

Viabilidade polínica e inferência da estabilidade genética em genótipos de cevada



ISSN 1677-8901
Novembro/2020

*Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
Embrapa Trigo
Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*

**BOLETIM DE PESQUISA
E DESENVOLVIMENTO
95**

Viabilidade polínica e inferência da estabilidade
genética em genótipos de cevada

*Debora Munaretto
Sandra Patussi Brammer
Nadia Canali Lângaro
Euclides Minella
Maria Imaculada Pontes Moreira Lima*

Embrapa Trigo
Passo Fundo, RS
2020

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

Embrapa Trigo
Rodovia BR 285, km 294
Caixa Postal 3081
Telefone: (54) 3316-5800
Fax: (54) 3316-5802
99050-970 Passo Fundo, RS
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações da Embrapa Trigo

Presidente

Gilberto Rocca da Cunha

Vice-Presidente

Luiz Eichelberger

Secretária

Marialba Osorski dos Santos

Membros

Alberto Luiz Marsaro Júnior, Alfredo do Nascimento Junior, Ana Lídia Variani Bonato, Elene Yamazaki Lau, Fabiano Daniel De Bona, Gisele Abigail Montan Torres, Maria Imaculada Pontes Moreira Lima

Normalização bibliográfica

Rochelle Martins Alvorcem (CRB 10/1810)

Tratamento das ilustrações

Márcia Barrocas Moreira Pimentel

Projeto gráfico da coleção

Carlos Eduardo Felice Barbeiro

Editoração eletrônica

Márcia Barrocas Moreira Pimentel

Capa

Sandra Patussi Brammer

1ª edição

Publicação digital - PDF (2020)

Todos os direitos reservados.

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

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Embrapa Trigo

Viabilidade policlínica e inferência da estabilidade genética em genótipos de cevada. / por Débora Munaretto... [et al.]. – Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2020. PDF (17 p.) : il. color. - (Embrapa Trigo. Boletim de pesquisa e desenvolvimento online, 95).

ISSN 1677-8901

1. Cevada. 2. Citogenética. 3. Hardeum vulgare. 4. Fertilidade. 5. Grãos de pólen. I. Munaretto, Débora. II. Embrapa Trigo. III. Série.

CDD (21. ed.) 633.16

Rochelle Martins Alvorcem (CRB -10/1810)

© Embrapa, 2020

Sumário

Resumo	5
Abstract	6
Introdução.....	6
Material e Métodos	9
Resultados e Discussão	10
Conclusões.....	15
Agradecimentos.....	15
Referências	15

Viabilidade polínica e inferência da estabilidade genética em genótipos de cevada

Debora Munaretto¹

Sandra Patussi Brammer²

Nadia Canali Lângaro³

Euclides Minella⁴

Maria Imaculada Pontes Moreira Lima⁵

Resumo – A cevada é uma importante alternativa de cultivo no inverno, podendo ser utilizada tanto na alimentação animal ou humana como também para a fabricação do malte. Fatores bióticos e abióticos podem influenciar na formação do grão de pólen e, conseqüentemente, na estabilidade genética da espécie. Em vista disso, objetivou-se realizar a análise citogenética de grãos de pólen em genótipos de cevada, a fim de verificar a viabilidade polínica para posterior uso em programas de melhoramento genético. Um conjunto de onze genótipos de cevada, de distintas origens, foi utilizado para a viabilidade polínica. Os genótipos foram semeados em casa de vegetação, com umidade parcialmente controlada, em julho de 2018 com delineamento experimental de blocos casualizados. Foram coletadas nove espigas por genótipo e fixadas em Carnoy. As lâminas citológicas foram confeccionadas utilizando-se três anteras da mesma flor, da região mediana da espiga, seguindo a técnica de esmagamento, coradas com DAPI e foram analisados o número de grãos de pólen viáveis, inviáveis e com tamanhos diferentes em microscopia de epifluorescência. Além disso, foi realizada a medida de diâmetro de grãos de pólen utilizando-se uma escala em micrômetros, para dez células por lâmina e dispostas na região mediana. As imagens das células foram obtidas pelo programa Axion Vision Release 4.8.2. Foi possível concluir que os genótipos avaliados apresentam estabilidade genética, com viabilidade polínica acima de 84% e podem ser utilizados como genitores em um programa de melhoramento genético de cevada.

¹ Engenheira-agrônoma, mestre em Agronomia/Produção Vegetal, estagiária da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

² Bióloga, doutora em Ciências/Genética e Biologia Molecular, pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

³ Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia, professora da Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS.

⁴ Engenheiro-agrônomo, Ph.D. em Melhoramento de Plantas, pesquisador aposentado da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

⁵ Engenheira-agrônoma, doutora em Agronomia/Fitopatologia, pesquisadora da Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS.

Termos para indexação: *Hordeum vulgare*, grãos de pólen, citogenética, fertilidade.

Pollen viability and inference of genetic stability in barley genotypes

Abstract – Barley is an important alternative crop for winter farming as it can be used either for animal and/or human food and also for malt production. Biotic and abiotic factors may influence the formation of pollen grains and consequently on the genetic stability of the species. Therefore, we aimed at carrying out the cytogenetic analysis of pollen grains in barley genotypes in order to verify the pollen viability for later use in breeding programs. A set of eleven barley genotypes, from different origins, was used to characterize the pollen viability. The genotypes were sown, in July 2018, in a greenhouse with partially controlled humidity. A total randomized experimental design in blocks was used. Nine ears from each genotype were collected and fixed in Carnoy. The cytological slides were made using three anthers from the same flower, from the middle region of the spike, following the squash technique and stained with DAPI. The number of viable, non-viable pollen grains and their different sizes were analyzed in epifluorescence microscopy. In addition, the diameter of pollen grains, measured in micrometers, was performed for ten cells per slide from the middle region of the spike. The images of the cells were obtained with the Axion Vision Release 4.8.2 software. It was possible to conclude that the evaluated genotypes have genetic stability, with pollen viability above 84% and can be used as male parents in breeding programs of barley.

Index terms: *Hordeum vulgare*, pollen grains, cytogenetics, fertility.

Introdução

A cevada é o quarto cereal de maior importância no mundo, ficando atrás do milho, trigo e arroz. Desde a sua domesticação, a cevada vem sendo alterada geneticamente, com vistas à adaptação a diferentes condições ambientais (Caierão, 2008). Este cereal é uma importante alternativa de cultivo na safra

de inverno, sendo que em 2019 a área cultivada com cevada no Brasil foi de aproximadamente 118 mil hectares e produtividade estimada de 3.612 kg por hectare (Conab, 2020).

Dentre os fatores que podem afetar a qualidade de malte, destacam-se o genótipo, o manejo e o ambiente de cultivo. Por ser fortemente afetada pelo clima, para a produção de malte de boa qualidade, as cultivares de cevada devem se adaptar a diferentes ambientes de cultivo (Miralles et al., 2011), ou seja, a uma série de condições sob as quais organismos e plantas crescem, influenciados pelo local, condições edafoclimáticas, época, práticas culturais e outras variáveis que afetam seu desenvolvimento (Borém, 2001). Contudo, o melhoramento genético por introgressão tem sido um método importante para melhorar a cevada desde a domesticação e continua sendo uma ferramenta chave para expandir a diversidade genética para atender aos desafios atuais e futuros da produção agrícola (Hernandez et al, 2020).

Uma das formas de caracterização de germoplasma é mediante a avaliação de caracteres morfológicos, em que o melhorista analisa visualmente as plantas e estima sua distância genética. Através da variabilidade existente, o melhorista pode escolher como genitores de um cruzamento indivíduos distantes geneticamente, o que contribui para a ampliação da variância genética em populações segregantes. No entanto, ao sofrer influência do ambiente, o fenótipo da planta provoca desvios nas estimativas realizadas (Bered, 1999).

Em virtude de fatores bióticos e abióticos também influenciarem na formação do grão de pólen e na interação genótipo x ambiente, é relevante que em um programa de melhoramento genético vegetal a técnica da viabilidade polínica seja utilizada rotineiramente, a fim de agregar maior conhecimento sobre o material trabalhado (Brambati et al., 2016). Conhecendo as características de cada genótipo disponível no banco de germoplasma é possível consolidar a estrutura básica do programa e o planejamento das recombinações (Borém, 2001).

Os programas de melhoramento genético geralmente cumprem pelo menos três etapas: seleção dos indivíduos que serão cruzados, cuja descendência formará a população-base; seleção dos indivíduos com melhor desempenho, resultantes do cruzamento entre os parentais; e avaliação das progênies em diversos ambientes para analisar a interação com o genótipo (Cargnin

et al., 2006). Especificamente, a análise citogenética é utilizada para avaliar a estabilidade cromossômica da espécie, além de analisar sua fertilidade e, principalmente, para monitorar a transferência entre espécies, auxiliando na seleção de plantas nos programas de melhoramento (Brambati, 2010; Frizon, et al., 2017).

Segundo Zanotto et al. (2009), análises citogenéticas podem ser utilizadas em programas de melhoramento genético, possibilitando determinar o comportamento meiótico dos cromossomos através da análise de grãos de pólen ou micrósporos, com um ou mais micronúcleos. Essa análise permite avaliar algumas características anatômicas e fisiológicas fundamentais para o seu desenvolvimento. Além do mencionado, as análises quanto à presença de micronúcleos em micrósporos permitem inferir sobre a estabilidade da espécie. A consequência é a variação no número e no tamanho de grãos de pólen obtidos a partir da célula-mãe do pólen e, muitas vezes, na formação de grãos de pólen geneticamente desbalanceados e/ou estéreis, uma vez que há perda de material genético (Toniazzi et al., 2018).

Cabe ressaltar que o sucesso da polinização e fertilização das plantas depende de uma série de eventos coordenados a partir da produção de grão de pólen, da sua transferência para o estigma e detalhes da interação com o pistilo. Se alguma dessas etapas falhar, toda a produtividade será afetada (Rehman; Yun, 2006). A análise citogenética também pode auxiliar para avaliar o desenvolvimento das plantas.

De acordo com revisão de Mazzocato (2005), muitos autores mencionam grão de pólen como micrósporo e vice-versa. Entretanto, o micrósporo é o produto da esporogênese em que após a libertação da tétrade na meiose II inicia a vacuolização e início da gametogênese masculina. Ocorre, então, uma divisão mitótica assimétrica, originando o grão de pólen com as células vegetativa (sinfonogênica) e a célula generativa (gametogênica). Posteriormente, ocorre a divisão da célula generativa formando duas células gaméticas, sendo que ao final o andrófito torna-se tricelular.

Neste trabalho realizou-se a análise citogenética de grãos de pólen em genótipos de cevada, com o objetivo de verificar a viabilidade polínica e inferência da estabilidade genética para uso em programas de melhoramento genético.

Material e Métodos

Os genótipos selecionados para análise de viabilidade polínica foram de distintas origens e disponibilizados pelas empresas Ambev e Embrapa Trigo e são destacados na Tabela 1.

Tabela 1. Genótipos selecionados para análise de viabilidade polínica, fornecidos pelas empresas Ambev e Embrapa Trigo.

Genótipo	Fornecedor
ABPR14-38	Ambev
KWS 13/3319	Ambev
2 RB15-0029	Ambev
2 RB15-0125	Ambev
KWS Hazel	Ambev
AAC Synergy	Embrapa
AC Lowe	Embrapa
BRS Brau	Embrapa
BRS Kalibre	Embrapa
BRS Sampa	Embrapa
Planet	Embrapa

Os genótipos tiveram suas sementes semeadas diretamente no solo (sulco de semeadura), manualmente, em casa de vegetação, com umidade parcialmente controlada, em 02 de julho de 2018. Os genótipos foram distribuídos em delineamento experimental de blocos casualizados, com três repetições. Cada bloco foi composto pelos 11 genótipos distribuídos por parcelas formadas por uma linha de três metros de comprimento e espaçamento entre linhas de 0,20 m.

A coleta de espigas foi realizada no estágio anterior ao florescimento: estágio 10-5 da escala Feeks e Large (Large, 1954). Foram coletadas três

espigas, representativas de plantas diferentes, realizadas em ambas as extremidades e no meio de cada parcela, totalizando 33 amostras. Após a coleta, as espigas foram imediatamente fixadas em Carnoy (álcool etílico: ácido acético glacial, 3:1), mantidas em temperatura ambiente por 24 horas e, em seguida, foram transferidas para álcool 70%, sendo armazenadas a uma temperatura de -20 °C.

As lâminas citológicas foram confeccionadas pelo método de esmagamento de anteras e usando as três anteras da mesma flor, oriundas da região mediana da espiga. A coloração foi realizada utilizando-se o fluorocromo 4',6-Diamidine-2'-phenylindole dihydrochloride (DAPI). Foram analisados os primeiros 200 grãos de pólen íntegros por lâmina, por meio do microscópio de epifluorescência da Zeiss (modelo Axioscop 40 FL) e com aumento de 200x. A captura das imagens foi realizada pelo programa Axion Vision Release 4.8.2 (Zeiss).

As variáveis analisadas para viabilidade polínica foram o número de grãos de pólen bi/trinucleados, com quantidade regular de amido e um poro (considerados viáveis); grãos de pólen vazios (inviáveis); grãos de pólen com tamanhos diferentes. Também foi realizada a medida do diâmetro (eixo equatorial) de dez grãos de pólen, em micrômetros, na região central da lâmina, fazendo-se uma média para posterior análise estatística.

As análises estatísticas compreenderam, inicialmente, o teste de normalidade, sendo que para as variáveis com distribuição não-normais foram realizadas transformações para logaritmo ou raiz quadrada, conforme metodologia proposta por Bos e Cox (1969), utilizando-se o Programa Bioestat (Ayres et al., 2007). Posteriormente, as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados e Discussão

A análise de viabilidade polínica demonstrou que os genótipos avaliados estão dentro do padrão esperado para as Triticeae (Tabela 2), havendo elevada porcentagem de grãos de pólen viáveis e poucos com tamanhos diferentes, conforme pode ser observado na Figura 1 que apresenta as três categorias analisadas.

Tabela 2. Grãos de pólen binucleado/trinucleado (viáveis), vazio (inviáveis) e com tamanhos diferentes para análise de viabilidade polínica em função dos genótipos de cevada estudados.

Genótipo	Grãos de pólen					
	Binucleados/ trinucleados (viáveis)		Vazios (inviáveis)		Com tamanhos diferentes	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Planet	187,16	93,5 ^{ns}	8,00	4,0 b	4,83	2,4 ab
BRS Brau	178,16	89,0	17,58	8,7 ab	4,25	2,1 b
KWS Hazel	176,83	88,4	17,58	8,7 ab	5,58	2,7 ab
AC Lowe	175,08	87,5	16,00	8,0 ab	8,91	4,4 ab
BRS Sampa	173,75	86,6	22,16	11,0 ab	4,08	2,0 b
BRS Kalibre	173,33	86,5	21,16	10,5 ab	5,50	2,7 ab
ABPR14-38	173,16	86,5	21,16	10,5 ab	5,66	2,8 ab
2 RB15-0125	172,50	86,2	23,16	11,5 ab	4,33	2,1 ab
AAC Synergy	171,00	85,5	20,58	10,2 ab	8,41	4,2 ab
2 RB15-0029	169,91	84,9	19,08	9,5 ab	11,00	5,5 a
KWS 13/3319	168,50	84,2	27,16	13,5 a	4,33	2,1 ab

* Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. ns Não significativo, . Nº: Número.

A estimativa da viabilidade polínica é importante para a análise de fluxo gênico em plantas, pois avalia o potencial de reprodução masculina da espécie (Frescura et al., 2012). Desta forma, é possível estudar a variabilidade genética entre populações ou acessos de uma mesma espécie caso ocorra variação da viabilidade polínica entre eles (Kuhn, 2015).

Para a variável grão de pólen bi/trinucleado não foi observada diferença significativa entre os genótipos analisados, que variaram de 84,3% (linhagem KWS 13/3319) a 93% (Planet) de pólen viáveis, (Figura 2), consequentemente KWS 13/3319 e Planet foram os únicos genótipos que se diferenciaram quanto ao número de pólen vazios, com 13,5% e 4% de grão de pólen inviáveis, respectivamente.

Na comparação da variável 'grão de pólen com tamanhos diferentes', foi possível observar diferenças estatísticas entre o genótipo 2 RB15-0029 e os genótipos BRS Brau e BRS Sampa, que apresentaram menor quantidade de

grãos de pólen com tamanhos diferentes. Os demais apresentaram valores semelhantes.

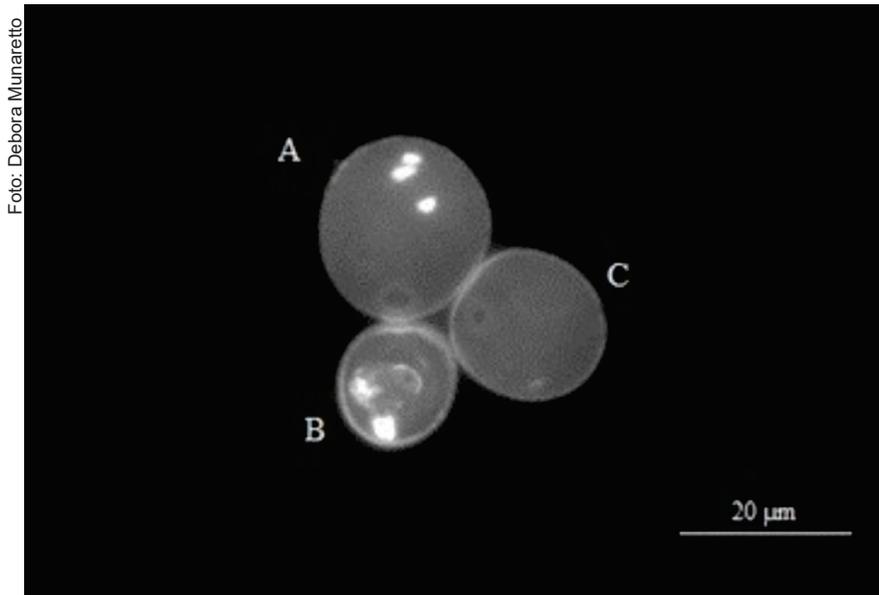


Figura 1. Estruturas celulares observadas em cevada com microscopia de epifluorescência: grãos de pólen trinucleado (A); grãos de pólen com tamanhos diferente (B) e grão de pólen vazio (C).

A viabilidade polínica pode variar consideravelmente entre indivíduos de uma mesma espécie ou entre amostras dos mesmos indivíduos (Tecchio et al., 2006). Apesar desta variabilidade não ter sido observada neste trabalho, provavelmente devido ao fato dos genótipos estarem estáveis do ponto de vista citogenético, Zanotto et al. (2009) obtiveram em triticales, porcentagem média de grãos de pólen viáveis entre 68,6% e 98,8%.

Entretanto, Toniazzo et al. (2018) observaram que de 67 acessos de trigos sintéticos avaliados na fase de tétrades, 15 foram considerados estáveis (porcentagens acima de 90% de células viáveis) e 52 acessos com porcentagens entre 46% e 89%, sendo considerados inviáveis e instáveis. Ressalta-se que, quando se analisa a viabilidade polínica nas células precursoras de grãos de pólen nos híbridos 'recém-sintetizados' de trigo, o rigor das análises deve ser aumentado, uma vez que esse tipo de germoplasma é citogeneticamente diferente em comparação à cevada que apresenta apenas um genoma.

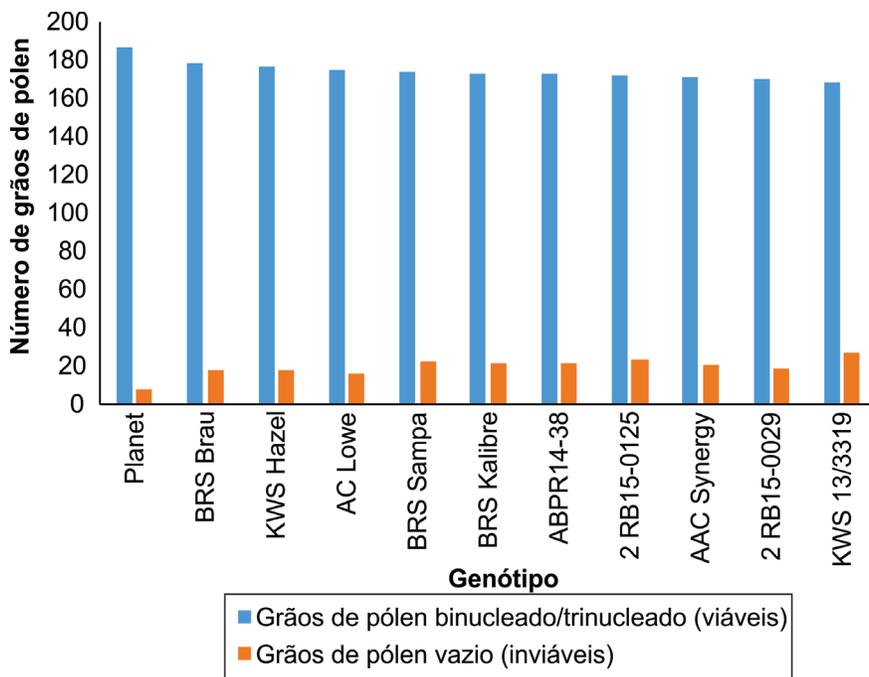


Figura 2. Comparação de grãos de pólen viáveis e inviáveis em genótipos de cevada analisados.

Brammer et al. (2019) destacam que, quando as análises são realizadas em tétrades (fase anterior à de grãos de pólen), onde a maioria dos genótipos apresentam viabilidade polínica, há forte indicativo de que a meiose foi regular. Como resultado, ocorrerá a fiel transmissão das características hereditárias nas progênes e as cultivares podem ser utilizadas em blocos de cruzamento nos programas de melhoramento, pelo fato da estabilidade genética.

Além do mencionado, a estreita relação genética entre variedades cultivadas, como as de trigo, aveia e cevada, e a dificuldade de se efetuar grande número de cruzamentos, especialmente em autógamias, sugerem a necessidade de cruzamentos entre genótipos que apresentem divergência genética, mas para isso é imprescindível que estejam previamente caracterizados. O cruzamento entre tipos geneticamente distintos pode contribuir para a ampliação da variância genética em populações segregantes (Barbosa Neto; Bered, 1998).

A eficácia de cruzamentos depende diretamente de uma porcentagem elevada de grãos de pólen viáveis, indicando alta fertilidade masculina

(Tecchio et al., 2006). A análise citogenética é uma importante ferramenta na seleção de genótipos estáveis, contribuindo com o programa de melhoramento genético (Rosa et al., 2006). Os resultados do presente trabalho indicaram que os genótipos estudados podem ser utilizados como fonte genética em um programa de melhoramento, pois se demonstraram estáveis quanto à análise da viabilidade polínica. Segundo Auler et al. (2006) tal fato permite aumentar a possibilidade de formação de diferentes combinações de alelos, podendo auxiliar na variabilidade genética e conservação das espécies. Isso porque a cevada representa um excelente exemplo para as introgressões, por ser considerada um modelo genético diploide para a tribo *Triticea*, além de uma cultura com grande versatilidade de cultivo (Hernandez, et al., 2020).

Como informação adicional também foi realizada a análise de diâmetro de grão de pólen, em micrômetros (μm) (Figura 3), porém não foi observada diferença estatística entre as médias das cultivares. Para este parâmetro é considerado que os grãos de pólen da família das Poaceae, possuem forma esférica e tamanho que varia entre 20 e 70 μm (Poças, 2004). Portanto, neste trabalho foi possível verificar que os genótipos analisados possuem grãos de pólen dentro do padrão esperado.

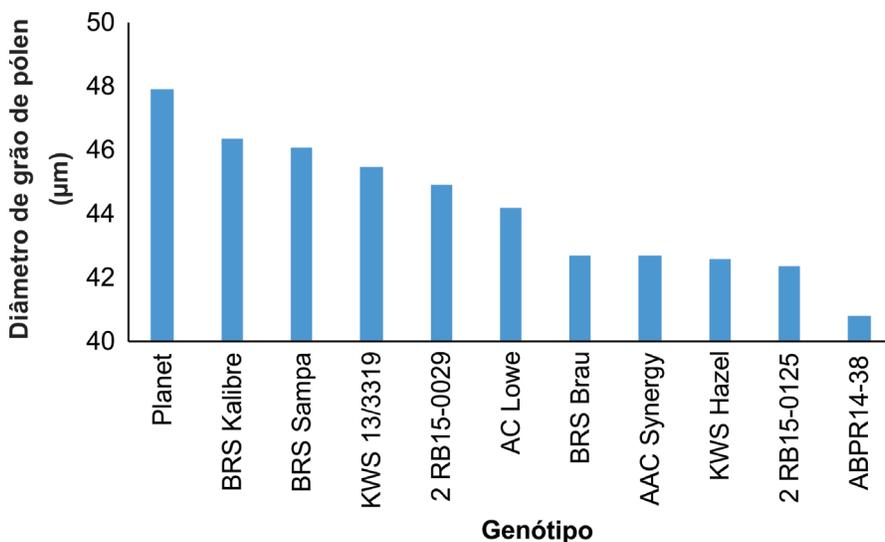


Figura 3. Medida em micrômetro quanto ao diâmetro dos grãos de pólen para os diferentes genótipos de cevada avaliados.

Conclusões

Os genótipos de cevada avaliados citogeneticamente apresentam viabilidade polínica acima de 84% e, por consequência, elevada estabilidade genética, podendo ser utilizados em retrocruzamentos ou seleção assistida nos programas de melhoramento genético da cevada.

Agradecimentos

Os autores agradecem à Embrapa, pela infraestrutura e pelo auxílio das empregadas Valdirene Volpato e Andréa Morás. Ao CNPq pela concessão da bolsa de mestrado, modalidade II, para a autora Debora Munaretto.

Referências

- AULER, N. M. F.; BATTISTI, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) DC.] do Rio Grande do sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Medicinai**, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2006.
- AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D. L.; SANTOS, A. de A. S. dos. **Bioestat 5.0**: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém, PA: Sociedade Civil Mamirauá, 2007.
- BARBOSA NETO, J. F.; BERED, F. Marcadores moleculares e diversidade genética no melhoramento de plantas. In: MILACH, S. C. K. (Ed.) **Marcadores moleculares em plantas**. Porto Alegre: Ed. UFRGS, 1998. Cap. 4, p. 29-40.
- BERED, F. Variabilidade genética: ponto de partida para o melhoramento de plantas. In: SACCHET, A. M. O. F. **Genética, para que te quero?** Porto Alegre: Ed. UFRGS, 1999. p. 99-104.
- BORÉM, A. **Melhoramento de plantas**. 3. ed. Viçosa, MG: Editora UFV, 2001. 500 p.
- BRAMBATI, A. **Viabilidade polínica e hibridização genômica in situ aplicada ao melhoramento de triticale**. 2010. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade de Passo Fundo, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Passo Fundo, 2010. Disponível em: <http://tede.upf.br:8080/jspui/handle/tede/495>. Acesso em: 14 jan. 2021.
- BRAMBATI, A.; BRAMMER, S. P.; WIETHOLTER, P.; NASCIMENTO Jr. A. do. Estabilidade genética em triticale estimada pela viabilidade polínica. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 83, e0802014, p. 1-7, 2016. DOI 10.1590/1808-1657000802014.
- BRAMMER, S. P.; FRIZON, P.; URIO, E. A. Caracterização citogenética em genótipos de trigo: presença de micronúcleos e viabilidade polínica. In: SILVA NETO, B. R. da (Org) **Inventário de recursos genéticos**. Ponta Grossa: Atena Editora, 2019. Cap. 1, p. 1-13. Disponível em: <https://www.atenaeditora.com.br/wp-content/uploads/2019/07/E-BOOK-Inventario-de-Recursos-Geneticos-1.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2020.

- CAIERÃO, E. Cevada: história e evolução. In: BARBIERI, R. L.; STUMPF, E. R. T. (Ed.). **Origem e evolução de plantas cultivadas**. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2008. p. 289-311. Disponível em: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/821797/1/ID100272008PLp289cevada.pdf>. Acesso em: 11 jun. 2019.
- CARGNIN, A.; SOUZA, M. A. de.; CARNEIRO, P. C. S.; SOFIATTI, V. Interação entre genótipos e ambientes e implicações em ganhos com seleção em trigo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 41, n. 6, p. 987-993, 2006. DOI 10.1590/S0100-204X2006000600014.
- CONAB. **Safra brasileira de grãos**. 2020. Disponível em: <https://www.conab.gov.br/info-agro/safras/graos>. Acesso em: 16 set. 2020.
- FRESCURA, V.; LAUGHINGHOUSE IV, H. D.; CANTO-DOROW, T. S. do; TEDESCO, S. B. Pollen viability of *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae) using different staining methods. **Biocell**, v. 36, n. 3, p. 143-145, Dec. 2012.
- FRIZON, P.; BRAMMER, S. P.; LIMA, M. I. P. M.; CASTRO, R. L. de; DEUNER, C. C. Genetic stability in synthetic wheat accessions: cytogenetic evaluation as a support in breeding programs. **Ciência Rural**, v. 47, n. 4, e20160314, Feb. 2017. DOI 10.1590/0103-8478cr20160314.
- HERNANDEZ, J.; MEINTS, B.; HAYES, P. Introgression breeding in barley: perspectives and case studies. **Frontiers in Plant Science**, v. 12, June 2020. DOI 10.3389/fpls.2020.00761.
- LARGE, E. C. Growth stages in cereals illustration of the Feeks scales. **Plant Pathology**, v. 3, n. 4, p. 128-129, Dec. 1954. DOI 10.1111/j.1365-3059.1954.tb00716.x.
- KUHN, A. W. **Viabilidade polínica, genotoxicidade, efeito antiproliferativo e compostos fenólicos de *Peltodon longipes* Kunth ex benth. (Lamiaceae)**. 2015. 58p. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) - Universidade Federal de Santa Maria, Programa de Pós-Graduação em Agrobiologia. Disponível em: <https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/4890/KUHN%2c%20ANDRIELLE%20WOUTERS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 16 jan. 2021.
- MAZZOCATO, A. C. **Cultura de anteras e embriogênese de genótipos selecionados de cevada (*Hordeum vulgare* L. ssp. *vulgare*)**. 2005. Tese (Doutorado em Ciências/Botânica) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Programa de Pós-Graduação em botânica, 2005. Disponível em: <https://lume.ufrgs.br/handle/10183/6095>. Acesso em: 15 jan. 2021.
- MIRALLES, D. J.; ARISNABARRETA, S.; ALZUETA, I. Desarrollo ontogênico y generación del rendimiento. In: MIRALLES, D. J.; BENECH-ARNOLD, R. L.; ABELEDO, G. **Cebada cervecera**. Buenos Aires: Gráfica, 2011. p.1-34.
- POÇAS, M. E. P. **Contribuição da palinologia para a caracterização paleológica e paleoclimática do cenozoico a norte do Douro**. 2004. Dissertação (Mestrado em Ciências do Ambiente) - Universidade do Minho, Departamento de Ciências da Terra, Braga, 2004. Disponível em: <<http://repositorium.sdum.uminho.pt/handle/1822/577>>. Acesso em: 14 jun. 2019. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1822/577>. Acesso em: 15 jan. 2021.
- REHMAN, S.; YUN, S. J. Developmental regulation of K accumulation in pollen, anthers, and papillae: are anther dehiscence, papillae hydration, and pollen swelling leading to pollination and fertilization in barley (*Hordeum vulgare* L.) regulated by changes in K concentration? **Journal of Experimental Botany**, v. 57, n. 6, p. 1315-1321, March 2006. DOI 10.1093/jxb/erj106.
- ROSA, P. S.; CORRÊA, M. G. S.; NASCIMENTO JÚNIOR, A.; BRAMMER, S. P.; VIÉGAS, J. Análise de tétrades e grãos de pólen em triticales hexaplóide. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO

CIENTÍFICA, 15.,; ENCONTRO DE PÓS-GRADUAÇÃO, 8., 2006. **Anais...** Pelotas: UFPel, 2006. Disponível em: http://www2.ufpel.edu.br/cic/2006/resumo_expandido/CB/CB_00895.pdf. Acesso em: 15 jan. 2021.

TECCHIO, V. H.; DAVIDE, L. C.; PEDROZO, C. A.; PEREIRA, A. V. Viabilidade do grão de pólen de acessos de capim-elefante, milheto e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milheto). **Acta Scientiarum Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 7-12, 2006. DOI 10.4025/actascibiolsci.v28i1.1052.

TONIAZZO, C.; BRAMMER, S. P.; CARGNIN, A.; WIETHÖLTER, P. **Ocorrência de micronúcleos e inferência da instabilidade genética em acessos de trigos sintéticos**. Passo Fundo: Embrapa Trigo, Abr. 2018. (Embrapa Trigo. Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento online, 88). Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/177641/1/ID44329-2017BPDO88.pdf>. Acesso em: 23 nov. 2020.

ZANOTTO, M.; BRAMMER, S. P.; NASCIMENTO JUNIOR, A. do; SCAGLIUSI, S. M. Viabilidade polínica como seleção assistida no programa de melhoramento genético de tritcale. **Ciências e Agrotecnologia**, v. 33, n. spe, p. 2078-2082, 2009. DOI 10.1590/S1413-70542009000700064.

Embrapa

Trigo

MINISTÉRIO DA
AGRICULTURA, PECUÁRIA
E ABASTECIMENTO



PÁTRIA AMADA
BRASIL
GOVERNO FEDERAL