigo até o florescimento e a produção de sementes. Apesar do grau variado de anormalidades, estas não foram predominantes, com exceção do acesso BRA 016322 (PEL-SL 1263-69), proveniente da Colbase, que teve 48 e 60% das células apresentando irregularidades em meiose I e II, respectivamente. Para as amostras analisadas do BAG-Trigo, as anormalidades foram mais frequentes na meiose I (5 a 52%) em relação à meiose II (0 a 25%). As demais amostras da Colbase apresentaram 0 a 28% (meiose I) e 0 a 7% de anomalias (meiose II).

Tabela 2. Porcentagem de irregularidades observadas em meiose I e II, índice meiótico em acessos de trigo armazenados na Colbase (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia) e no BAG-Trigo (Embrapa Trigo).

BRA	Condição Armaz.	Código Acesso no CNPT	Irreg. Meiose I (%)	N° Células Meiose I	Irreg. Meiose II (%)	N° Células Meiose II	IM (%)
016322	COLBASE	PEL-SL 1263-69	48	401	60	1112	32
021563	COLBASE BAG-Trigo	COXILHA COXILHA-726369/97	8 31	132 338	0 7	38 230	100 93
022632	COLBASE	PEL 72707	0	0	3	539	97
029521	COLBASE BAG-Trigo	C 33 C 33-181251/89	11 5	196 536	6 5	115 1064	97 97
043416	COLBASE BAG-Trigo	B 20 B 20-181239/89	6 15	33 144	7 4	27 130	100 90
127256	COLBASE	BEIJING 10-276090/86	45	67	1	54	100
127256	BAG-Trigo	BEIJING 10-826832/98	7	150	19	79	100
142077	COLBASE	NAPB 81014	8	183	5	877	94
142115	COLBASE BAG-Trigo	NS 15-89A NS 15-89A-2019/BC86	2 52	372 91	6 7	136 489	93 96
142441	COLBASE	PF 83419	24	339	3	907	99
142433	COLBASE BAG-Trigo	PF 83920 PF 83920-30561/88	8 23	111 222	7 5	94 431	97 99
142760	COLBASE	PF 84580	28	28	6	245	94
142794	BAG-Trigo	PF 856-2127/BC86	5	323	2	225	98
142891	BAG-Trigo	PF 8561-2130/BC86	24	269	6	192	96

BRA	Condição Armaz.	Código Acesso no CNPT	Irreg. Meiose I (%)	Nº Células Meiose I	Irreg. Meiose II (%)	Nº Células Meiose II	IM (%)
142999	BAG-Trigo	PF 85489-2116/BC86	6	488	0	21	100
143154	COLBASE	PF 85185	17	29	4	67	96
	BAG-Trigo	PF 85185-2177/BC86	23	467	25	1253	76
145602	COLBASE	FLICKER SIB	25	143	5	437	97

Aderências cromossômicas em diacinese e metáfase I, presença de bivalentes não orientados na placa equatorial em metáfase I, cromossomos retardatários, pontes e/ou fragmentos em anáfase e telófase I e micronúcleos em telófase II foram as irregularidades mais comumente observadas e, provavelmente, as que deram origem a produtos pós-meióticos anômalos. As aderências, por exemplo, são comuns em plantas e podem ser causadas por fatores genéticos ou ambientais e, dependendo da intensidade, a fertilidade do pólen pode ser parcial ou totalmente alterada (PAGLIARINI, 2000).

Em trigo, além de aderências, diversas anormalidades meióticas têm sido encontradas em diferentes acessos. No Brasil, a instabilidade meiótica responsável pela falta de uniformidade varietal em trigo tem sido amplamente estudada. Oscilações climáticas drásticas, baixa insolação, excesso de água, moléstias fúngicas, uso de defensivos agrícolas e acidez do solo são fatores importantes para o aumento de anormalidades cromossômicas, responsáveis pela ocorrência de tipos desviantes (PAGLIARINI, 2001). As mais frequentes são cromossomos univalentes, bivalentes não orientados na placa, pontes cromossômicas acompanhadas por fragmentos, aderências cromossômicas, segregações irregulares gerando aneuploidia e micronúcleos em tétrades oriundos da ocorrência de cromossomos retardatários na anáfase (MORAES-FERNANDES, 1982; PAGLIARINI, 2001).

A formação de tétrades normais (Figura 2A) predominou em relação àquelas portando irregularidades, como a presença de micronúcleos nos micrósporos (Figura 2B). Dentre os acessos analisados, para dois deles (BRA-016322 = PEL-SL 1263-69 e BRA-143154 = PF 85185-2177/BC86) o IM ficou abaixo de 90% (32% e 76%, respectivamente), refletindo a instabilidade observada durante a divisão meiótica. Os demais (91,3%) foram considerados citologicamente estáveis, de acordo com LOVE (1949).

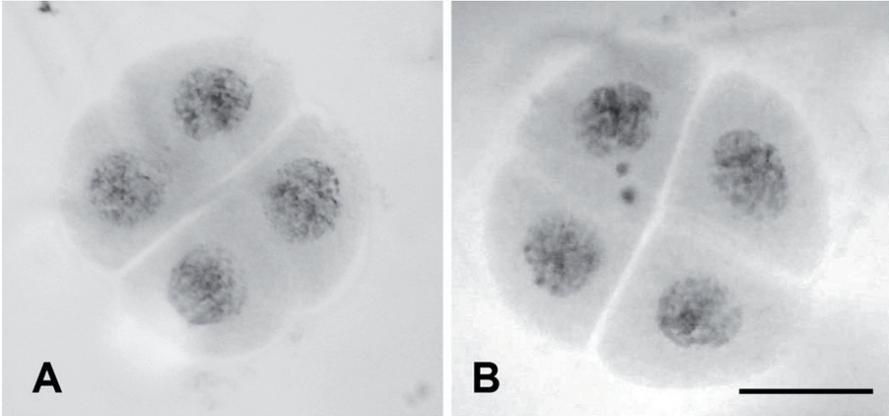


Figura 2. Células mitóticas de trigo. (A) Metáfase normal, $2n = 42$ cromossomos; (B) anáfase com presença de ponte; (C) final de anáfase com cromátides retardatárias. Escala: $10 \mu\text{m}$.

Alguns acessos BRA- 142077 (NAPB 81014), com IM 94%, 142891 (PF 8561-2130/BC86), com IM 96% e 127256 (BEIJING 10-826832/98), com IM 100%, tiveram 50, 9,5 e 11% de células mitóticas irregulares, respectivamente. Embora seja, para a mitose, considerada uma alta taxa, esse material mostrou um alto índice meiótico, indicando que essas alterações não interferiram diretamente na viabilidade do pólen.

A presença de anomalias pode ser influenciada tanto por fatores genéticos quanto por fatores ambientais (LINDE-LAURSEN; VON BOTHMER, 1999). As pontes cromossômicas, por exemplo, são indicativas da ocorrência de translocações ou de inversões paracêntricas e podem conduzir à esterilidade do pólen (ZADOO, 1984; CAO et al., 2003).

No caso de sementes armazenadas, a longevidade resulta da interação entre fatores genéticos e ambientais, tais como temperatura de estocagem, quantidade de umidade nas sementes e qualidade da semente (RAJJOU; DEBEAUJON, 2008), os quais, conseqüentemente,

podem implicar, também, estabilidade genética do material. Para o entendimento de todo esse processo, sugerem-se novos experimentos com envelhecimento controlado. Estudos sobre estabilidade genética, principalmente cromossômica, em coleções nas quais os acessos de germoplasma são mantidos em temperaturas abaixo de zero, são raros, talvez porque exista a dificuldade de se obter informações sobre as condições desses acessos, desde a coleta até a estocagem, de forma que faltam parâmetros para comparação dos resultados. Embora o presente trabalho não permita uma definição sobre as possíveis causas, sugere-se que estas sejam, provavelmente, pré-existentes para a maioria dos acessos analisados, não relacionadas às condições e ao tempo de estocagem.

Conclusões

A maioria dos acessos analisados foi considerada citologicamente instável em mitose (66,7% dos acessos com irregularidades acima de 10%). Por outro lado, na meiose, os elevados valores de índice meiótico determinados (91,3% dos acessos com índice meiótico superior a 90%) resultam na formação de gametas balanceados, favorecendo a formação de plântulas normais.

Embora não tenham sido detectadas as prováveis causas dessas anormalidades, sugere-se que sua ocorrência esteja vinculada à origem do acesso e não ao tempo ou às condições de armazenamento.

Agradecimentos

CNPq - Edital MCT/CNPq 02/2006-Universal

Referências

ABDUL-BAKI, A. A.; ANDERSON, J. D. Physiological and biochemical deterioration of seeds. In: KOSLOWSKI, T. T. **Seed Biology**. New York: Academic, 1972. v. 1, 416 p.

BARBIERI, ROSA L.; STUMPF, ELISABETH R.T. **Origem e Evolução de Plantas Cultivadas**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2008.

BONOW, S. **Coleções nucleares em bancos de germoplasma: conceito e utilização atual em trigo**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 7 p. (Embrapa Trigo. Documentos Online, 80). Disponível em: < http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do80.htm > .

BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; BRAMMER, S.; PUERTAS, M. J.; ZANATTA, A. C.; PRESTES, A.; MORAES-FERNANDES, M. I. B.; GUERRA M. Mitotic instability in wheat \times *Thinopyrum ponticum* derivatives revealed by chromosome counting, nuclear DNA content and histone H3 phosphorylation pattern. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 24, p. 172–178, 2005.

CAO, M.; BUGHRARA, S. S.; SLEPER, D. A. Cytogenetic analysis of Festuca species and amphiploids between Festuca mairei and Lolium perenne. **Crop Science**, Madison, v. 43, p. 1659-62, 2003.

COELLO, P.; VÁZQUEZ-RAMOS, M. Maize DNA polymerase 2 (an a-type enzyme) suffers mayor damage after seed deterioration. **Seed Science Research**, Wallingford, v. 6, n. 1, p. 1-7, 1996.

CORDEIRO, M. T. C.; ABADIE, T. Coleções nucleares In: NASS, L. L. (Ed.). **Recursos genéticos vegetais**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2007. 858 p.

GHOSH, B.; ADHIKARY, J.; BANERJEE, N. C. Changes of some metabolites in rice seeds during ageing. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 9, n. 1, p. 468-473, 1981.

GUERRA M. S.; MORAES-FERNANDES M. I. B. Somatic instability in the Brazilian semi-dwarf wheat IAS 54. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 19, p. 225–230, 1977.

LINDE-LAURSEN, I.; VON BOTHMER, R. Orderly arrangement of the chromosomes within barley genomes of chromosome-eliminating *Hordeum lechleri* x barley hybrids. **Genome**, Ottawa, v. 42, n. 2, p. 225-236, 1999.

LOVE, R. M. **Estudos citológicos preliminares de trigos rio grandenses**. Porto Alegre: Secretaria do Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio. 1949. 23 p. (Circular, 74).

MORAES-FERNANDES, M. I. B. de. Citogenética. In: OSÓRIO, E. A. (Ed.). **Trigo no Brasil**. Campinas: Fundação Cargill, 1982. p. 95-144

MURATA, M.; ROSS, E. E.; TSUCHIYA, T. Chromosome damage induced by artificial seed aging in barley. I. Germinability and frequency of aberrant anaphases at first mitosis. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v. 23, n. 2, p. 267-280, 1981.

PAGLIARINI, M. S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics**

and Molecular Biology, Ribeirão Preto, v. 23, n. 4, p. 997-1002, 2000.

PAGLIARINI, M. S. Citogenética aplicada ao melhoramento. In: NASS, L. L. et al. (Ed.). **Recursos Genéticos e Melhoramento – Plantas**. 1. ed. Rondonópolis, MT: Fundação MT, 2001. p. 871-910.

PORTUGAL, A. D. O potencial da triticultura nacional. **Diário da Manhã**, Passo Fundo, Anuário do trigo, p. 2., out., 2001.

POZZOBON, M. T.; VALLS, J. F. M. Chromosome number in germplasm accessions of *Paspalum notatum* (Gramineae). **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v. 20, p. 29-34, 1997.

RAJJOU, L.; DEBEAUJON, I. Seed longevity: Survival and maintenance of high germination ability of dry seeds. **Comptes Rendus Biologies**, v. 331, p. 796–805, 2008. (doi:10.1016/j.crv.2008.07.021)

ROBERTS, E. H. Loss of seed viability: chromosomal and genetic aspects. **Seed Science and Technology**, Zurich, v.1, n.3, p. 515-27, 1973a.

ROBERTS, E. H. Loss of viability: ultrastructural and physiological aspects. **Seed Science and Technology**, Zurich, v. 1, n. 3, p. 529-545, 1973b.

ROBERTS, E. H. Seed ageing: The genome and its expression. In: NOODEN, L. D.; LEOPOLD, A. C. (Ed.). **Senescence and Ageing in Plants**. New York: Academic Press, 1988. p. 465-598.

ROOS, E. E. Genetic changes in a collection over time. **HortScience**, Alexandria, v. 23, n. 1, p. 86-90, 1988.

STOYANOVA, S. D.; ODZHALOVA, G. N.; MENKOV, N. D. Drying of wheat seeds to low seed moisture for genebank storage. **Ejeatche**, Ourense, v. 6, n. 10, p. 2490-2499, 2007.

SYBENGA, J. **Cytogenetic in plant breeding**. Berlin: Springer-Verlag, 1992.

USDA. **U.S. Corn Exports Lose Ground To Argentina**. 2010. (Grain: World Markets and Trade.). Disponível em: < <http://www.fas.usda.gov/grain/circular/2010/03-10/grainfull03-10.pdf> >. Acesso em 08 abr. 2010.

WARNER, H. R.; PRICE, A. R. Involvement of DNA repair in cancer and aging. **Journal of Gerontology: Biological Sciences**, v. 44, n. 6, p. 45-54, 1989.

ZADOO, S. N. Cytogenetic observations on a monosomic in *Sesbania macrocarpa* Muhl. (Leguminosae). **Experientia**, Basel, v. 40, p. 1414, 1984.



*Recursos Genéticos
e Biotecnologia*

**Ministério da
Agricultura, Pecuária
e Abastecimento**

