

ESTUDO DA INSTABILIDADE MEIÓTICA EM CULTIVARES DE TRIGO EFEITO GENOTÍPICO, RELAÇÃO COM FERTILIDADE E SELEÇÃO DE PLANTAS ESTÁVEIS¹

MARIA IRENE B. DE MORAES FERNANDES²

RESUMO - Foi efetuado um estudo da instabilidade meiótica em cultivares de trigo em uso no Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. Testes de progênies nas cultivares Cheyenne e Hadden mostraram que, em relação à ocorrência de cromossomos não-pareados (univalentes), o coeficiente de correlação foi altamente significativo ($r = 0,87^{**}$; $P < 0,001$) quando foram comparados os valores obtidos para as plantas-mães em relação à média das suas progênies. Para a ocorrência de quebras cromossômicas, o valor foi não-significativo ($r = 0,32$), indicando maior influência genotípica no pareamento. Nas cultivares IAS 55, Londrina e Sonora 64, as diferenças na percentagem de flores férteis entre progênies de plantas estáveis e instáveis da mesma cultivar foram altamente significativas, indicando a influência das aberrações cromossômicas na fertilidade da geração seguinte. O estudo das condições meteorológicas ocorrentes nos dez dias anteriores à coleta e das anormalidades citológicas mostrou valores do coeficiente de correlação baixos, embora significativos, para precipitação, temperaturas extremas, umidade e insolação, indicando sua influência no comportamento meiótico em pequena escala. De 97 cultivares avaliadas quanto ao índice meiótico, 54% apresentaram de 5% a 80% de plantas com índices meióticos abaixo do valor indicado como limite de normalidade. O significado das aberrações cromossômicas no campo do melhoramento varietal também é discutido.

Termos para indexação: citogenética, quebras cromossômicas, melhoramento do trigo.

MEIOTIC INSTABILITY IN WHEAT CULTIVARS GENOTYPIC EFFECT, INFLUENCE ON FERTILITY AND SELECTION OF STABLE PLANTS

ABSTRACT - A study concerning meiotic instability of wheat cultivars at "National Wheat Research Center" of EMBRAPA was carried out. A high significant correlation value ($r = 0.87^{**}$; $P < 0.001$) was found for pairing problems (univalents) in Cheyenne and Hadden wheats, when comparison on mother plants and the mean values of their progenies was made. For chromosomal breaks the value was non significant ($r = 0.32$), indicating higher genotypic influence on pairing. The differences in percentage of fertile flowers between selected progenies of meiotic stable and instable plants gave high significant X_2 values for three cultivars, IAS 55, Londrina and Sonora 64, indicating the influence of chromosomal abnormalities on fertility of the next generation. The comparison between meteorological factors ten days before collection and cytological abnormalities showed lower but significant values for precipitation, temperature extremes, humidity and insolation indicating their influence on the meiotic behavior in a low scale. The Meiotic Index (percentage of normal pollen quartets) of 97 cultivars was also determined. 54% of the cultivars presented from 5% to 80% of plants with Meiotic Index below normality (less than 90). The significance of chromosomal abnormalities for plant breeding is also discussed.

Index terms: wheat breeding, cytogenetics, chromosomal breaks, chromosomal abnormalities, insolation.

INTRODUÇÃO

Quando se examina o comportamento meiótico de algumas cultivares de trigo em uso no Rio Grande do Sul, verifica-se que a frequência de diversos tipos de aberrações cromossômicas é mais elevada do que os padrões descritos na literatura para esta cultura (Love 1951, McKey 1954, Riley & Kimber

1961, Bodanese-Zanettini & Moraes-Fernandes 1980, Del Duca & Moraes-Fernandes 1980, Sereno et al. 1981). Além disso, foi descrito o primeiro caso de instabilidade mitótica em uma cultivar comercial de trigo: IAS 54 (Guerra Filho & Moraes-Fernandes 1977).

São observados, em algumas cultivares, em frequência elevada, problemas de pareamento cromossômico (cromossomos univalentes), os quais dão origem a cromossomos retardatários e a micronúcleos em quartetos de pólen; aparecem também quebras cromossômicas além de pontes de anáfase e telófase e aderências. Todas estas anormalidades

¹ Aceito para publicação em 10 de maio de 1982

² Bel. H. Nat. Dr. em Genética, Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (CNPT) - EMBRAPA, Caixa Postal 569, CEP 99100 - Passo Fundo, RS.

são responsáveis pela perda de segmentos cromossômicos ou de cromossomos inteiros; também afetam o comportamento mecânico dos cromossomos durante a divisão celular, trazendo como consequência células-filhas portadoras de deficiências genéticas mais ou menos drásticas.

Sendo o trigo uma espécie poliplóide ($2n = 6 \times 42$), que contém, num só genótipo a síntese de três espécies distintas (AABBDD), parte de seus genes estão repetidos nos três genomas, A, B e D. Por esta razão, algumas aberrações cromossômicas não causam a morte imediata de seu portador, como acontece, geralmente, com espécies diplóides, as quais contêm apenas um genoma.

Quando a ocorrência das aberrações é geneticamente determinada, a instabilidade da cultivar torna-se recorrente.

Jensen (1965) sugere que falhas no sistema reprodutivo da planta, misturas mecânicas, mutações e cruzamentos naturais seriam responsáveis pela ocorrência de tipos aberrantes (off-types), dificultando a manutenção da pureza varietal. O autor salienta que, enquanto os três últimos fatores mencionados manteriam a frequência dos tipos aberrantes em proporções constantes, as falhas no sistema reprodutivo (instabilidade meiótica) tenderiam a aumentar constantemente essa frequência, o que poderia ser responsável pela decadência da cultivar na lavoura. Não existem estudos a este respeito, mas há vários casos descritos de cultivares que apresentam instabilidade genética recorrente (Love 1943, Urich & Heyne 1968, Liang et al. 1972). Watanabe (1961), estudando trigos japoneses, atribui à instabilidade citológica a ocorrência de macho-esterilidade na variedade NORIN 10; esta macho-esterilidade ocorre em regiões terminais de algumas espigas, permitindo a fecundação cruzada; as plantas altas, eventualmente encontradas nessa cultivar, seriam, na verdade, F_1 de cruzamentos naturais. Sabe-se que diversas cultivares originadas de NORIN 10 apresentaram regularmente plantas mais altas, como é o caso da cultivar brasileira IAS 54, indicando ser o caráter transmissível, apesar da seleção para uniformidade, realizada pelos melhoristas.

O uso, em cruzamentos, de material geneticamente instável, traz problemas tanto para a sele-

ção, diminuindo a eficiência, como para a uniformidade e a pureza da futura cultivar (Love 1949).

Visando apoiar o programa de melhoramento varietal do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo (CNPT) da EMBRAPA, foi efetuado um estudo mais detalhado da instabilidade meiótica, com os seguintes objetivos:

1. Verificar a possível determinação genotípica das aberrações mais importantes, o que permitiria a seleção de material com maior estabilidade meiótica;

2. verificar se a instabilidade cromossômica em células-mães de pólen pode ser relacionada com problemas de fertilidade;

3. verificar se fatores ambientais favorecem a instabilidade.

Testes de progênie, realizados por Myers & Powers (1938) em cinco variedades de trigo, mostraram alto e significativo coeficiente de correlação ($r = 0,77$) quando foram comparadas as porcentagens de micronúcleos em quartetos de pólen de plantas-mães com as médias de suas descendências, indicando a influência do genótipo nesta característica. Semeniuk (1947) encontrou resultados semelhantes em híbridos interespecíficos envolvendo *T. aestivum* x *T. timopheevi*.

Quanto à influência das aberrações na fertilidade, as informações da literatura são contraditórias: há indicação de associação, em alguns casos, enquanto que em outros, a associação não foi observada. Assim, quando foram examinadas as espigas das plantas analisadas, em geral esta relação não foi observada, tanto em trigo (Del Duca 1976) como em tritcale (Merker 1971); mas quando foram examinadas as suas progênies, correlações negativas estatisticamente significantes foram obtidas em linhagens de trigo (Powers 1932) e de tritcale (Falcão et al. 1981).

Diversos autores também se referem à influência de fatores climáticos na incidência de anomalias meióticas. No trigo, a temperatura (Pao & Li 1948, Li et al. 1945, Bayliss & Riley 1972, Arp citado por Goss 1968, Utkhede & Jain 1974), as datas das amostragens (Maan & McCracken 1968, Myers & Powers 1938), a luz (Fesenko, citado por Goss 1968) e a umidade (Del Duca & Moraes-Fernandes 1980) são fatores mencionados como in-

fluenciando a formação de quiasmas e irregularidades em diversas fases da meiose. Bodanese-Zanettini & Moraes Fernandes 1980) verificaram que a temperatura também afetou o padrão de contração cromossômica das cultivares Lagoa Vermelha e Frocor.

Em triticale, também há relatos do efeito de temperaturas elevadas no aumento da frequência de univalentes (Larter et al. 1968, Thomas & Kaltsikes 1972) e de estresse de umidade em plântulas (Larteur & Yeung citado por Sisodia et al. 1970) aumentando as anormalidades meióticas. Torna-se, pois, importante estudar o papel dos fatores ambientais na indução ou no aumento da frequência de aberrações meióticas em trigo, na nossa região.

Love (1951) indicou que, de acordo com sua experiência como melhorista, a seleção de plantas com Índices Meióticos (percentagem de quartetos de pólen normais) superiores a 90, para uso em cruzamento, facilitaria o trabalho de seleção.

MATERIAL E MÉTODOS

A análise da meiose foi efetuada em células-mães de pólen retiradas de anteras cujas espigas se encontravam em estágio de desenvolvimento adequado, no início do emborrachamento (entre estágio 9 e 10 na escala de Peekes modificada por Large 1954). As espigas foram fixadas na solução de Newcomer (1953), sendo as anteras abertas com bisturi, e as células-mães de pólen, coloridas com carim propiônico.

Estudo do efeito genotípico e seleção para estabilidade

Os testes de progênies visaram verificar a existência de correlação entre plantas-mães e seus descendentes, no que se refere a problemas de pareamento e quebras cromossômicas, os quais seriam os principais responsáveis pela ocorrência de micronúcleos e conseqüentes perdas de material genético. Para isso, foram analisadas plantas-mães coletadas no campo, em 1.975 das cultivares Cheyenne e Hadden. No ano seguinte, progênies de plantas individuais foram semeadas, na casa de vegetação, em caixas de madeira contendo solo uniforme e estéril, visando minimizar as diferenças ambientais entre plantas da mesma progênie. Em oito progênies foi possível a análise do comportamento meiótico. Os valores médios dos caracteres observados em cada progênie estudada, foram correlacionados com os valores das plantas-mães.

Para a seleção de plantas estáveis, o procedimento foi o seguinte: foram colhidas espigas de cerca de 15 plantas por cultivar em uso no Bloco de Cruzamento, e determinados os Índices Meióticos (I.M.); das cultivares que apre-

sentaram duas ou mais plantas instáveis (I.M. inferior a 90), foram selecionadas até cinco plantas com Índices Meióticos superiores a 90. Os grãos destas plantas foram semeadas em linha, no telado, e nova análise citológica foi efetuada. Se a instabilidade ocorreu novamente, foram selecionadas as progênies estáveis. Estas progênies foram testadas para algumas raças de ferrugem da folha e colmo para verificar se não houve modificações na reação varietal. Estas seleções foram posteriormente utilizadas no Bloco de Cruzamento.

Relação entre aberrações e fertilidade

Para o estudo da relação entre as aberrações meióticas e a fertilidade de seus portadores, foi analisada, em 1976, a meiose de plantas das cultivares IAS 55, Londrina e Sonora 64.

Foram selecionadas plantas estáveis e instáveis dentro de cada cultivar; como critérios, foram usados: pareamento, ocorrência de quebras, segregação regular, cromossomos retardatários e micronúcleos em quartetos (Moraes-Fernandes 1977). As plantas analisadas foram marcadas quando da coleta, para estudos citológicos, e colhidas individualmente para determinação do peso de mil grãos.

As progênies estáveis e instáveis foram semeadas no campo em 1977, lado a lado, e a fertilidade foi determinada de acordo com o método proposto por Sears (1941), calculando-se a percentagem de flores férteis. A vantagem deste método, de acordo com Sears (1941), é a obtenção de um número relativo, independentemente de características varietais, como: número de espigas por planta, ou número de espiguetas por espigas. Visando evitar eventual polinização cruzada, em flores que apresentassem macho-esterilidade, foram ensacadas algumas espigas antes da deiscência das anteras.

Influência do ambiente nas aberrações cromossômicas

A análise citológica para correlação com fatores ambientais incluiu o estudo das diversas fases da meiose quanto ao pareamento (Fig. 1), formação de quiasmas (Fig. 2), orientação dos cromossomos na placa metafásica, distúrbios de condensação (Fig. 3), regularidade de segregação na anáfase e telófase I, ocorrência de pontes (Fig. 4) e retardatários (Fig. 5), e ocorrência de micronúcleos em quartetos (Fig. 6). Estes parâmetros foram utilizados para o cálculo do coeficiente de correlação (r) entre os fatores climáticos, como temperatura máxima e mínima, umidade relativa do ar, precipitação e insolação ocorrentes nos dez dias anteriores à coleta, e a frequência de células-mães de pólen portadoras das diversas anomalias, nos anos de 1975, 1976 e 1977 em amostras coletadas no campo e em casa de vegetação. Este período de dez dias é superior ao estabelecido como necessário para o desenvolvimento completo do ciclo meiótico, por Bennett & Smith (1972), que foi de 24 horas a 20°C, e 48 horas a 15°C, não existindo diferenças varietais. Assim, para o cálculo dos coeficientes de correlação entre as temperaturas máxima e mínima e os dados citológicos, foram utilizados os valores extremos ocorridos no período de dez anteriores à coleta. No que refere à umidade, foram usados os valo-



FIG. 1. Célula-mãe de pólen em Metáfase I, apresentando problemas de pareamento: um cromossomo univalente, o qual não se orienta na placa metafásica e que deverá ser excluído das células-filhas.



FIG. 2. Célula-mãe de pólen em Metáfase I, com pareamento normal, formando 21 bivalentes. A flecha indica a posição dos quiasmas, os quais garantem a segregação numérica regular dos cromossomos homólogos.

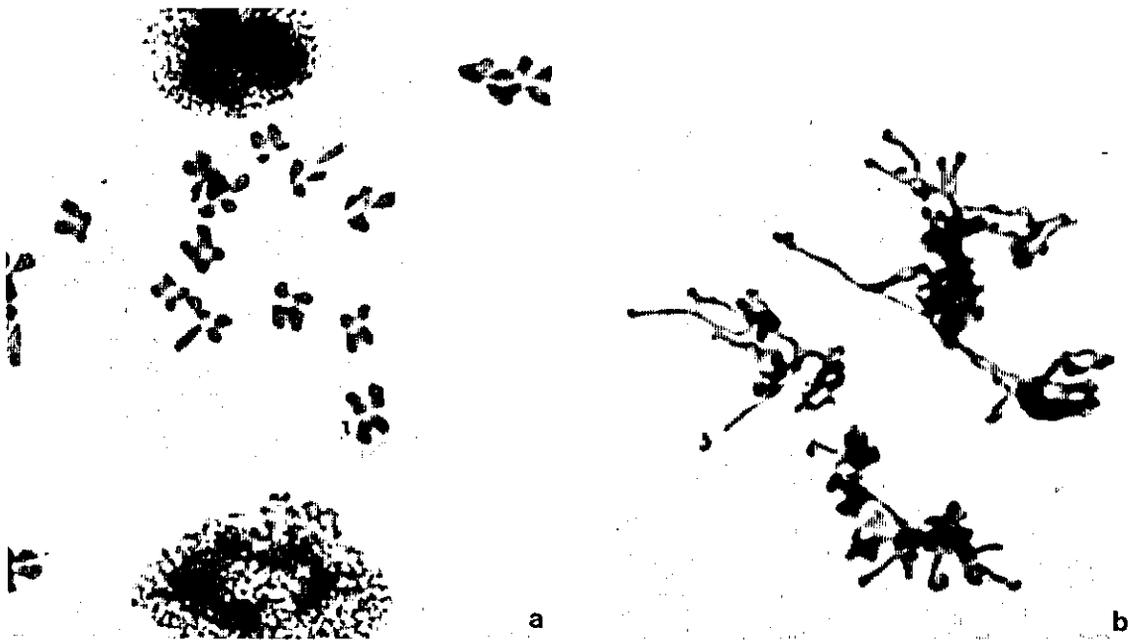


FIG. 3 (a) e (b). Células-mães de pólen em Metáfase II, com contração cromossômica normal (a) e com severos distúrbios de condensação e aderências (b).

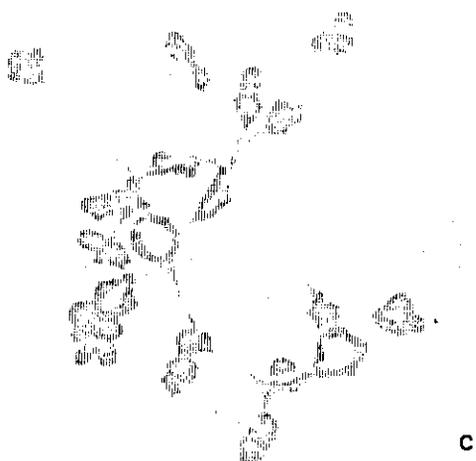


FIG. 3 (c). Metáfase I, com aderências.

res médios; e em relação à insolação e precipitação, os totais do período. Foram analisadas, nos anos de 1975 e 1976, as diversas fases da meiose de variedades nacionais e estrangeiras, também com o objetivo de estudar o papel do ambiente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo do efeito genotípico e seleção para estabilidade

Para o estudo do efeito genotípico, a análise do pareamento e da ocorrência de quebras cromossômicas foi efetuada em Metáfase I em oito progênies. O número de plantas estudadas por progênie variou entre 2 e 14, num total de 59 plantas, e foram analisadas 1.570 células-mães de pólen.

Testes de X^2 entre plantas de uma mesma progênie não mostraram, de modo geral, diferenças significativas em relação ao pareamento e quebras cromossômicas. Foram calculados os valores médios para cada progênie; e estes valores, comparados com os das plantas-mães, foram utilizados para o cálculo do coeficiente de correlação (r). Os resultados obtidos estão representados nas Fig. 7 e 8.

Em relação à ocorrência de cromossomos não pareados (univalentes), o valor de r foi de $0,87^{**}$ ($P < 0,001$) para a comparação entre os valores obtidos para as plantas-mães e as médias de suas progênies (Fig. 7). Entretanto, para a ocorrência de quebras cromossômicas, o valor de r foi de $0,32$ (não-significativo) (Fig. 8). Sendo o trigo uma espécie de autofecundação e não se tendo verificado

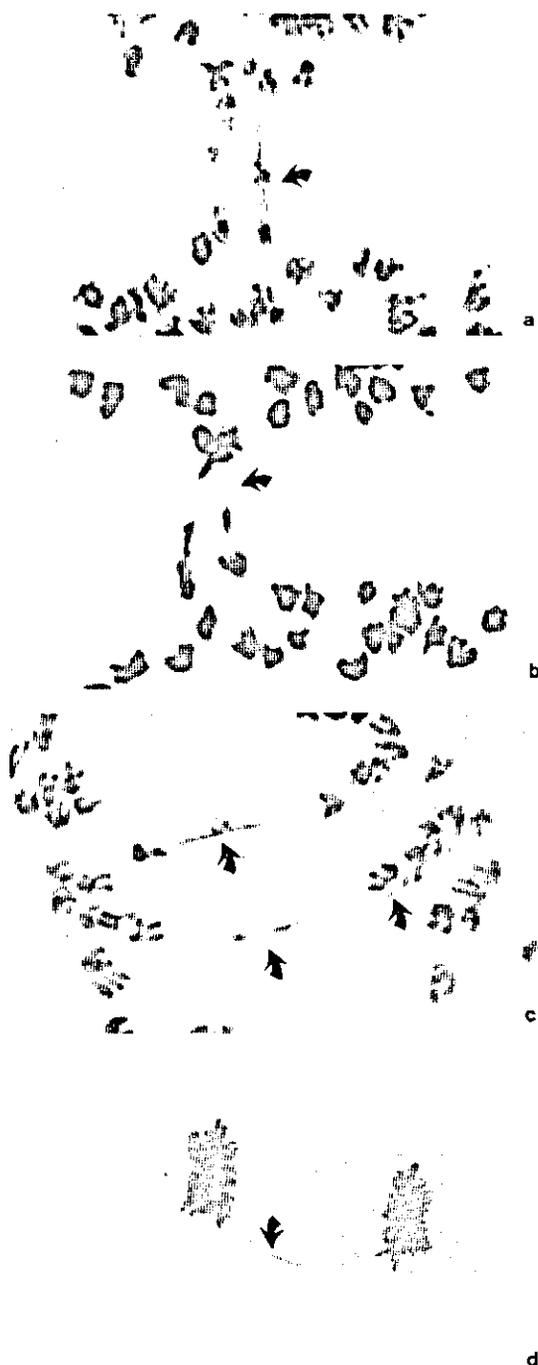


FIG. 4. Pontes cromossômicas em Anáfase I (a), (b), (c), e em Telófase I (d), causada pela manutenção de ligação anormal entre as terminações dos homólogos, o que leva ao rompimento da estrutura e perda de segmentos cromossômicos.



FIG. 5. Cromossomo retardatário em Anáfase I.



FIG. 6. Micronúcleo em quarteto de pólen, constituído de material comossômico que teve comportamento anormal em fases anteriores da meiose e que será excluído do gameta masculino. É a percentagem de quartetos de pólen normais que permite a determinação do índice meiótico.

macho-esterilidade (que poderia permitir a fecundação cruzada), pode-se supor homozigose completa para cada planta-mãe em relação à sua descendência. Assim, caso as características meióticas estudadas não fossem influenciadas pelo ambiente, esperar-se-ia, teoricamente, um coeficiente de correlação (r) de 1, embora a planta-mãe tenha-se desenvolvido em ambiente diferente daquela da sua progênie.

Por outro lado, caracteres muito influenciados pelo ambiente mostrariam menor correlação planta-mãe média da progênie do que caracteres pouco influenciados pelo ambiente, isto é, com maior influência genotípica. Os resultados obtidos indicam maior influência genotípica no pareamento, sugerindo que se pode esperar maior resposta à seleção para este caráter.

Em termos práticos, entretanto, a análise detalhada do comportamento meiótico de todo o germoplasma em uso num programa de melhoramento seria bastante demorada. O "Índice Meiótico" de Love (1951), isto é, a percentagem de quartetos de pólen normais, reflete quase que diretamente a regularidade do pareamento, embora seja uma subestimativa das anormalidades meióticas (McKey 1954). Pela sua rapidez, entretanto, fornece ao melhorista um indicador valioso da estabi-

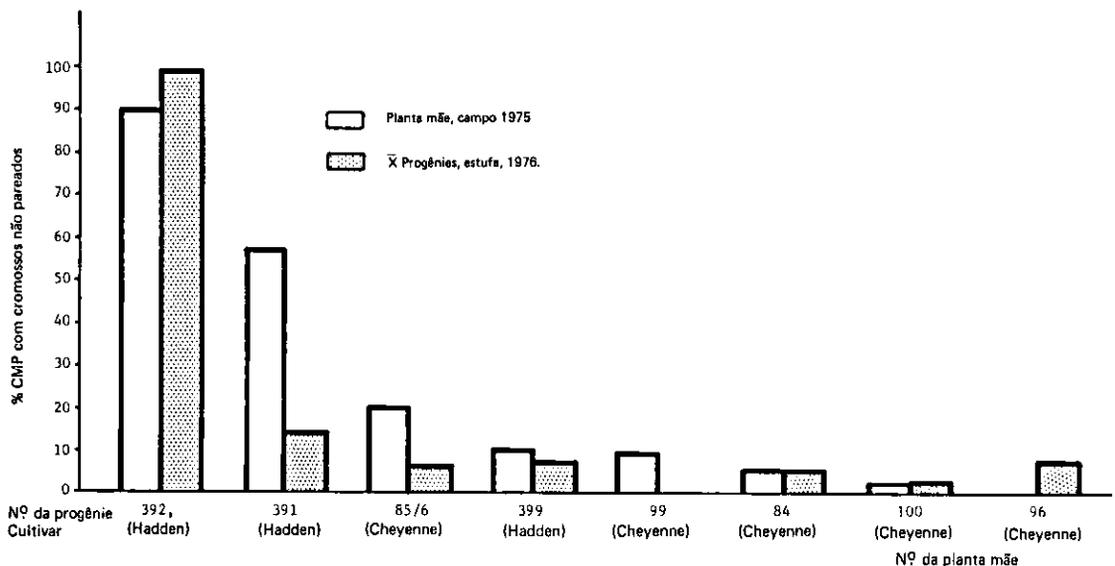


FIG. 7. Ocorrência de cromossomos não pareados (univalentes) nas plantas mães e valores médios obtidos para as progênies das cultivares Cheyenne e Hadden.

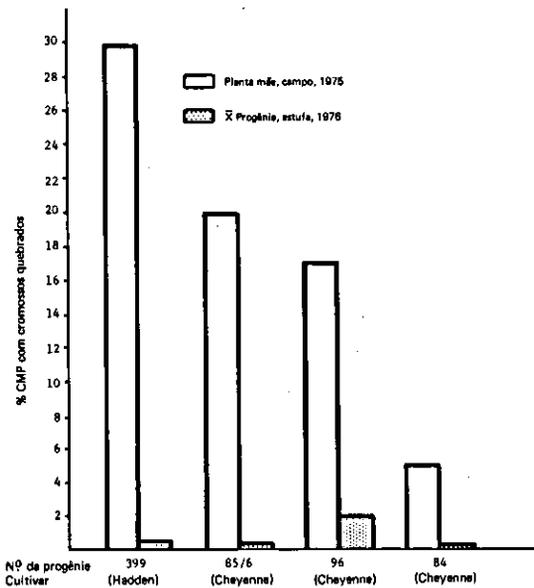


FIG. 8. Ocorrência de cromossomos quebrados nas plantas mães e valores médios obtidos para as progênies das cultivares Cheyenne e Hadden.

lidade genética da cultivar. Love (1951) estabeleceu o limite de 90 para o I.M., relatando que plantas com índices inferiores a este valor, quando usadas em cruzamentos, trariam problemas nas gerações segregantes, originando progênies desuniformes.

Por outro lado, em alguns casos, onde se detecta instabilidade recorrente, é possível que a seleção de plantas com estabilidade permita a purificação da cultivar, diminuindo ou até eliminando a instabilidade. Isto porque as cultivares comerciais, apesar de morfologicamente mais ou menos uniformes (dependendo das exigências de pureza varietal para certificação ou registro), podem ser geneticamente heterogêneas. Portanto, quando uma cultivar apresenta sistematicamente elevada frequência de plantas com aberrações cromossômicas, pode-se esperar que a seleção de plantas citologicamente estáveis seja efetiva pelo menos em alguns casos. Isto ficou evidenciado no estudo de progênies de algumas cultivares com instabilidade recorrente: algumas plantas com Índices Meióticos elevados deram progênies normais, enquanto outras (Tabela 1) segregaram dando plantas estáveis e instáveis.

Desde 1978, estão sendo analisadas as cultivares mais usadas no Bloco de Cruzamento e as linhagens dos Ensaios Regional e Sul-brasileiro, com o objetivo de fornecer aos melhoristas informações a respeito da estabilidade das cultivares.

Foram avaliadas, até o ano agrícola de 1980 inclusive, 1.776 plantas pertencentes a 97 cultivares, sendo que 7% destas plantas apresentaram Índices Meióticos inferiores a 90 (Tabela 2). Love (1951) e Del Duca (1976) estudando trigos brasileiros encontraram respectivamente 33 e 32% de plantas com índices inferiores a 90, enquanto que Saura (1957) encontrou apenas 3%, quando analisou trigos argentinos.

Na Tabela 2, estão relacionadas as cultivares estudadas até o momento. De 97 cultivares estudadas, 54% apresentaram acima de 5% de plantas com Índices Meióticos inferiores a 90, limite estabelecido por Love para a estabilidade de uma planta. As cultivares Alondra, BR 4, El Pato, Hadden, IAS 54, IAS 55, LAP 689, PF 7656, PF 7673, PF 70338, PF 73234, PAT 7392, Santiago e Timgalen estão entre as que apresentaram proporções mais elevadas de plantas instáveis.

Sem dúvida, a estabilidade meiótica é um dos fatores relacionados com a adaptabilidade de uma cultivar entendida como tendo um desempenho estável em diversas condições ambientais.

É evidente que o comportamento meiótico por si só não é uma garantia de adaptabilidade para a cultivar. Mas é certamente o fator necessário para que a transmissão regular das características agrônomicas desejáveis seja mantida.

Em relação ao melhoramento varietal, a instabilidade meiótica, em elevada proporção das cultivares em uso no sul do Brasil, coloca um dilema: algumas variedades com boas características agrônomicas apresentam também elevada instabilidade. Se for evitado o uso, em cruzamentos, deste material, o germoplasma fica limitado. Por outro lado, a introdução de genes para instabilidade no programa de melhoramento prejudica a homogeneidade das futuras cultivares. A transmissão das características genéticas de uma para outra geração será afetada e a tendência será de haver um aumento gradual de tipos aberrantes (dependendo de seu valor adaptativo), o que poderá contribuir para a deterioração varietal (Jensen 1965).

TABELA 1. Índices Meióticos de plantas-mães e suas progênies selecionadas de cultivares com instabilidade recorrente.

Cultivares	Índice meiótico e nº da planta-mãe	Índices meióticos das progênies
Alondra Sib	95 (3488)	92, 95, 90, 90, <u>89</u> , 95, 95, <u>79</u> , <u>88</u> , <u>80</u> , 94, 90, 97, 91, 97
Alondra 1	91 (3481)	100, <u>83</u> , 98, 97, 99, 97, 99, 100, 100, 98, 96, 92, 100, 98, 96
Alondra 1	96 (4304)	94, 98, 96, 97, 97, 99, 98, 97, 99, 97, 99, 98, 99, 98, 99, 98, 97, 95, 98, 96, 99
IAS 55	100 (2053) 93 (2080)	99, 99, 98, 93, 96, 98 <u>88</u> , <u>86</u> , 93, 90, 92, 91, <u>77</u>
PF 70338	96 (3515) 96 (3920)	98, 93, 98, <u>75</u> <u>88</u> , <u>80</u> , <u>74</u>

TABELA 2. Índices meióticos de cultivares em uso no CNPT.

Cultivares	Nº de plantas estudadas	Índices meióticos	Nº de plantas com índice meiótico < 90	
Alondra	45	30 - 100	11	23% *
Alvarez 110	7	90 - 99	0	
Anahuac 75	8	57 - 99	1	12%
Amigo (Precoce)	15	89 - 97	2	13%
B 7503	9	88 - 99	1	11%
BH 1146	59	46 - 100	3	5%
BR 2	12	94 - 100	0	
BR 4	22	18 - 98	5	22%
BR 5	14	95 - 100	0	
Buck Cencerro	11	97 - 100	0	
C 33	7	96 - 100	0	
Cajeme 71	28	23 - 99	2	7%
CEP 7775	14	92 - 98	0	
CEP 7780	16	97 - 100	0	
Cheyenne	66	82 - 100	13	
CNT 1	11	95 - 99	0	
CNT 7	79	40 - 100	4	
CNT 8	25	97 - 100	0	
CNT 9	13	19 - 100	1	8%
CNT 10	13	89 - 99	1	8%
El Pato	5	61 - 94	4	80%
Florence	20	92 - 100	0	
Frontana	38	92 - 100	0	
Hadden	36	47 - 100	9	25%
IAC 5 - Maringá	7	94 - 98	0	
IAC 20 - IASSUL	9	31 - 99	1	11%
IAS 54	51	47 - 100	4	8%
IAS 55	41	67 - 100	4	9%
IAS 58	48	97 - 100	0	
IAS 59	36	80 - 100	2	6%

TABELA 2. Continuação

Cultivares	Nº de plantas estudadas	Índices meióticos	Nº de plantas com índice meiótico < 90
IAS 62	8	90 - 97	0
Jupateco 73	4	97 - 98	0
K. Atlas	16	68 - 99	3 19%
Kenya Leopard	15	69 - 100	2 13%
Lagoa Vermelha	29	87 - 100	1
Lap 689	11	58 - 95	9 81%
Londrina	24	55 - 100	1
LR 19	6	81 - 98	1 17%
M. Juarez - INTA	43	92 - 100	0
Nambú	14	42 - 99	2 14%
Nobre	25	92 - 100	0
Paraguai 214	17	56 - 100	2 12%
PAT 19	18	85 - 100	2 11%
PAT 7219	16	75 - 99	2 12%
PAT 7392	12	23 - 96	7 58%
Pel 1268-69	3	79 - 98	1 33%
Pel 10054-65	9	94 - 100	0
Pel 13725-68	7	76 - 99	1 14%
Pel 72393	23	87 - 100	1
Pel 73015	13	93 - 100	0
Pel 73-22	9	99 - 100	0
Pel 73081	11	63 - 100	2 18%
Pel 73427	8	89 - 99	1 12%
Pel 74267	38	87 - 100	1
Pel 74306	9	93 - 99	0
Pel 75135	13	84 - 99	2 15%
PF 7450	18	79 - 99	2 11%
PF 7576	20	88 - 100	1 5%
PF 7577	9	63 - 99	1 11%
PF 7611	8	64 - 99	1 12%
PF 7650	9	77 - 99	0
PF 7655	18	86 - 99	3 18%
PF 7656	6	71 - 90	5 83%
PF 7658	18	90 - 98	0
PF 7659	8	88 - 99	1 12%
PF 7668	34	39 - 100	4 12%
PF 7669	24	59 - 100	1
PF 7673	23	63 - 97	16 69%
PF 7751	14	88 - 100	1 7%
PF 7758	11	68 - 100	2 18%
PF 7814	15	93 - 100	0
PF 7815	15	92 - 100	0
PF 7917	14	84 - 98	1 7%
PF 7921	15	89 - 100	1 7%
PF 70100	9	90 - 100	0
PF 70338	26	63 - 99	4 15%
PF 70354	9	93 - 100	0
PF 70562	7	94 - 100	0
PF 72206	14	88 - 100	2 14%

TABELA 2. Continuação

Cultivares	Nº de plantas estudadas	Índices meióticos	Nº de plantas com índice meiótico < 90
PF 73233	7	91 - 97	0
PF 73234	8	76 - 98	4 50%
PF 74354	17	93 - 100	0
PF 75119	15	88 - 100	1 7%
PF 75171	18	96 - 100	0
PF 75172	10	92 - 100	0
PF 75181	9	74 - 98	1 11%
PF 79470	12	73 - 98	2 17%
Santiago	9	78 - 95	3 33%
SB 75129	16	68 - 98	2 12%
S. Cerros	22	88 - 100	1
Sonalika	9	82 - 100	3
Sonora 64	57	60 - 100	5 9%
Super X	11	94 - 100	0
Tifton (72-59)	30	33 - 100	1
Timgalen	3	85 - 92	2 67%
Toropi 5030	7	91 - 100	0
Veranópolis	9	66 - 100	1

* São destacadas apenas as cultivares com percentagens de plantas anormais superiores a 5%.

Deve-se salientar que a heterogeneidade decorrente da instabilidade cromossômica é de natureza diferente da heterogeneidade de uma multilínea. Neste caso, a variedade é uma mistura de tipos portadores de genes distintos para resistência às doenças, por exemplo, enquanto que uma variedade instável perde material genético de determinados segmentos cromossômicos, caracterizando-se por apresentar deficiências mais ou menos drásticas. Estas deficiências podem ser críticas em determinadas condições ambientais. Não existem estudos suficientes para mostrar se esta perda é sempre específica para determinado cromossomo, como é o caso do trigo Mediterrâneo (Liang et al. 1972) ou se pode ocorrer de maneira caótica.

Certamente, o fato de uma cultivar, apesar de sua instabilidade, ser usada em cruzamentos, indica que ela apresenta genes agronomicamente valiosos. Mas é importante lembrar que se a instabilidade for recorrente, a transmissão regular destes genes ao longo das gerações fica ameaçada.

Assim, a seleção de linhas estáveis nos genótipos instáveis com elevado valor agrônomico parece

ser a recomendação mais adequada, tendo em vista os resultados atualmente disponíveis em relação às linhas Alondra (Tabela 1). Esta seleção pode também ser efetuada eliminando-se os tipos aberrantes em linhas puras de espigas isoladas, como é feito em outros países onde há rígidas exigências em relação à pureza varietal.

Relações entre aberrações e fertilidade

A instabilidade em células-mães de pólen poderia ocorrer sem maiores prejuízos para a cultivar, desde que a meiose no lado feminino fosse normal e os grãos de pólen afetados não participassem da fertilização. Como a análise citológica do gametófito feminino em larga escala é demorada e difícil, a avaliação da produção de grãos deve refletir o comportamento da célula-mãe de macrossporo.

Foram selecionadas, em 1976 plantas estáveis e instáveis das cultivares Londrina, IAS 55 e Sonora 64, com base não apenas no Índice Meiótico, que seria uma subestimativa das anomalias meióticas, mas também na ocorrência de anormalidade em fases anteriores da divisão meiótica. A comparação entre cultivares estáveis e instáveis, quanto à

fertilidade, não é válida, já que se trata de genótipos distintos. Somente comparando progênies de plantas estáveis e instáveis da mesma cultivar estaremos isolando o fator anormalidades cromossômicas e homogenizando outros fatores genéticos relacionados com a fertilidade. Foram consideradas estáveis as plantas que não apresentaram univalentes, retardatários ou pontes, quebras, e cujos I.M. foram superiores a 90. Na Tabela 3, estão sumarizados alguns dos resultados da análise citológica das três cultivares. Pode-se observar que a cultivar Londrina apresentou a menor incidência de anormalidades.

As plantas analisadas foram marcadas quando da coleta das inflorescências para estudos citológi-

cos e colhidas individualmente. Na Tabela 4, são apresentados os resultados quanto ao peso de mil grãos de plantas estáveis comparado com as instáveis, por cultivar. Pode-se verificar que apesar da não significância estatística, é consistente a diferença, nas três cultivares, sempre no sentido de as instáveis apresentarem menor peso.

Os resultados obtidos quanto à fertilidade das progênies podem ser observados na Tabela 5. Apesar de algumas amostras serem pequenas, por causa do ano desfavorável, são significativas as diferenças entre as progênies estáveis e instáveis, tanto quanto a autopolinização foi obrigatória como quando não houve ensacamento, tendo sempre as estáveis apresentado maior fertilidade. As diferen-

TABELA 3. Principais irregularidades observadas em diferentes fases do processo meiótico em células-mães de pólen.

	Sonora 64	Londrina	IAS 55
Metáfase I			
21 pares	74% (54-100)	88% (73-100)	87% (60-100)
Cromossomos não pareados (univalentes)	28% (0-100)	4% (0- 24)	11% (0- 40)
Cromossomos quebrados	4% (0- 20)	4% (0- 20)	4% (0- 20)
Nº de CMP* estudadas	186	405	209
Anáfase I			
Distribuição cromossômica regular	58% (60-100)	86% (64-100)	83% (50-100)
Cromossomos perdidos (retardatários)	13% (0- 67)	5% (0- 18)	2% (0- 27)
Nº de CMP estudadas	45	215	166
Telófase I			
Cromossomos perdidos (retardatários)	5% (4- 50)	2% (0- 7)	8% (0- 25)
Nº de CMP estudadas	90	363	402
Índice meiótico			
Quartetos de pólen normais	89 (60- 96)	98 (94-100)	95 (67-100)
Nº de quartetos estudados	7271	5512	16769
Nº de plantas estudadas			
Estáveis	39%	58%	50%
Total	28	24	44
Aneuploidia	4%	zero	7%

* CMP = Células-mães de pólen.

TABELA 4. Peso de 1.000 grãos das plantas estáveis e instáveis.

Cultivares	Nº de plantas	Nº de sementes contadas	Peso de 1.000 grãos
Londrina			
Estáveis	14	329	34,19 g
Instáveis	4	75	30,67 g
			t = 1,89 ns
IAS 55			
Estáveis	16	384	18,88 g
Instáveis	10	231	16,45 g
			t = 1,19 ns
Sonora 64			
Estáveis	9	203	21,67 g
Instáveis	6	137	17,88 g
			t = 0,89 ns

TABELA 5. Fertilidade de espigas de polinização livre e autofecundadas, provenientes de progênes estáveis e instáveis.

	Estáveis				Instáveis				X ²	
	Nº de flores	Grãos formados	Nº de plantas	Nº de espigas	Nº de flores	Grãos formados	Nº de plantas	Nº de espigas		
IAS 55	Polinização livre	318	81%	8	9	204	54%	3	6	41,66; P < 0,001
	Autofecundação	554	42%	6	16	234	12%	2	7	65,9; P < 0,001
	Total	872	56%	12	25	438	32%	5	13	143,40; P < 0,001
Londrina	Polinização livre	498	61%	8	18	92	42%	1	3	10,80; 0,01 > P < 0,001
	Autofecundação	390	17%	3	12	32	6%	1	1	2,49; 0,20 > P > 0,10
	Total	888	41%	11	30	124	33%	2	4	3,17; 0,10 > P > 0,20
Sonora 64	Polinização livre	740	46%	11	23	82	2%	3	3	57,51; P > 0,001
	Autofecundação	196	39%	2	6	62	26%	1	2	3,98; 0,05 < P < 0,01
	Total	936	45%	13	29	144	12%	4	5	53,61; P < 0,001

ças são mais marcantes nas variedades com maior instabilidade como: IAS 55 e Sonora 64. A menor fertilidade das espigas ensacadas pode ser devida a problemas de microclima dentro do saquinho de papel encerado.

Essa relação entre a fertilidade da semente e aberrações cromossômicas é difícil de ser demonstrada. Desde a fertilização até a obtenção da semente madura muitos outros fatores genéticos e ambientais estão envolvidos, além da regularidade meiótica. Por outro lado, as conseqüências de pequenas deficiências genéticas podem torna-se evidentes em etapas posteriores de desenvolvimento. Certos genes são ligados e desligados em momentos bem definidos, e sua falta pode não ser percebida em estádios precoces do desenvolvimento do indivíduo, como é o caso da semente. Muitas outras

funções importantes para a planta adulta serão solicitadas após a formação do grão. Se a deficiência cromossômica, conseqüente de um distúrbio meiótico, não for relacionada com funções essenciais à formação de grão, não será detectada a associação entre anomalias meióticas e fertilidade, nas plantas analisadas. Uma hipótese alternativa seria que, se a instabilidade fosse transmitida apenas por um dos gametas, o grão formado apresentaria heterozigose para a deficiência cromossômica. Já nas progênes de plantas instáveis, as deficiências cromossômicas entrariam em homozigose numa certa proporção de zigotos, tornando-se evidente a esterilidade após a autofecundação.

É importante lembrar também que, embora os resultados aqui obtidos indiquem que a estabilidade é um dos fatores que afetam a fertilidade,

outros fatores genéticos e ambientais também estão envolvidos.

Influência do ambiente nas aberrações

Com o objetivo de identificar os fatores ambientais relacionados com a ocorrência da instabilidade, foram calculados os coeficientes de correlação (r) entre temperaturas máximas e mínimas, umidades relativas, precipitação e insolação registrados no período dos dez dias que antecederam às coletas, e foram apontadas diversas características meióticas, visando, como já foi mencionado, abranger com segurança todos esses fatores num ciclo meiótico completo. Caracteres como univalentes, aderências, frequência de quiasmas, supercontração, quebras, não-orientação, pontes e retardatários foram avaliados em 286 plantas de 57 cultivares. O Índice Meiótico foi determinado em 1.157 plantas pertencentes a 66 cultivares. Esses resultados são referentes ao anos de 1975, 1976 e 1977.

Na Tabela 6, são apresentados os valores de correlação (r) obtidos para as comparações onde houve significância estatística. Pode-se observar que, de modo geral, os valores foram baixos: assim, temperaturas extremas, umidade, precipitação e insolação, além do local de coleta, afetaram o comportamento meiótico em pequena escala.

Em relação ao pareamento (univalentes, retardatários e micronúcleos), os fatores climáticos que

parecem exercer maior influência são a umidade e precipitação, além das temperaturas extremas.

Del Duca & Moraes Fernandes (1980) também obtiveram valores baixos mais significativos ($P < 0,05$) para a correlação entre micronúcleos e temperatura máxima ($r = 0,04^*$), temperatura mínima ($r = -0,37^*$), umidade ($r = 0,40^*$), precipitação ($r = 0,40^*$) e insolação ($r = -0,32^*$) apenas em um dos três locais estudados (Passo Fundo).

Trabalhos anteriores (Bayliss & Riley 1972) já haviam estabelecido a influência da temperatura nos problemas de pareamento em trigo, sugerindo que a variação meteorológica normal poderia ser responsável pelos aneuplóides, que são encontrados, em baixas frequências, em algumas cultivares (Riley & Kimber 1961).

O efeito ambiental também pôde ser avaliado através dos resultados obtidos após a análise detalhada das diversas fases da meiose, em 187 plantas de cultivares nacionais e estrangeiras, estudadas nos anos de 1975 e 1976 (Tabela 7). Os testes de X^2 mostraram que há diferenças significativas na incidência de anomalias nas diversas fases, entre anos: para Metáfase I, o valor encontrado foi de 5,07 ($0,05 < P < 0,02$); para Anáfase I, foi de 19,15 ($P < 0,001$); e para Telófase I, foi de 13,87 ($P < 0,001$). É interessante salientar que 1975 foi um péssimo ano para a cultura e que a ocorrência de anomalias foi mais elevada do que em 1976.

TABELA 6. Valores significativos dos coeficientes de correlação (r) obtidos para as comparações entre diversos fatores climáticos e características meióticas.

Comparação		Coefficiente de correlação (r)	P	Nº de observações
Temperatura máxima x	Índice meiótico	0,08**	0,004	1.061
	Não-orientação	0,15*	0,01	255
	Pontes	0,19***	0,0006	298
Temperatura mínima x	Índice meiótico	0,08**	0,007	1.061
	Quebras	0,13*	0,03	255
Umidade relativa x	Não-orientação	0,18*	0,03	255
	Retardatários	0,11*	0,05	298
	Quiasmas	0,15**	0,01	255
Insolação x	Univalentes	0,20***	0,001	254
	Aderências	0,15**	0,01	255
Precipitação x	Retardatários	0,11*	0,05	298

TABELA 7. Freqüências gerais médias de células-mães de pólen normais em cultivares nacionais e estrangeiras.

Origem	Células-mães de pólen analisadas												Total de plantas estudadas	
	Diacinese		Metáfase I		Anáfase I		Telófase I		Quartetos		Plantas selecionadas			
	Total	Normais	Total	Normais	Total	Normais	Total	Normais	Total	Normais	Total	Normais		
1975														
Nacionais	32	84%	280	64%	533	74%	1.184	86%	15.140	94%	40%	68		
Estrangeiras	178	83%	371	56%	352	60%	632	92%	5.625	95%	29%	45		
1976														
Nacionais	81	89%	648	89%	362	86%	842	94%	14.664	97%	51%	53		
Estrangeiras	64	91%	315	88%	76	68%	360	87%	3.254	96%	40%	15		
Total	355		1.625		1.340		3.046		39.037			187		

Na Tabela 7 também pode-se observar que as cultivares nacionais pouco diferem das estrangeiras na ocorrência de anomalias, e que, de modo geral, as nacionais apresentam menor incidência de aberrações na maioria das fases, sugerindo a ação de seleção natural no comportamento meiótico.

Resta estudar com maior profundidade a ação de toxinas fúngicas e infecções virais. Como já foi demonstrado (Serenio et al. 1981), plantas individuais após inoculação em *Septoria tritici*, *Septoria nodorum*, *Helminthosporium sativum* e afídios portadores do vírus do nanismo amarelo da cevada tiveram aumentos de até 80 vezes na freqüência de grãos de pólen anormais.

CONCLUSÕES

1. As anormalidades de pareamento aqui observadas são mais influenciadas pelo genótipo da cultivar, indicando a possibilidade de resposta à seleção. Já as quebras cromossômicas apresentaram maior efeito ambiental.

2. A instabilidade meiótica afeta a fertilidade das progêneses possivelmente por homozigose de deficiências transmitidas apenas por um dos gametas.

3. Umidade e temperatura foram os fatores ambientais que mais afetaram o pareamento.

4. A seleção de progêneses estáveis parece ser a recomendação mais adequada para o melhoramento varietal.

5. As cultivares nacionais pouco diferem das estrangeiras na ocorrência de aberrações cromossômicas, sendo que as últimas, de modo geral, apresentaram maior incidência de anomalias.

AGRADECIMENTOS

A autora agradece a colaboração dos laboratoristas Clarício Machado, Floriano Zart e Sérgio W. Cornélio, e do técnico de laboratório Gelsi Galon, nas coletas e análise citológica das cultivares aqui estudadas. Agradace também a colaboração do colega I.C. Ignaczak nos testes estatísticos.

REFERÊNCIAS

BAYLISS, M.W. & RILEY, R. An analysis of temperature-dependent asynapsis in *Triticum aestivum*. Genet. Res., 20:193-212, 1972.

- BENNETT, M.D. & SMITH, J.B. The effects of polyploidy on meiotic duration and pollen development in cereal anthers. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 181:81-107, 1972.
- BODANESE-ZANETTINI, M.H. & MORAES FERNANDES, M.I.B. Cytogenetic studies in two Brazilian wheat cultivars under natural and controlled temperature conditions. *Rev. Brasil. Biol.*, 39(3):551-7, 1980.
- DEL DUCA, L. de J.A. Índices meióticos em trigos brasileiros e estudo comparativo entre comportamento citológico, fatores ambientais e componentes de produção. Porto Alegre, UFRS, 1976. 239p. Tese Mestrado.
- DEL DUCA, L. de J.A. & MORAES FERNANDES, M.I.B. Meiotic instability in some Brazilian common wheat cultivars. *Cereal Res. Commun.*, 8(4):619-25, 1980.
- FALCÃO, T.M.M.A.; MORAES FERNANDES, M.I.B. & BODANESE-ZANETTINI, M.H. Genotypic and environmental effect on meiotic behavior and influence of chromosomal abnormalities on fertility of hexaploid triticale (X *Triticosecale* Wittmack). *Rev. Bras. Gen.*, 4(4):611-24, 1981.
- GOSS, J.A. Development, physiology and biochemistry of corn and wheat pollen. *Bot. Rev.*, 34:333-58, 1968.
- GUERRA FILHO, M.S. & MORAES-FERNANDES, M.I.B. de. Somatic instability in the Brazilian semi-dwarf wheat IAS 54. *Can. J. Genet. Cytol.*, 19: 225-30, 1977.
- JENSEN, N.F. Population variability in small grains. *Agron. J.*, 57(2):153-62, 1965.
- LARGE, E.C. Growth stages in cereals; illustration of the Feekes scale. *Plant Pathol.*, 3:128-9, 1954.
- LARTER, E.; TSUCHIYA, T. & EVANS, L.E. Breeding and cytology of Triticale. In: INTERNATIONAL WHEAT GENETICS SYMPOSIUM, 3, Camberra, 1968. *Proceedings*. Camberra, 1968. p.213-21.
- LI, H.W.; PAO, W.K. & LI, C.H. Desynapsis in common wheat. *Amer. J. Bot.*, 32:92-101, 1945.
- LIANG, G.H.; DEYOE, C. & GEN, H. Genetic control of meiotic irregularities in Mediterranean wheat. *J. Hered.*, 63(5):271-4, 1972.
- LOVE, R.M. A cytogenetic study of off-types in a winter wheat Dawson's golden chaff, including a white chaffmutant. *Can. J. Res.*, 21:257-64, 1943.
- LOVE, R.M. La citología como ayuda práctica al mejoramiento de los cereales. *Rev. Argent. Agron.*, 16:1-13, 1949.
- LOVE, R.M. Varietal differences in meiotic behaviour of Brazilian wheats. *Agron. J.*, 43:2-6, 1951.
- MAAN, S.S. & MCCracken, E.V. Meiotic instability of common wheat strains derived from *Triticum timopheevi* Zhuk. crosses. *Euphytica*, 17:445-50, 1968.
- MCKEY, J. Neutron and x-rays experiments in wheat and a revision of speltoid problem. *Hereditas*, 40:65-180, 1954.
- MERKER, A. Cytogenetic investigations in hexaploid Triticale. I. Meiosis, aneuploidy and fertility. *Hereditas*, 68:281-90, 1971.
- MORAES FERNANDES, M.I.B. de. Estabelecimento de estoques de plantas estáveis para uso em cruzamentos. In: REUNIÃO ANUAL CONJUNTA DE PESQUISA DE TRIGO, 9, Londrina, PR, 1977. *Melhoramento, sementes e citogenética*. Passo Fundo, EMBRAPA-CNPT, 1977. p.1-16.
- MYERS, W.M. & POWERS, L. Meiotic instability as an inherited character in varieties of *Triticum aestivum*. *J. Agr. Res.*, 56(6):441-52, 1938.
- NEWCOMER, E.H. A new cytological and histological fixing fluid. *Science*, 118:161, 1953.
- PAO, W.K. & LI, H.W. Desynapsis and other abnormalities induced by high temperature. *J. Genet.*, 48:297-310, 1948.
- POWERS, L. Cytological and genetic studies of variability of strains of wheat derived from interspecific crosses. *J. Agr. Res.*, 44(11):797-831, 1932.
- RILEY, R. & KIMBER, G. Aneuploids and the cytogenetic structure of wheat varietal populations. *Heredity*, 16:275-90, 1961.
- SAURA, F. El Índice Meiótico de trigos argentinos y su valor fitotécnico. *Rev. Fac. Agron. Vet.*, 14(1): 76-84, 1957.
- SEARS, E.R. Chromosome pairing and fertility in hybrids and amphidiploids in the *Triticinae*. *Mo. Agri. Exp. Stn. Res. Bull.*, 337:1-20, 1941.
- SEMENIUK, K.W. Chromosomal stability in certain rust resistant derivatives from a *T. vulgare* x *T. timopheevi* cross. *Sci. Agric.*, 27:7-20, 1947.
- SERENO, M.J.C.M.; MORAES-FERNANDES, M.I.B. & BODANESE-ZANETTINI, M.H. Effect of pesticides, fungal diseases and pests on the meiotic behavior of wheat. *Rev. Bras. Gen.*, 4(4):593-610, 1981.
- SISODIA, N.S.; LARTER, E.N. & BOYD, W.J.R. Effect of planting date on the meiotic and reproductive behavior of hexaploid Triticale. *Crop. Sci.*, 10: 543-5, 1970.
- THOMAS, J.B. & KALTSIKES, P.J. Genotypic and cytological influences on the meiosis of hexaploid Triticale. *Can. J. Genet. Cytol.*, 14:889-98, 1972.
- URICH, M.A. & HEYNE, E.G. Genetic instability of Ottawa wheat (*Triticum aestivum* L.). *Crop. Sci.*, 8: 740-3, 1968.
- UTKHEDE, R.S. & JAIN, H.K. Temperature induced condition of univalence in wheat. *Cytologia*, 39: 791-9, 1974.
- WATANABE, Y. Studies on the cytological instabilities of common wheat. *Tohoku Agric. Exp. Stn. Res. Bull.*, Japan, 23:69-152, 1961.