

110

ESTUDO DO COMPORTAMENTO MEIÓTICO E FORMAÇÃO DO PÓLEN NA CULTIVAR DE TRIGO
C 15, SUBMETIDA À AÇÃO DE DEFENSIVOS¹

M. Jane M. Sereno²

M. Irene B. de M. Fernandes³

M. Helena Bodanese-Zanettini⁴

Mauro R. Eichler⁵

RESUMO

O efeito mutagênico de produtos químicos vem sendo amplamente estudado nos mais diversos organismos e existem muitas informações na literatura indicando a ocorrência de várias anormalidades citológicas como consequência do seu uso. São apresentados resultados relativos ao uso de inseticidas e fungicidas sobre o comportamento meiótico da variedades de trigo Cinquêntanário (C 15). Foram analisadas células mães de pólen em meiose I e II e verificadas as ocorrências de anomalias referentes a pareamento e segregação cromossômicas. Em pólen maduro foram analisadas anormalidades referentes a núcleos generativos, vegetativo e poro. Os resultados apresentados se refererem a um total de 55 plantas com 19.703 células mães de pólen e 4.209 grãos de pólen estudados. Em meiose I e II os resultados mostraram que a testemunha apresentou, na maioria dos casos, maior frequência de anormalidades do que os tratamentos. O teste do X_2 mostrou que, das 20 comparações em que os valores foram significativos, em 2 a testemunha teve frequência de anomalias inferiores aos tratamentos. Já no estudo do pólen maduro os resultados foram em sentidos contrário pois, em todas as comparações, houve sempre maior frequência de anomalias nas amostras das parcelas tratadas.

¹ Trabalho apresentado em colaboração. Departamento de Genética da UFRGS e Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. Apresentado na IX Reunião Anual Con junta de Pesquisa de Trigo. Londrina, PR, de 28 de março a 19 de abril de 1977.

² Bel. em Ciências Biológicas, Aluna de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Genética da UFRGS.

³ Bacharel em História Natural, Dr. em Genética, Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. EMBRAPA, Passo Fundo, RS.

⁴ Bel. em Ciências Biológicas, Mestre em Genética, Aluna de Doutorado do Curso de Pós-Graduação em Genética da UFRGS, Prof. Assistente do Departamento de Genética da UFRGS.

⁵ Eng^o Agr^o, Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. EMBRAPA, Passo Fundo, RS.

ESTUDO DO COMPORTAMENTO MEIÓTICO E FORMAÇÃO DO PÓLEN NA CULTIVAR DE TRIGO
C 15, SUBMETIDA À AÇÃO DE DEFENSIVOS¹

M. Jane M. Sereno²

M. Irene B. de M. Fernandes³

M. Helena Bodanese-Zanettini⁴

Mauro R. Eichler⁵

1. INTRODUÇÃO

O estudo de variedades de trigo em uso no Rio Grande do Sul, que vem se desenvolvendo desde 1972 no Departamento de Genética da UFRGS e desde 1975 em colaboração com o Centro Nacional de Pesquisa de Trigo, inclui a análise de cromossomos somáticos, GUERRA-FILHO (1975), efeitos de temperatura na meiose, BODANESE (1975) e levantamento de índices meióticos, DEL DUCA (1976). Outro enfoque mais recente que foi dado a este projeto se refere ao estudo dos efeitos citogenéticos do uso de defensivos nas lavouras tritícolas sobre células mães de pólen e grão de pólen maduro.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Na revisão de literatura efetuada existem muitas informações sobre anomalias determinadas por tratamento com produtos químicos. Sabe-se que em organismos como cabaia, o uso do pesticida de fosfato orgânico "Guthion" pro

¹ Trabalho realizado em colaboração. Departamento de Genética da UFRGS e CNPTRIGO. Apresentado na IX Reunião Anual Conjunta de Pesquisa de Trigo. Londrina, PR, de 28 de março a 19 de abril de 1977.

² Bel. em Ciências Biológicas, Aluna de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Genética da UFRGS.

³ Bacharel em História Natural, Dr. em Genética, Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. EMBRAPA, Passo Fundo, RS.

⁴ Bel. em Ciências Biológicas, Mestre em Genética, Aluna de Doutorado do Curso de Pós-Graduação em Genética da UFRGS, Prof. Assistente do Departamento de Genética da UFRGS.

⁵ Eng^o Agr^o, Pesquisador do Centro Nacional de Pesquisa de Trigo. EMBRAPA, Passo Fundo, RS.

voca anomalias cromossômicas. ALAN & COLS (1974), encontraram, neste material, falhas de condensação, desespiralização, constrictões secundárias, pulverização, além de cromossomos dicêntricos e acêntricos.

MAGUIRE (1974) encontrou anormalidades meióticas em milho, tais como interações aberrantes entre fuso e centrômero, induzidas quimicamente por óxido de etileno, etileno glicol, polietileno glicol e glioxal.

AMER & FARAH (1974), realizaram estudos semelhantes, analisando os efeitos dos pesticidas: O-isopropil-N-fenil carbamato e O-isopropil-N-(3-cloro) fenil carbamato em mitose de *Vicia faba* e *Gossypium barbadense*. Encontraram várias anormalidades como anáfase multipolar, pontes, fragmentações cromossômicas e células multinucleadas, entre outras.

BENNET & REES (1970) encontraram variação na frequência de quiasmas em centeio, após tratamentos de fosfato. Constataram que um aumento na quantidade de fosfato ocasionava aumento na frequência de quiasmas.

Muitos trabalhos já foram realizados com compostos químicos, em melhoramento de plantas, a fim de induzir macho-esterilidade, mas sem estudo cromossômico. Entre estes, encontram-se os de JAN & COLS (1974) ROWELL & COL (1971) que trabalharam com trigo, encontrando alguns resultados positivos.

Sabe-se também que o uso de Ethrel (ácido 2-cloro etil fosfórico) provoca, em trigo, mitoses adicionais no pólen ocasionando células multinucleadas, pouco ou nenhum grão de amido e condensação anormal dos núcleos espermatócitos, BENNETT & COLS (1972).

3. MATERIAL E MÉTODO

O material usado foi a cultivar C 15 de trigo, considerada bastante estável, no que diz respeito ao comportamento meiótico através do estudo efetuado por DEL DUCA (1976). As coletas foram realizadas em Passo Fundo em experimento conduzido pelo Eng^o Agr^o Mauro Roos Eichler no Centro Nacional de Pesquisa de Trigo - EMBRAPA.

Foram plantadas cinco parcelas, no campo, na seguinte ordem: Testemunha - Pragas (inseticida) - Doenças (fungicidas) - Pragas + Doenças (inseticida e fungicida) - Testemunha. Entre cada parcela foram cultivados dois metros de plantas não tratadas, a fim de se evitar possível contaminação, não somente no momento da aplicação como também em decorrência de chuvas, ventos, etc.

O inseticida utilizado para pragas, foi aplicado no solo, por ocasião do plantio nos dias 23/07/75 e 08/09/75. É um produto sistêmico.

O fungicida de contato, utilizado para Doenças, foi aplicado na folha no dia 02/09/75.

Foram realizadas duas coletas. Uma no dia 15/10/75 para estudos meiôticos e outra no dia 16/10/75 para estudos de grão de pólen.

As espigas para estudos meiôticos foram fixadas em NEWCOMER (1953) e conservadas em congelador e as utilizadas para estudos de pólen, foram ensacadas em papel e conservadas em câmara fria.

Usou-se na preparação das lâminas, a técnica de esmagamento descrita por LEWIS & JOHN (1964) e as lâminas foram tornadas permanentes pelo método de gelo seco.

Analisamos o pareamento em Metáfase I, segregação cromossômica em Anáfase I, Telófase I e segunda divisão, micronúcleos em quattetos bem como núcleos generativos, vegetativo e poro em pólen maduro.

Foram coletadas dez plantas de cada parcela para estudos meiôticos e o mesmo número para análise de pólen maduro. Entretanto, nem todas as plantas coletadas encontravam-se em estágio adequado para análise. Sendo assim foram utilizadas 33 plantas para estudos de pólen e 22 para estudos meiôticos, abrangendo um total de 55 plantas analisadas.

4. RESULTADOS

A Tabela 1 apresenta o número de plantas analisadas em cada tratamento, o número de células analisadas em 7 estágios da Meiose I e II e pólen e as porcentagens de células anormais.

O número de células estudadas corresponde a 19.703, sendo que 467 em M I, 271 em A I, 481 em T I, 2724 em M II, 104 em A II, 1770 em T II e 13.886 quartetos e 4.209 grãos de pólen.

Analisando os dados de Meiose I e II se verifica que a Testemunha apresentou maior freqüência de anormalidades, na maioria dos casos. Apenas em M II, nos tratamentos para Doenças e Pragas + Doenças houve freqüência de CMP anormais superiores à Testemunha (67,0 em MII-D; 28,8 MII-P+D; e 24,2 MII Test.). Quanto ao estudo do pólen maduro, foram analisados os núcleos generativos, vegetativo, poro, tamanho, detectando-se também a presença ou não de pólenes vazios.

Foram consideradas normais, células com núcleos generativos alongados e de igual tamanho, núcleo vegetativo difuso e presença de um único poro.

Entre as anormalidades encontram-se núcleos generativos de tamanhos diferentes, vegetativos condensados, generativos não alongados, núcleos ex

tranuméricos, pólenes vazios, de tamanho menor e com dois ou mais poros.

No caso do pólen, houve sempre frequências maiores de anomalias nas a mostras das parcelas tratadas ao contrário dos resultados obtidos em Meiose I e II.

Na Tabela 2 são apresentados os resultados e os valores obtidos através do teste do X_2 . Como pode ser verificado, das 26 comparações em que o X_2 foi significativo, em apenas 7 a Testemunha teve frequência inferior de anomalias, comparada com os tratamentos.

5. DISCUSSÃO

Pelos resultados obtidos em meiose I e II pode-se notar que de maneira geral a testemunha foi superior em porcentagem de anomalias quando comparada com os tratamentos, só sendo suplantada em M.II por dois tratamentos (P+D e D). As anomalias mais frequentes neste estágio foram distúrbios de condensação. AMER, S.M.; FARAH, O.R. (1974) encontraram problemas de aderências causadas por produtos químicos. Os nossos resultados indicam que o fungicida ocasionou a maior frequência dessa anomalia.

Uma das interpretações que se pode dar ao fato da testemunha apresentar na maioria das comparações maior índice de anomalias é a de que nos tratamentos, apenas sobreviveram as células que possuíam maior regularidade cromossômica, ficando a testemunha com a frequência usual de anomalias apresentadas por esta variedade. Outra explicação é sugerida por BOYLE (1973) que interpreta a ação do mesmo fungicida em centeio. Ele sugere que este defensivo em alguns casos, atuaria dando maior regularidade de pareamento.

A testemunha pode também ter sido prejudicada direta ou indiretamente por doenças e pragas. As toxinas e vírus liberados por estes agentes ou a deficiência nutricional acarretada pelos mesmos podem ser parcialmente responsáveis pelo elevado índice de anomalias cromossômicas verificado num processo tão importante como é a formação dos gametas.

Quanto a análise dos grãos de pólen, a situação se inverteu, ou seja, a testemunha foi muito superior em frequência de pólenes normais. Pode-se sugerir que estes defensivos atuem principalmente na fase haplóide. Segundo BENNETT & HUGHES (1972), o Ethrel libera etileno e este parece ter propriedades hormonais em plantas. Estes autores sugerem que este produto químico poderia alterar a produção de RNA mensageiro, transcrito antes da meiose, mas necessário para o desenvolvimento de pólen após vários dias. Pode-se pensar que os defensivos utilizados neste trabalho tenham também liberado

alguma substância com propriedades hormonais e esta tenha atuado de forma semelhante a sugerida por aqueles autores.

Os grãos de pólen por nós analisados poderão ainda ter sofrido a ação de resíduos tóxicos em uma fase sensível do ciclo celular enquanto as células em MI e MII aqui examinadas poderiam estar em etapa do ciclo celular não tão crítico; por outro lado pode-se também interpretar os mesmos resultados supondo que a degradação dos resíduos levaria à diminuição de sua ação mutagênica. Talvez ambas as interpretações possam ser ventiladas.

Serão efetuados testes adicionais à fim de confirmar os resultados obtidos:

6. RESUMO

O efeito mutagênico de produtos químicos vem sendo amplamente estudado nos mais diversos organismos e existem muitas informações na literatura indicando a ocorrência de várias anormalidades citológicas como consequência do seu uso. São apresentados resultados relativos ao uso de Inseticidas e Fungicidas sobre o comportamento meiótico da variedade de trigo Cinquentenário (C 15). Foram analisadas células mães de pólen em meiose I e II e verificada a ocorrência de anomalias referentes a pareamento e segregação cromossômicas. Em pólen maduro foram analisadas anormalidades referentes a núcleos generativos, vegetativo e poro. Os resultados apresentados se referem a um total de 55 plantas com 19.703 células mães de pólen e 4.209 grãos de pólen estudados. Em meiose I e II os resultados mostraram que a testemunha apresentou, na maioria dos casos, maior frequência de anormalidades do que os tratamentos. O teste do X_2 mostrou que, das 20 comparações em que os valores foram significativos, em 2 a testemunha teve frequência de anomalias inferiores aos tratamentos. Já no estudo do pólen maduro os resultados foram em sentidos contrário pois, em todas as comparações, houve sempre maior frequência de anomalias nas amostras das parcelas tratadas.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALAM, M.T.; CARBEIL, M.; CHAGNAN, A.; KASATIYA, S. 1974. Chromosomal

- anomalies induced by the organic phosphate pesticide guthion in Chinese Hamster cells. Chromosoma, Berlin, 49:77-86.
2. AMER, S.M. & FARAH, O.R. 1974. Cytological effects of pesticides. VII. Mitotic effects of Isopropyl-N-phenyl carbamate and Duphar. Cytologia, Toquio, 40:21-9.
 3. BENNETT, Michael & HUGHES, W. Glyn. 1972. Additional mitosis in wheat pollen induced by Ethrel. Nature, London, 240(5383):566-8.
 4. BENNETT, M.D. & REES, H. 1970. Induced variation in chiasma frequency in rye in response to phosphate treatments. Genetics Research, Cambridge, 16:325-31.
 5. BODANESE, Maria Helena. 1975. Estudo do comportamento meiótico em cultivares de trigo (Frocor e Lagoa Vermelha) submetidas a condições ambientais e experimentais de temperatura. 100f. Tese (Mestr. Genética) - Curso de Pós-Graduação em Genética, UFRGS, Porto Alegre. [Não publicada].
 6. BOYLE, W.S. 1973. Cytogenetic effects of Benlate fungicide on *Allium cepa* and *Secale cereale*. The Journal of Heredity, Washington, 64(1): 49-50.
 7. DEL DUCA, Leo de Jesus Antunes. 1976. Índices meióticos em trigos brasileiros e estudos comparativos entre comportamento citológico, fatores ambientais e componentes da produção. 139f. Tese (Mestr. Agron-Fito tecnia) - Fac. Agron., UFRGS, Porto Alegre. [Não publicada].
 8. GUERRA FILHO, Marcelo dos S. 1975. Estudos dos cromossomas somáticos em trigo. 71f. Tese (Mestr. Genética) - Curso de Pós-graduação em genética, UFRGS, Porto Alegre. [Não publicada].
 9. JAN, C.C.; QUALSET, C.O.; VOGT, H.E. 1974. Chemical induction of sterility in wheat. Euphytica, Wageningen, 23(1):78-5.
 10. MAGUIRE, M.P. 1974. Chemically induced abnormal chromosome behavior at meiosis in maize. Chromosoma, Berlin, 48:213-23.
 11. ROWELL, P.L. & MILLER, D.G. 1971. Induction of male sterility in wheat with 2-Chloroethyl phosphonic acid (Ethrel). Crop Science, Madison, 11(5):629-31.

Tabela 1. Frequências de células mães de pólen anormais em 7 estágios da Meiose I e II e em pólen maduro, na testemunha e parcelas tratadas

Tratamentos	Nº Pl. Est.	MI		AI		TI		MII		AII		TII		Quartetos		Pólen	
		Nº	% cels. an.	Nº	% cels. an.	Nº	% cels. an.	Nº	% cels. an.	Nº	% cels. an.	Nº	% cels. an.	Nº	% cels. an.	Nº	Anor.
Testemunha	5	63	25,4	31	38,7	82	12,2	678	24,2	14	21,4	550	21,3	1588	19,5	1527	46,2
Pragas	3	65	6,1	54	25,9	73	10,9	523	17,6	35	5,7	362	4,9	2000	3,9	866	73,0
Doenças	5	108	16,7	30	26,7	39	5,1	440	67,0	8	12,5	72	5,5	3905	3,2	1037	79,6
Pragas + Doenças	9	231	12,5	156	19,2	287	2,4	1083	28,8	47	19,1	786	5,5	6393	2,3	779	77,3

Tabela 2. Valores de X^2 obtidos nas comparações indicadas

Tratamentos	Fases	Testemunha	Doenças	Pragas
Doenças	MI	1,90		
	AI	1,00		
	TI	1,48		
	MII	<u>202,52***</u>		
	AII	0,27		
	TII	10,04**		
	Quartetos	412,36***		
Pragas	Pólen	<u>286,08***</u>		
	MI	8,99**	4,04*	
	AI	1,52	0,005	
	TI	0,06	1,06	
	MII	7,66**	243,14***	
	AII	2,70	0,46	
	TII	45,99***	0,04	
Pragas + Doenças	Quartetos	222,04***	2,22	
	Pólen	<u>161,10***</u>	<u>11,38***</u>	
	MI	6,30*	1,04	2,10
Pragas + Doenças	AI	5,63*	0,86	1,08
	TI	13,81***	0,96	10,58***
	MII	<u>4,51*</u>	190,83***	23,57***
	AII	0,04	0,20	3,12
	TII	75,01***	0,00	0,19
	Quartetos	693,51***	7,09**	15,12***
	Pólen	<u>203,32***</u>	1,37	<u>4,04*</u>

* Significante a 0,05

** Significante a 0,01

*** Significante a 0,001

Nas comparações sublinhadas a testemunha teve frequência de anomalias inferiores aos tratamentos.