



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS  
INSTITUTO DE BIOLOGIA  
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



## **MICROSPOROGÊNESE DE GENÓTIPOS DE TRITICALE HEXAPLÓIDE**

**PATRÍCIA SANTOS DA ROSA FENÇON**

MONOGRAFIA DE CONCLUSÃO DE CURSO



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS**  
Campus Universitário s/nº  
Caixa-postal 354 CEP 96010-900  
Pelotas – RS – Brasil

2007

**PATRÍCIA SANTOS DA ROSA FENÇON**

**MICROSPOROGÊNESE DE GENÓTIPOS DE TRITICALE HEXAPLÓIDE**

Monografia apresentada à  
Universidade Federal de Pelotas,  
sob a orientação da Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Judith  
Viégas, como parte das exigências  
do curso de Bacharelado em  
Ciências Biológicas, área de  
concentração em Meio Ambiente.

**Orientadora: Judith Viégas**

Pelotas, agosto de 2007

**Banca Examinadora:**

Judith Viégas

Maria Goreti Senna Corrêa

Alfredo do Nascimento Junior

Maribel da Silva Mendes

**Dedico**

**A Deus pela sua fidelidade**

**Ao meu marido**

**Aos meus pais**

**À Maria Goreti Senna Corrêa pelos primeiros passos no laboratório**

**À minha orientadora Judith Viégas**

## **AGRADECIMENTOS**

**A Deus, por ter me ajudado a ingressar na Universidade e pela vitória de estar me formando, não tenho palavras para agradecer sua bondade;**

**Ao meu marido Samir, pelo amor e paciência nos momentos difíceis;**

**Aos meus pais, pelo apoio e dedicação;**

**À amiga Maria Goreti Senna Corrêa, pela amizade, co-orientação e ajuda durante a execução deste trabalho;**

**À orientadora Judith Viégas, pela orientação, amizade e apoio;**

**Aos amigos João Carlos Macedo e Álvaro Moreira Martins, pela dedicação, amizade e colaboração.**

**Aos funcionários, professores e estagiários do Departamento de Zoologia e Genética do Instituto de Biologia da UFPel, pela amizade;**

**À Embrapa Trigo de Passo Fundo, pelo material imprescindível à realização deste trabalho.**

## Resumo

FENÇON, Patrícia Santos da Rosa. **Microsporogênese de genótipos de triticales hexaplóide**. 2007. Trabalho Acadêmico (Graduação) – Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pelotas.

O triticales hexaplóide ( $2n = 42$ ) é um híbrido produzido pelo homem através do cruzamento entre o trigo (*Triticum aestivum* L.) e o centeio (*Secale cereale* L.) e, por isto, denominado de X *Triticosecale* Witmack. Este novo híbrido tem a possibilidade de ser amplamente utilizado nos campos agrícolas e no mercado alimentício, devido ao seu conteúdo protéico ser superior ao do trigo e, ainda, por possuir um melhor balanceamento de aminoácidos. Apesar do triticales hexaplóide possuir vantagens sobre o trigo e o centeio, ele pode apresentar inúmeras anomalias meióticas, as quais prejudicam o desenvolvimento satisfatório das células mãe de pólen. O presente trabalho teve como objetivo analisar a microsporogênese de doze variedades hexaplóides de triticales (PFT 0401, BRS Ulisses, BRS Minotauro, PFT 0407, PFT 0419, PFT 0401, PFT 0418, PFT 0417, Embrapa 53, BRS Netuno, PFT 0418, PFT 924), verificando a regularidade na divisão meiótica, bem como analisar as tétrades e o grau de viabilidade dos grãos de pólen. A seleção de genótipos mais estáveis é um fator importante para que o conjunto gênico seja transmitido de maneira completa e balanceada, pelo pólen ou pelo óvulo, o que pode vir a auxiliar o melhoramento dessa espécie, utilizando-os como parentais em cruzamentos ou gerando novas cultivares melhor adequadas aos padrões vigentes na legislação brasileira de sementes.

**Palavras-chave:** X *Triticosecale*. Meiose. Tétrades. Grãos de pólen.

## Lista de Figuras

	<b>Página</b>
<b>Figura 1</b> Aplicação de colchicina para duplicação dos cromossomos.....	39
<b>Figura 2</b> Cruzamento entre os parentais do triticale.....	40
<b>Figura 3</b> Tipos de triticale .....	41
<b>Figura 4</b> Telófase I normal (PFT 0407).....	42
<b>Figura 5</b> Metáfase II normal (PFT 0407).....	42
<b>Figura 6</b> Telófase II normal (PFT 0407).....	42
<b>Figura 7</b> Metáfase I com cromossomos fora da placa equatorial.....	42
<b>Figura 8</b> Metáfase II com cromossomos fora da placa equatorial (PFT 0407) .....	43
<b>Figura 9</b> Anáfase I com ponte (Embrapa 53).....	43
<b>Figura 10.</b> Anáfase II com ponte (PFT 0407).....	43
<b>Figura 11.</b> Telófase I com cromossomos retardatários (BR1).....	43
<b>Figura 12.</b> Telófase II com cromossomos retardatários (BR1).....	44
<b>Figura 13</b> Telófase II com pontes (PFT 0401).....	44
<b>Figura 14</b> Tétrade anormal com micronúcleos (BR1).....	44
<b>Figura 15</b> Tétrade normal.....	44
<b>Figura 16</b> Pólen de triticale.....	46

## Lista de Tabelas

	Pagina
<b>Tabela 1</b> Classificação de espécies de trigo ( <i>triticum</i> L.), citada por Hancock (2004) e baseada em Van Slagern (1994).....	19
<b>Tabela 2</b> Composição química do grão de triticales, segundo Universidade de Wisconsin.....	26
<b>Tabela 3</b> Tabela comparativa entre a composição química média dos grãos de cereais em base seca.....	27
<b>Tabela 4</b> Análise da variação de células mãe de pólen (CMP) normais em meiose I de doze genótipos triticales hexaplóide.....	47
<b>Tabela 5</b> Análise da variação de células mãe de pólen (CMP) normais em meiose II de doze genótipos de triticales hexaplóide.....	47
<b>Tabela 6</b> Desdobramento pelo teste de Duncan das médias de células normais em meiose I de doze genótipos de triticales hexaplóide .....	48
<b>Tabela 7</b> Desdobramento pelo teste de Duncan das médias de células normais em meiose II de doze genótipos de triticales hexaplóide.....	49
<b>Tabela 8</b> Análise de variação do número de células normais em fase de tétrades de doze genótipos de triticales hexaplóide.....	50
<b>Tabela 9</b> Desdobramento pelo teste de Duncan das médias de células normais em Tétrades de doze genótipos de triticales hexaplóide.....	50
<b>Tabela 10</b> Desdobramento pelo teste de Duncan das médias de viabilidade de grãos de pólen em doze genótipos de triticales hexaplóide .....	51
<b>Tabela 11</b> Análise do número de grãos de pólen viáveis e inviáveis de doze genótipos de triticales hexaplóide.....	51



## Sumário

	Página
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....11</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....15</b>
2.1	Família Poaceae.....15
2.2	Gênero Secale .....16
2.3	Gênero Triticum.....17
2.4	Híbrido Intergenérico Triticosecale.....20
2.5	Hibridização.....28
2.6	Meiose.....30
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....33</b>
3.1	Preparo de material para observação de células mãe de pólen.....33
3.2	Análise de microsporogênese dos genótipos de triticales.....33
3.2.1	Técnica de preparo de lâminas de células mãe de pólen.....33
3.3.	Análise de microsporogênese dos genótipos de triticales.....34
3.3.1	Análise das Fases de divisão meiótica.....34
3.3.2	Estudo das células em fase de tétrades.....35
3.3.3	Estudo dos grãos de pólen.....35
3.4	Microfotografias.....35
3.5	Análise estatística.....35
<b>4</b>	<b>RESULTADO E DISCUÇÕES.....37</b>
4.1	Análise de microsporogênese da divisão meiótica.....37
4.1.1	Análise das fases de divisão meiótica.....37
4.1.2	Análise descritiva.....37
4.1.3	Análise estatística Células de Mãe de Pólen.....45
4.1.4	Análise estatística de células em fase de tétrades.....45

<b>4.1.5</b>	<b>Análise estatística de grãos de pólen.....</b>	<b>46</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>52</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>54</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>55</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A primeira referência bibliográfica sobre um triticales fértil aparece somente no ano de 1891, ano em que o alemão Wilhelm Rimpau obteve os primeiros triticales do cruzamento entre o trigo hexaplóide e o centeio diplóide. O nome triticales foi elaborado tomando a primeira parte da palavra *Triticum* (gênero ao qual pertence o trigo) e a terminação de *Secale* (gênero ao qual pertence o centeio). Esta denominação foi utilizada pela primeira vez em 1935 e foi proposta pelo melhorista austríaco Erich Tschemark-Seisenegg, um dos redescobridores das leis de Mendel. Em 1971, Baum sugeriu o nome latino genérico de **X** *Triticosecale* Witmack, que é aceito até hoje (ROYO, 1992).

No Brasil, o estudo deste híbrido sintético teve início em 1961, sendo que, a partir de 1969, os trabalhos de pesquisa do triticales foram ampliados. Em 1982, o cultivo comercial expandiu-se com o objetivo de usá-lo para consumo humano. A cultura desse cereal tornou-se alternativa bastante interessante nas regiões de cultivo de trigo do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Sul do Pará, pois é utilizada pelos agricultores como opção de cultura de inverno (FALCÃO, 1978; ROCHA et al., 1999)

O triticales (**X** *Triticosecale* Witmack) pertence à família Poaceae, subfamília Pooidea, Tribo Triticeae e subtribo Triticineae. O triticales foi o primeiro cereal sintetizado pelo homem, que tinha como objetivo combinar as melhores características de seus parentais: o trigo (*Triticum aestivum* L.) e o centeio (*Secale cereale* L.), visando produzir um híbrido que possuísse as melhores qualidades do trigo, tais como elevado potencial de rendimento, grãos bem formados e de alto valor energético, elevado índice de colheita, maior capacidade de afilhamento, baixa estatura, resistência à germinação na espiga e qualidade panificadora. Embora não tenha sido possível colocar todas as características desejadas, o triticales possui espiga grande e com muitos grãos, alta produção de biomassa, melhor crescimento e desenvolvimento em baixas temperaturas, tolerância à seca, melhor resistência a doenças, grãos com maior teor de

lisina e com alto valor protéico do centeio. (GUPTA; PRIYADARSHAN, 1982; NASCIMENTO, 2003).

O triticales foi considerado como uma das culturas com maior potencial agrônômico para ocupar parte da área não aproveitada durante o inverno no sul do Brasil, principalmente pelo elevado rendimento e resistência a doenças (ROSINHA et al., 1983). Apesar dos cultivares do triticales serem mais competitivos em relação aos outros cereais ainda possuem deficiências em algumas características agrônômicas tais como a suscetibilidade a algumas doenças (giberela, brusone, manchas foliares e viroses), a germinação em pré-colheita e formação deficiente do grão, deficiências estas que podem ser corrigidas e melhoradas através de novos ciclos de melhoramento (NASCIMENTO, 2003).

A rusticidade da planta a torna resistente ao acamamento e tolerante à acidez nociva do solo; possui grande capacidade de crescimento, em locais onde outras espécies de cereais não se desenvolveriam ou teriam crescimento reduzido; condições que lhe conferem rentabilidade econômica e ambiental, por apresentar, mesmo em condições adversas a outras culturas, uma produção elevada de matéria seca e de grãos, garantindo a sustentabilidade do sistema agrícola, principalmente em pequenas propriedades carentes de recursos para investimentos na condução de cultivos (GUPTA; PRIYADARSHAN, 1982; NASCIMENTO, 2003 b). As cultivares brasileiras são aristadas, com pilosidade nas glumas e no ráquis. As espigas possuem 20 a 30 espiguetas com 3 a 5 grãos mais longos que os do trigo e com diâmetro maior que os do centeio (NASCIMENTO, 2003).

O principal uso desta espécie em todos os países, principalmente no Brasil, é para a alimentação animal, principalmente de suínos e aves, podendo substituir, em até 75%, o milho utilizado em rações, obtendo o mesmo ganho de peso e conversão alimentar, comprovados em diversos trabalhos publicados. Paralelamente, vários mercados foram abertos no país para o uso da farinha de triticales diretamente na alimentação humana, como em massa para pizzas e em misturas (mesclas) com farinha de trigo para a fabricação de biscoitos e macarrão (NASCIMENTO et al, 2003).

Em recente revisão sobre o passado, presente e futuro do triticales, Oettler (2005) explicou que o híbrido interespecífico triticales foi sintetizado utilizando o centeio (*Secale*

*cereale* L.,  $2n=2x=14$ , complemento cromossômico RR) como parental masculino e como parental feminino uma espécie de trigo (*Triticum* ssp, com ploidias e complementos cromossômicos diversos). Se o cruzamento for feito com o trigo comum, por exemplo, (*Triticum aestivum* L.,  $2n=6x=42$ , complemento cromossômico AABBDD) será originada uma planta anfigaplóide ABDR; se for com o trigo duro (*Triticum durum* L.,  $2n=4x=28$ , complemento cromossômico AABB), originar-se-á um anfigaplóide ABR, ambos estéreis. Estas plantas, quando duplicadas com colchicina, darão origem a plantas anfigaplóides chamadas **triticales primários** (ou seja, o octoplóide AABBDDRR,  $2n=8x=56$  e o hexaplóide AABBRR,  $2n=6x=42$ ). Os **triticales secundários** resultarão do cruzamento de triticales primários entre si ou de triticales primários com trigo ou com centeio.

Segundo Royo (1992), os triticales secundários, resultantes do cruzamento de triticales primários entre si, são chamados de **triticales secundários completos** (no exemplo,  $2n=6x=42$ , AABBRR) ou do cruzamento de triticales primários com o trigo ou com centeio, são chamados de **triticales secundários substituídos** (no exemplo, cruzado com trigo hexaplóide  $2n=6x=42$ , AABBDR). Para saber, com certeza, se o triticale é do tipo completo ou substituído há necessidade da análise citogenética, no entanto, algumas características fenotípicas como a altura e a forma das espigas podem dar uma idéia da origem dos triticales. Os triticales são completos quando se apresentam mais semelhantes ao centeio e são substituídos quando são mais parecidos com o trigo. Alguns triticales, no entanto, apresentam aspecto intermediário, sendo muito difícil classificá-los. Os triticales cultivados atualmente são, geralmente, hexaplóides secundários.

De acordo com as revisões de Gupta e Priyadarshan (1982) e Oettler (2005), a extrema instabilidade meiótica, a alta frequência de aneuploidia, a reduzida fertilidade e a ocorrência de grãos enrugados são sérios problemas reprodutivos dos triticales que, no entanto, são amenizados nos cultivares de triticales secundários e de linhagens hexa e octoplóides mais avançadas.

A elevada instabilidade meiótica, associada às anormalidades genéticas e/ou aberrações cromossômicas, que resultam na formação de plantas atípicas, macho-estéreis ou incapazes de formação de grãos pode prejudicar a obtenção dos padrões

mínimos exigidos para a produção de sementes. É necessário que somente linhagens que possuam a devida estabilidade de produção de plantas típicas sejam avançadas no processo de melhoramento. A seleção de genótipos mais estáveis pode vir a auxiliar o melhoramento dessa espécie, utilizando-as como parentais em cruzamentos ou gerando novas cultivares melhor adequada aos padrões vigentes na legislação brasileira de sementes.

Tendo em vista a instabilidade meiótica verificada em cultivares de triticales, objetivou-se verificar o comportamento meiótico de alguns genótipos avançados de triticales hexaplóides e analisar o número de micrósporos formados nas células mãe de pólen em fase de tétrade e a viabilidade dos grãos de pólen utilizados no programa de melhoramento genético da Embrapa Trigo de Passo Fundo, RS.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Família Poaceae

Segundo Chase e Sendulsky (1991), as poáceas são plantas herbáceas ou lenhosas, com caules arredondados ou achatados, ocos ou sólidos, sempre com as juntas sólidas, chamados de nós e entrenós, parte do colmo que fica entre dois nós. Essas gramíneas são constituídas de folhas paralelinérvias, distintas, isto é, nascem em cada nó, em duas séries alternadas ao longo do colmo e são compostas de duas partes: lâmina foliar, que geralmente é linear, em forma de fita plana, dobrada ou com margens enroladas, e a bainha, que envolve o colmo como um tubo fendido de um lado, de cima para baixo. Na junção da lâmina com a bainha, na parte interior, há um pequeno apêndice, a lígula, que é comumente membranáceo, porém, às vezes, está reduzido a um anel de pêlos, sendo raramente ausente. As flores são pequenas, inconspícuas, apresentando um único pistilo e três estames. O pistilo possui um ovário unilocular, de 2 a 3 carpelos, com apenas um óvulo e dois estiletos, cada um com o estigma plumoso. Os estames apresentam filetes longos e delicados e as anteras possuem dois sacos polínicos. Na parte inferior do pistilo, há duas ou três escamas minúsculas, as lodículas, que se tornam túrgidas, durante a floração e forçam as escamas do involúcro se abrirem. Cada flor nasce na axila e são envolvidas por duas brácteas, uma pequena de coloração verde, a lema, e uma segunda bráctea, a pálea. O fruto é uma cariopse constituída de um pequeno embrião, que se acha na base da massa do endosperma amiláceo.

## 2.2 Gênero *Secale*

O centeio (*Secale cereale*) é um cereal que apresenta características rústicas, o que lhe confere adaptação a ambientes de climas frios ou secos, em solos arenosos e pouco férteis. Pertence à família Poaceae, é originário do sudoeste da Ásia e, mundialmente, ocupa o oitavo lugar entre os cereais, sendo especialmente cultivado no norte e no centro da Europa. Os países que mais cultivam centeio são a Rússia, Polônia, Alemanha, Bielorrússia e Ucrânia, os quais juntos são responsáveis por 81% da área mundial cultivada desse cereal. O centeio possui uma ampla adaptação, sendo cultivado até no círculo Ártico, em altitudes de 4.300 metros acima do nível do mar. Possui fecundação cruzada e apresenta sistema radicular profundo e agressivo, o que lhe permite a absorção de água e de nutrientes indisponíveis a outras espécies. O centeio foi introduzido no Brasil através dos imigrantes poloneses e alemães e, até hoje, seu cultivo é realizado por descendentes europeus. A cultura desse cereal destina-se basicamente para consumo humano e animal e para adubação verde. É uma espécie tolerante a solos ácidos, indicada para a produção de alimentos dietéticos e pastoreio nas regiões mais frias do sul do Brasil. Nos últimos 50 anos, a extinção de moinhos coloniais de centeio, a redução nas pesquisas, o fim do subsídio fornecido ao trigo e a incidência de doenças foram os maiores motivos para a redução da área cultivada no Brasil (NASCIMENTO; BAIER, 2004).

O centeio possui proteínas, fibras, cálcio, carboidratos, ferro, beta-caroteno, riboflavina, tiamina e niacina, como constituintes químicos. Tem como propriedade medicinal a ação antiinflamatória, refrescante e energética, além de possuir propriedades emolientes e nutrientes, a farinha de seus grãos é indicada como alimento, para períodos de convalescenças e desnutrição, e na forma de cataplasma, para abscessos e furúnculos. Na Alemanha, a maioria dos pães é produzida com farinha de centeio. Se os grãos forem consumidos contendo fitopatógenos, podem causar danos psíquicos, físicos e levar à morte (RECANTO, 2004).

A espécie *Secale cereale* apresenta uma grande variabilidade genética tanto a nível interpopulacional como intrapopulacional. Seu complemento somático é de 14



cromossomos, ou seja, 7 pares de cromossomos pertencentes a um único genoma, denominado de genoma R (FALCÃO, 1978; FIGUEIREDO, 1989). Segundo Spencer e Hawkes (1980), citado por Hancock (2004), existem três espécies de centeio: *Secale cereale* L., *Secale montanum* Gussh. e *Secale sylvestre* Host. A espécie *Secale cereale*, para muitos cientistas teve sua origem a partir do *secale montanum* Gussh. Estas duas espécies diferem entre si por duas translocações recíprocas, envolvendo três pares de cromossomos, citologicamente semelhantes.

### **2.3 Gênero *Triticum***

O trigo teve sua origem a partir de três espécies ancestrais (*Triticum monococum*, *Aegilops squarrosa* e possivelmente, *Aegilops speltoides*), num processo iniciado naturalmente e aprimorado pelos agricultores primitivos (GUERRA, 1988; JOLLY, 1998; HANCOCK, 2004)

A família à qual o trigo pertence é a das gramíneas, a família Poaceae, tribo Triticeae e subtribo Triticineae (GUERRA, 1988; JOLLY, 1998; HANCOCK, 2004).

Uma das espécies mais estudadas e cultivadas no mundo é a espécie *Triticum aestivum*, que se constitui em um dos cereais de estação fria de maior importância econômica, assim como científica e tecnológica. O trigo possui um elevado grau de adaptabilidade demonstrado pela capacidade de ser cultivado sob as mais variadas condições ambientais e pela grande capacidade de produtividade de grãos, devido provavelmente ao nível de ploidia. A cultura do trigo obteve grande expansão a partir dos anos de 7.000 a 9.000 a.C, período em que foi domesticado nas lavouras do sudoeste do continente Asiático, sendo que atualmente a variabilidade encontrada em todo o mundo é de aproximadamente 17.000 cultivares. Em 1934, o trigo foi introduzido no Brasil, na capitania de São Vicente (atual São Paulo), e o seu consumo era destinado, quase que exclusivamente, à panificação e à fabricação de massas (BRAMER, 2003).

Segundo revisão de Oliveira e Pandolfi (1995), o conhecimento da citogenética das plantas facilita o entendimento da origem e evolução de uma cultura e permite ao

melhorista uma melhor manipulação genética do seu material, contribuindo assim para o aumento de produção e adaptação da espécie em melhoramento às diversas condições ambientais.

Hancock (2004), baseado no trabalho de Van Slageren, apresenta uma classificação das espécies de trigo (tab. 1), conforme a ploidia, (diplóides, tetraplóides e hexaplóides) e de acordo com o tipo (cultivado ou não). Segundo Moraes-Fernandes (1985) e Guerra (1988), o cruzamento entre *Triticum monococcum* ( $2n = 14 AA$ ) e *Ae. speltoides* ( $2n = 14 BB$ ) deram origem ao *Triticum durum* e ao *Triticum dicoccoides* ( $2n = 28 AABB$ ) e este, devido a uma mutação gênica, originou o *Triticum dicoccum* ( $2n = 28 AABB$ ). Do cruzamento entre *Triticum dicoccum* ( $2n = 28 AABB$ ) com *Ae. Squarrosa* ( $2n = 14 DD$ ) originouse o *Triticum spelta* ( $2n = 42 AABBDD$ ) que, por mutação, gerou o *Triticum aestivum* ( $2n = 42 AABBDDD$ ).

Para Gill e Kimber (1974), citado por Figueiredo (1989), a espécie *Aegilops speltoides* não poderia ser o doador do genoma B para o trigo. A análise de quatro espécies *T. aestivum*, *T. monococcum*, *Ae. Squarrosa* e *Ae. speltoides* com a utilização de técnicas de bandamento C e comparação entre o padrão de bandamento das espécies diplóides e o trigo cultivado corroborou essa hipótese.

Oliveira & Pandolfi citam o *Triticum monococcum* como sendo o trigo diplóide mais primitivo, por apresentar apenas um grão por espiguetas (*einkorn*). Esta espécie possui resistência a ferrugens e ao frio e obteve ampla distribuição na Europa e Oriente. Atualmente, é utilizado como forragem em partes montanhosas da Iugoslávia e Turquia. Os trigos que apresentam maior variabilidade são os tetraplóides (*Triticum turgidum* e *Triticum timophevii*). O *Triticum turgidum* é considerado o precursor da maioria dos trigos hexaplóides e tetraplóides cultivados. A espécie *Triticum aestivum* é o hexaplóide mais cultivado atualmente, pois apresenta grãos de livre debulha e ráquis flexível.

**Tabela 1** - Classificação de espécies de trigo (*triticum* L.), modificada de Hancock (2004)

<b>Espécie</b>	<b>Subespécie</b>	<b>Tipo</b>	<b>Número Cromossômico</b>	<b>Genoma</b>
<b><i>T. monococcum</i></b>	<i>aegilopoides</i>	Silvestre	2n = 2x = 14	AA
	<i>monococcum</i>	Cultivado		
<b><i>T. turartu</i></b>		Silvestre		
<b><i>T. turgidum</i></b>	<i>carthlicum</i>	Cultivado	2n = 4x = 28	AABB
	<i>dicoccoides</i>	Silvestre		
	<i>dicoccum</i>	Cultivado		
	<i>durum</i>	Cultivado		
	<i>turgidum</i>	Cultivado		
	<i>paleocolchicum</i>	Arqueológico		
	<i>polinocum</i>	Cultivado		
<b><i>T. timopheevi</i></b>	<i>armeniicum</i>	Silvestre	2n = 4x = 28	AAGG
	<i>timopheevi</i>	Cultivado		
<b><i>T. aestivum</i></b>	<i>spelta</i>	Cultivado	2n = 6x = 42	AABBDD
	<i>macha</i>	Cultivado		
	<i>aestivum</i>	Cultivado		
	<i>compactum</i>	Cultivado		
	<i>sphaerococcum</i>	Cultivado		

## 2.4 Híbrido intergenérico *Triticosecale*

As primeiras investigações do triticales tiveram início em 1875, quando um fitomelhorista escocês apresentou, aos membros da Sociedade Botânica de Edimburgo, o primeiro híbrido (estéril) obtido a partir do cruzamento entre trigo e centeio, (VARUGHESE; BACKER; SAARI, 1987).

Segundo Wilson (1876), citado por Falcão (1978), o triticales foi obtido após várias tentativas de polinização manual de flores emasculadas de trigo com pólen de centeio, tendo como fato importante em relação ao híbrido a não abertura das anteras, ou seja, a não liberação do pólen e o desenvolvimento imperfeito desses grãos de pólen.

A primeira referência bibliográfica sobre um triticales fértil aparece somente no ano de 1891, ano em que o alemão Wilhelm Rimpau obteve os primeiros triticales do cruzamento entre o trigo hexaplóide e o centeio diplóide (Fig. 2). O nome triticales foi elaborado tomando a primeira parte da palavra *Triticum* (gênero ao qual pertence o trigo) e a terminação de *Secale* (gênero ao qual pertence o centeio). Esta denominação foi utilizada pela primeira vez em 1935 e foi proposta pelo melhorista austríaco Erich Tschemark-Seisenegg, um dos redescobridores das leis de Mendel. Em 1971, Baum sugeriu o nome latino genérico de *X Triticosecale* Witmack, que é aceito até hoje (BAIER, 1992). Segundo Royo (1992), a obtenção do nome foi elaborado tomando a primeira parte da palavra *Triticum* (gênero do trigo) e a terminação de *Secale* (gênero do centeio). Baum (1971), citado por Falcão (1978), sugeriu o nome latino *X Triticosecale* Witmack, utilizado até hoje. Esta espécie híbrida que é um cereal de inverno, ficou pertencendo à família Poaceae, subfamília Pooidea, Tribo Triticeae e subtribo Triticineae (COPERCAMPOS, 2003).

A duplicação espontânea do número cromossômico de um híbrido estéril entre o trigo e o centeio originou o híbrido triticales. Com a descoberta da colchicina, conforme a (Fig. 1) em 1925, abriram-se novas opções aos melhoristas para produzir novos híbridos férteis, pois este produto químico permite a duplicação de cromossomos. (ROYO, 1992). Na década de 50. O' Mara, da Universidade Estadual de Iowa, produziu tais híbridos utilizando colchicina para interromper a formação da placa celular e permitir a duplicação do número de cromossomos (RAVEN et al., 2001). Para a obtenção do triticales podem ser utilizados:

- ? Parentais do trigo farinheiro (=trigo comum) ( $2n = 6x = AABBDD$ ), quando cruzados com centeio ( $2n = 2x = RR$ ), darão origem a triticales octoplóides ( $2n = 8x = AABBDDRR$ ),
- ? O *Triticum turgidum* var. *durum*, o chamado trigo duro ( $2n = 4x = AABB$ ), que originará triticales hexaplóides ( $2n = 6x = AABBRR$ ), quando cruzado com centeio ( $2n = 2x = RR$ ). Hoje em dia os triticales comercializados procedem do cruzamento entre centeio e trigo duro.

O triticales foi o primeiro cereal sintetizado pelo homem, que tinha como objetivo combinar as melhores características de seus parentais: o trigo (*Triticum aestivum* L.) e o centeio (*Secale cereale* L) e é considerado, atualmente, um cereal com valor econômico significativo, pois apresenta características rústicas do centeio e qualidades panificáveis do trigo (COPERCAMPOS, 2003). No entanto, o endosperma desse cereal não apresenta um bom desenvolvimento e é considerado um híbrido parcialmente fértil (RAVEN et al, 2001).

Em 1954, no Canadá, trabalhos desenvolvidos pelos professores Shebske e Jenkins demonstraram a superioridade dos triticales hexaplóides em relação aos octoplóides, pois apresentam um maior vigor se comparados às espécies parentais. No ano de 1966, foi criado o Centro Internacional para Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT), com sede no México, que tem sido um dos pioneiros na obtenção de genótipos de triticales (ROYO, 1992).

Segundo o histórico do triticales, relatado por Jouve & Soler (1996), SÁNGHEZ-MONGE foi o primeiro pesquisador a iniciar um programa com o triticales hexaplóide, com o objetivo de aperfeiçoar os problemas existentes no triticales octoplóide. No 1º Simpósio Internacional de Genética de Trigo, no Canadá, ele afirmou que a idéia principal era obter um novo cereal com as qualidades de moagem e cozedura do trigo, combinadas com a resistência à seca e a capacidade do centeio de desenvolver-se em solos pobres. Em 1969, este pesquisador liberou o primeiro triticales hexaplóide, a variedade Cachirulo, para ser comercializado mundialmente.

Esta espécie é utilizada, principalmente, em alimentação animal, de modo preferencial para suínos e aves, no Brasil e em todos os países onde é cultivada. O triticales pode substituir, em até 75%, o milho utilizado em rações, obtendo o mesmo

ganho de peso e conversão alimentar. Paralelamente, vários mercados foram abertos no país para o uso da farinha de triticales diretamente na alimentação humana, como em massa para pizzas e em misturas (mesclas) com farinha de trigo para a fabricação de biscoitos e macarrão. A produção dos diversos tipos híbridos de triticales tem como objetivo reunir as características desejáveis das espécies originárias, tais como o potencial de rendimento, elevado índice de colheita, grãos bem formados e com alto valor energético, a capacidade de afilhamento, a resistência á germinação da espigas e a doenças, baixa estatura e a qualidade panificadora do trigo. Algumas das características adquiridas pelo triticales de seus parentais foram a resistência ao frio, tolerância à seca e a solos mais ácidos, espiga grande e com muitos grãos, alta produção de biomassa, bom desenvolvimento em baixas temperaturas, sistema radicular profundo do centeio, resistência a doenças e tolerância a seca, alto teor de lisina e alto valor protéico do trigo como mostram as (tab. 2 e tab. 3). (NASCIMENTO. et al., 2004).

A introdução do triticales no Brasil iniciou em 1961, através do Instituto de Pesquisas Agronômicas do Sul (IPEAS), localizado em Pelotas, RS, e os trabalhos de pesquisas foram ampliados a partir de 1969, através do CIMMYT no México, quando novas introduções chegaram ao IPEAS e ao CNPT (Centro Nacional de Pesquisa de Trigo/EMBRAPA, Passo Fundo). No ano de 1982, o cultivo comercial expandiu-se com o objetivo de uso para consumo humano através da produção de grãos panificáveis para massas de pizzas e mesclas. A partir de 1990, com o fim da aquisição estatal, o fator qualidade passou a ser fundamental no setor de comércio, mas como a espécie apresenta qualidade panificável inferior, o mesmo passou a ser direcionado à alimentação animal (FALCÃO, 1978; ROCHA et al., 1999; FIGUEIREDO, 1989).

No período de 1996 a 1999, um trabalho de pesquisa realizado com o triticales comprovou que este tem maior rendimento e adaptabilidade a diferentes tipos de ambientes em relação ao trigo. No primeiro ambiente, aplicou-se a irrigação por aspersão em condição de sequeiro (favorável) e no segundo, irrigação por inundação em várzea úmida (desfavorável). Os resultados encontrados indicam que os genótipos de trigo apresentam adaptação específica para o ambiente de sequeiro com irrigação

por aspersão e o grupo de genótipos de triticales, adaptação mais ampla (FELÍCIO; CAMARGO; FERREIRA; GALLO, 2001).

Atualmente, os genótipos de triticales disponíveis adaptam-se melhor, durante o perfilhamento, em solos com acidez moderada (pH entre 4,5 e 5,5) e em regiões com altitudes superiores a 400m, em temperaturas médias entre 12 e 14°C (FELÍCIO et al., 1996).

Até 1960, os EUA tinham cerca de 250.000 acres anuais de lavoura de triticales, porém o mercado tornou-se desfavorável para utilizá-lo como alimento. Agora, em 1989, há somente uns 1.000 acres. O triticales produzido nos estados ocidentais e do sul é utilizado como cereal de inverno e também como forragem.

Oelke e Oplings (1989), analisando o triticales do Canadá, Dakota do Norte e Minnesota, verificaram que o mesmo tem alto potencial como grão de alimentação, com índice de proteína 10 a 20% mais elevado que o trigo. A composição de aminoácidos é similar à do trigo, mas tem um teor de lisina ligeiramente mais elevado. Segundo estes autores, as variedades de triticales melhoradas podem competir com a aveia e a cevada.

Devido ao fato do triticales ser um híbrido intergenérico, ele apresenta distúrbios meióticos, que causam formação de plantas aneuplóides, com baixo vigor e fertilidade, por isso a importância de um acompanhamento citogenético agregado ao melhoramento genético (FALCÃO, 1978).

Segundo Singh (2003), o triticales que não tem valor comercial é o tetraplóide, mas ele é um genótipo importante a ser utilizado nos cruzamentos intermediários no melhoramento do triticales. A produção de triticales tetraplóide pode ser executada de três maneiras, descritas a seguir:

- ? Hibridação entre centeio diplóide (RR) e *Triticum monococcum* (AA), seguida da duplicação dos cromossomos do F<sub>1</sub> estéril (AR), que dará origem a anfiplóides férteis (AARR);
- ? Isolamento de linhagens tetraplóides (AARR) originadas entre o cruzamento de trigo autohexaplóide (AAAABB) com centeio diplóide (RR), após eliminação do genoma B;

- ? Isolamento do genótipo ABRR, originado da hibridação do triticales hexaplóide (AABBRR) com o centeio diplóide (RR), que após auto-fecundação produzirá linhagens AARR, BBRR e (AB)(AB)RR.

O triticales decaplóide  $2n = 10x = 70$  (AABBDDRRRR), obtido através do cruzamento entre o centeio tetraplóide (RRRR) e o trigo hexaplóide (AABBDD), com posterior duplicação cromossômica, tem pouca utilidade agrônômica, devido à baixa fertilidade e baixo vigor que seu grão apresenta (SINGH, 2003).

O triticales oriundo de trigo hexaplóide e centeio diplóide darão origem a triticales octoplóide  $2n = 8x = 56$  e apresenta constituição genômica AABBDDRR. O triticales proveniente do cruzamento entre trigo tetraplóide e centeio diplóide originará triticales hexaplóide  $2n = 6x = 42$ , com constituição genômica AABBRR (JOUVE; SOLER, 1996).

Segundo Oettler (2005), se o cruzamento for feito com o trigo comum (*Triticum aestivum* L.  $2n = 6x = 42$ , complemento cromossômico AABBDD) será originada uma planta anfigenóide ABDR; se for com o trigo duro (*Triticum durum* L.  $2n = 4x = 28$ , complemento cromossômico AABB), originar-se-á um anfigenóide ABR. Ambos anfigenóides serão estéreis. Estas plantas, quando duplicadas com colchicina, darão origem a plantas anfidiplóides chamadas **triticales primários** (ou seja, o octoplóide AABBDDRR  $2n = 8x = 56$  e o hexaplóide AABBRR  $2n = 6x = 42$ ). Os **triticales secundários** resultarão do cruzamento de triticales primários entre si ou de triticales primários com trigo ou com centeio (Fig. 3).

Segundo Royo (1992), são chamados de triticales secundários completos os triticales secundários resultantes do cruzamento de triticales primários entre si e os triticales secundários substituídos são obtidos do cruzamento de triticales primários com o trigo ou com centeio. Para saber, com certeza, se o triticales secundário é do tipo completo ou substituído há necessidade da análise citogenética. No entanto, algumas características fenotípicas como a altura e a forma das espigas podem dar uma idéia se os triticales secundários são completos, quando se apresentam mais semelhantes ao centeio, ou substituídos, quando são mais parecidos com o trigo. Alguns triticales, no entanto, apresentam aspecto intermediário, sendo muito difícil classificá-los. Os triticales cultivados atualmente são, em geral, hexaplóides secundários.



Os triticales primários possuem uma meiose mais estável, menor grau de aneuploidia e uma maior fertilidade, não relacionada a distúrbios citológicos. Além disso, estes triticales possuem um alto teor protéico, boa qualidade de panificação, florescimento e maturidade de sementes precoces associados ao tamanho grande do grão. Ainda mais, a rusticidade desse cereal lhe confere boa resistência ao frio e a solos ácidos, entretanto tem a desvantagem possuir sementes estéreis e/ou com germinação precoce. Os triticales octoplóides (AABBDDRR), originados do cruzamento de trigo hexaplóide (AABBDD) com centeio diplóide (RR), apesar de não terem valor prático são muito importantes para a obtenção de formas hexaplóides secundárias, que são linhagens agronomicamente promissoras (FALCÃO, 1978; SINGH, 2003).

Os anfidiplóides produzidos por trigo tetraplóide (AABB) fecundado por pólen de centeio diplóide (RR) darão origem aos triticales hexaplóides (AABBRR), que apresentam reduzida produção de sementes, sementes enrugadas e instabilidade citológica, o que dificulta seu sucesso agroeconômico. A instabilidade citológica foi atribuída ao citoplasma tetraplóide, à alogamia do centeio e às diferenças em duração da meiose e do conteúdo de DNA entre o trigo e o centeio, assim como à interação entre os genes dos cromossomos do trigo e do centeio (SINGH, 2003).

A presença de heterocromatina telomérica dos cromossomos de centeio é que está relacionada a características morfológicas e citológicas indesejáveis do triticales, causando aberração nucléica no endosperma, levando à produção de grãos aberrantes com formação de cavidades no endosperma e conseqüente produção de grãos murchos (JOUVE; SOLER, 1996).

**Tabela- 2** Composição química do grão de triticales, segundo Universidade de Wisconsin (1989).

<b>Componentes</b>	<b>Matéria seca (%)</b>
Proteína	19,71
Fibra	3,10
Cálcio	12,00
Amido	67,78
Açúcares totais	5,74
Fósforo	44,00
<b>Aminoácidos</b>	
Treonina	39,00
Valina	93,00
Metionina	40,00
Isoleucina	76,00
Leucina	1,23
Fenilalanina	85,00
Lisina	57,00
Histidina	45,00

**Tabela 3** - Tabela comparativa entre a composição química média dos grãos de cereais em base seca

<b>Parâmetros</b>					
<b>(%)</b>	<b>Milho</b>	<b>Trigo</b>	<b>Triticale</b>	<b>Centeio</b>	<b>Aveia</b>
<b>Proteína bruta</b>	10,4	14,3	<b>14,8</b>	13,4	17
<b>Óleo</b>	4,5	1,9	<b>1,5</b>	1,8	707
<b>Fibra bruta</b>	2,4	2,9	<b>3,1</b>	2,6	1,6
<b>Cinza</b>	7,5	2,0	<b>2,0</b>	2,1	2,0
<b>Extrativo não nitrogenado</b>	81,2	78,9	<b>78,6</b>	80,8	7,6

Fonte: (Simmons e Campbell (1976), citado por Baier et al. (1994))

## 2.5 Hibridação e Aloploidia

Por volta do século XIX, material vegetal de todos os continentes estava sendo coletado por exploradores de plantas europeus e norte-americanos. A chegada do século XX testemunhou o estabelecimento de coleções oficiais de plantas em larga escala, como por exemplo, as 12.000 variantes de trigo e cevada da coleção mundial destes cereais existentes nos EUA, as quase 4.000 variantes de tubérculos e sementes da “Commonwealth Potato Collection” e as 10.000 variantes de arroz do Instituto Internacional de Pesquisa do Arroz, nas Filipinas (LAWRENCE, 1961)

Dentre os inúmeros cultivares de plantas de valor econômico, distinguem-se três aspectos principais de sua origem e evolução: a segregação mendeliana e recombinação, a hibridação interespecífica e a poliploidia.

- ? A hibridação consiste no cruzamento de parentais geneticamente diferentes que têm freqüentemente levado a um grande aumento no número de variantes em gerações segregantes, dentre as quais a seleção manteve formas valiosas preservadas pelo homem.
- ? A aloploidia, que é o resultado da hibridação entre espécies diversas seguida de duplicação do número de cromossomos, é responsável por nada a menos que metade das plantas cultivadas. Os aloploídes combinam o potencial de duas espécies em uma e são geralmente férteis, uma vez que os dois genomas doados ao híbrido, que é geralmente estéril, ao se duplicarem propiciam o restabelecimento do pareamento normal e da fertilidade. Os aloploídes, se bem sucedidos, constituem uma nova espécie, portanto a aloploidia é um mecanismo que pode derrubar barreiras genéticas entre espécies, combinar as suas diferenças e prover um alcance mais amplo para seleção entre os descendentes. Sem a aloploidia, muitas espécies híbridas jamais poderiam perpetuar-se (LAWRENCE, 1961). A aloploidia está, portanto, relacionada à hibridação, podendo ocorrer antes ou, mais provavelmente, depois da formação do híbrido (GUERRA, 1996).

A poliploidia, também, confere certas características que facilitam a incorporação de genes de espécies próximas. Os grandes avanços na adaptação de novos ambientes, bem como nos aumentos de rendimentos e na qualidade do produto comerciais

ocorrem devido à associação entre o melhoramento genético vegetal e os princípios básicos da genética (BRAMMER, 2003).

A poliploidia é uma variação cromossômica dominante na evolução vegetal e de interesse fundamental para o melhoramento de plantas. A origem do poliplóide pode ser devida a um erro meiótico (não redução cromossômica) ou a uma endomitose (duplicação cromossômica sem divisão celular) em uma célula precursora da meiose (GUERRA 1988; SINGH, 2003)

A poliploidia natural desempenhou importante papel na especiação das plantas superiores, cerca de 30 a 70% das espécies de angiospermas são poliplóides. A aloploidização é responsável pela evolução de espécies como o trigo, aveia, algodão, brássicas e cana-de-açúcar (SINGH, 2003; RAMALHO, 1989).

O aumento do número de genomas, dentro ou entre espécies vegetais, propicia uma vantagem adaptativa que é a estabilização genética, a qual permite maior exploração da interação entre os genomas. Na evolução poliplóide, as formas mais significativas, tanto de plantas quanto de animais, são as que evoluíram combinadas com hibridações. Por isso, a poliploidia serve para estabilizar híbridos, pela eliminação da esterilidade e pela redução da segregação genética nos mesmos (JOHN, 1980).

## 2.6 Meiose

A meiose é um processo que ocorre em tempo evolutivamente posterior à mitose, sendo caracterizado como um evento longo e complexo, podendo durar dias e até vários anos, dependendo do organismo, apesar disto é semelhante em todos os eucariontes. Na divisão meiótica, teremos a redução do número cromossômico, o que garante a manutenção do número cromossômico característico da espécie no momento da fecundação. Essa redução ocorre a partir da célula diplóide, que dará origem a células filhas haplóides, as quais possuem metade do número cromossômico da célula mãe, contendo novas combinações gênicas devido à permuta gênica e à segregação ao acaso dos cromossomos, o que garante a variabilidade genética (VIÉGAS, 2006).

Basicamente a meiose é um processo onde ocorrem duas divisões nucleares seguidas, sem haver um período S entre elas. Segundo Griffiths (1998), a meiose é precedida por uma fase S pré-meiótica no meiócito. Das duas divisões que constituem a meiose, a primeira (Meiose I) é a que apresenta diferenças maiores em relação à mitose. A segunda divisão meiótica (Meiose II) é praticamente idêntica à mitose.

Os eventos da meiose I são bem diferentes da meiose II, e os eventos de ambas diferem dos da mitose. Tanto a meiose como a mitose inicia após a replicação do DNA, de modo que cada cromossomo consiste em duas cromátides irmãs. Na meiose I, os cromossomos homólogos pareiam-se e, então, segregam para diferentes células. As cromátides irmãs separam-se na meiose II, que se assemelha a uma mitose normal (COOPER, 2001).

Cada divisão meiótica é formalmente dividida em prófase I e II, metáfase I e II, anáfase I e II e telófase I e II. Dentre estes estágios, o mais complexo e demorado é a prófase I, que tem suas próprias subdivisões: leptóteno, zigóteno, paquíteno, diplóteno e diacinese. Por convenção, os dois núcleos que resultam da meiose I são considerados haplóides, pois as cromátides irmãs permanecem ligadas pelo centrômero, sendo dessa forma contadas como um cromossomo, o importante é que o número total de cromossomos em cada célula é reduzido à metade. Por isso a meiose I é chamada de divisão reducional. Em contraste, a meiose II é similar a uma mitose e esse tipo de multiplicação é chamada de divisão equacional (GRIFFITHS, 1998).

Durante a Prófase I ocorrem fenômenos importantes da divisão meiótica que são o pareamento dos cromossomos homólogos, a formação do complexo sinaptonêmico entre os homólogos pareados, a permuta que resultará na recombinação gênica e a ocorrência dos quiasmas, que são a evidência física da permuta (VIÉGAS, 2006).

Ao final da prófase I, tem início a metáfase I que se caracteriza por ter o alinhamento dos cromossomos na placa equatorial e por ter atingido o máximo de condensação. Nesse estágio os centrômeros não se dividem o que representa uma grande diferença da mitose. Os cromossomos possuem as extremidades afiladas em forma de anel, o que corresponde aos centrômeros que estão sendo puxados para os pólos opostos, e a região mediana do anel corresponde ao encontro dos telômeros que ainda estão presos pelos quiasmas. A anáfase I é marcada pelo início do movimento dos cromossomos homólogos, em direção aos pólos opostos da célula, puxados pelas fibras do fuso. As cromátides irmãs, reunidas pelo centrômero mostram-se afastadas entre si, devido às forças de repulsão entre as cromátides que existiam no início do diplóteno. Esses cromossomos não são geneticamente iguais devido ao processo de permuta. (VIÉGAS, 2006; GUERRA, 1996).

A telófase I caracteriza-se pela chegada dos cromossomos aos pólos da célula, pela reconstituição da carioteca e descondensação dos cromossomos. Citologicamente esse estágio assemelha-se ao de uma telófase mitótica, mas na divisão meiótica há apenas  $n$  cromossomos e não  $2n$  como na mitótica. As fases da meiose II ou segunda divisão meiótica podem ser descritas da mesma maneira, que as da mitose o que vai diferenciar é o número cromossômico envolvido, que é  $n$ , ou seja, haplóide. A síntese de DNA não vai anteceder a divisão, em geral as cromátides encontram-se separadas umas das outras, não possuindo espiralização relacional e as cromátides são geneticamente diferentes do que eram no início da meiose. (VIÉGAS, 2006; GUERRA, 1996; GRIFFITHS, 1998).

A prófase II é uma fase curta, sem as subdivisões encontradas na prófase I e é caracterizada por possuir um número haplóide de cromossomos. No final dessa fase, ocorre a organização de dois novos fusos em posição perpendicular à do fuso formado na meiose I (VIÉGAS, 2006).

Na metáfase II, as cromátides irmãs são mais delgadas que na metáfase I, os braços cromossômicos estão espalhados para fora da placa equatorial, os centrômeros estão localizados no equador da célula e os fusos ligam-se aos cinetócoros centroméricos. Ao contrário da mitose as cromátides dissociam-se parcialmente umas das outras (VIÉGAS, 2006; GRIFFITHS, 1998)

A anáfase II é muito semelhante à anáfase mitótica, ocorre a divisão dos centrômeros e as cromátides irmãs migram para os pólos opostos, levadas pelas fibras do fuso (VIÉGAS, 2006; GRIFFITHS, 1998).

A telófase II não difere de uma divisão mitótica, exceto pelo número haplóide e tem como resultado a formação de quatro células filhas. Os cromossomos filhos que encontram-se nos pólos começam a descondensar, o envelope nuclear é refeito ao redor de cada conjunto de cromossomos e ocorre o aparecimento do nucléolo. Nas anteras de uma flor, os quatro produtos da meiose desenvolvem-se em grãos de pólen, mas em outros organismos, a diferenciação pode produzir outros tipos de estruturas a partir da meiose, como por exemplo, os espermatozoides nos animais (VIÉGAS, 2006; GRIFFITHS, 1998).



### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

Foram utilizadas panículas de diversos tamanhos de 12 genótipos de triticales (*X Triticosecale* Witmack) hexaplóides, provenientes de material mantido no Banco de Germoplasma ou coletado de experimentos de Melhoramento Genético de Triticales e Centeio, da Embrapa Trigo de Passo Fundo, RS, conforme listado na (Tab. 6).

O estudo da microsporogênese dos 12 genótipos de triticales 6x foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Celular do Departamento de Zoologia e Genética, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS.

#### **3.1. Coleta do material para observação de células mãe de pólen**

As inflorescências jovens foram coletadas, em Passo Fundo, entre 9:00 e 10:00 horas da manhã, colocadas imediatamente em fixador 3:1 (álcool etílico: ácido acético glacial), numa proporção de cinco vezes mais volume de fixador do que de material.

As inflorescências permaneceram no fixador, à temperatura ambiente, por no mínimo, 24 horas, e foram despachadas via Correio para Pelotas.

No máximo, em 4 ou 5 dias, o fixador foi trocado por álcool etílico 70%, para estocagem do material em geladeira ( $4 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ), até sua utilização.

#### **3.2 Preparo do material para observação de células mãe de pólen**

##### **3.2.1 Técnica de preparo de lâminas de células mãe de pólen**

Para a análise dos cromossomos meióticos, foram utilizadas técnicas convencionais de citogenética baseadas em Viégas (1990) e Guerra & Souza (2002), modificadas ao longo do tempo, sendo atualmente o protocolo utilizado no Laboratório de Biologia Celular, o seguinte:

- ? Lavar a inflorescência em água destilada por, no mínimo 1 minuto, a fim de retirar o álcool 70%;

- ? Deixar a inflorescência em água destilada enquanto manipula os botões florais (o material não pode desidratar);
- ✍ Colocar um botão floral na lupa, com uma gota de carmim acético 2% e, com o auxílio de agulhas histológicas, retirar as anteras;
- ✍ Colocar 3 anteras sobre uma lâmina e esmagá-las em uma gota de carmim acético 2%;
- ✍ Retirar excesso de material com auxílio de uma pinça,
- ✍ Cobrir o material com uma lamínula;
- ✍ Aquecer a preparação, brevemente, sobre a chama de lamparina;
- ✍ Prensar, manualmente, o conjunto lâmina/lamínula entre papel de filtro;
- ✍ Verificar se há necessidade de colocar mais corante;
- ✍ Vedar a lâmina com cola para borracha.

### **3.3 Análise de microsporogênese dos genótipos de triticales**

#### **3.3.1 Análise das fases da divisão meiótica**

Foram analisadas anteras retiradas de diversos locais das inflorescências coletadas.

A observação do material foi realizada em microscópio óptico a uma magnitude de 400X. O método utilizado foi o de varredura, partindo do canto inferior direito da lamínula, da direita para esquerda.

Analisaram-se as fases da meiose I (M I) e meiose II (M II), as células em fase de tétrade e os grãos de pólen utilizando técnicas convencionais de citogenética de genótipos de triticales hexaplóide.

Foram feitas cerca de 100 lâminas por genótipo ou até ser esgotado o material coletado. Analisaram-se todas as células mãe de pólen (CMP) encontradas em cada lâmina feita, o que resultou em um número de repetições diferentes para cada genótipo.

Avaliaram-se genótipos quanto à ocorrência de CMP normais e anormais. Foram consideradas CMP anormais aquelas células em metáfase I e II com cromossomos fora da placa equatorial, anáfase I e II e telófase I e II com cromossomos retardatários e/ou pontes cromossômicas.

Cada fase de meiose (I e II) foi analisada, quantificada e, se necessário, microfotografada.

### **3.3.2 Estudo das células em fase de tétrade**

As tétrades foram avaliadas quanto ao número de micrósporos como tétrades normais, aquelas com 4 micrósporos, e tétrades anormais, as que apresentaram menos de 4 micrósporos (díades e tríades), as com mais de 4 micrósporos (políades) e/ou com a presença de micronúcleos.

A técnica utilizada para o preparo das lâminas foi a mesma para o estudo das fases da divisão meiótica.

A observação do material foi feita em microscópio óptico a uma magnitude de 400X. O método utilizado foi o de varredura, partindo do canto inferior direito da lamínula, da esquerda para direita. Todas as células em fase de tétrade foram analisadas, sendo anotado o tipo de tétrade (normal ou anormal) e, quando necessário, as mesmas foram microfotografadas.

### **3.3.3 Estudo dos grãos de pólen**

Para análise dos grãos de pólen foram preparadas cinco lâminas de cada genótipo, coletando três anteras de cada inflorescência, foram analisados 500 grãos de pólen por genótipo.

A técnica para o preparo das lâminas foi a mesma utilizada para a obtenção das CMP em meiose. Os grãos de pólen foram considerados normais quando ficaram corados com o carmim acético 2% e anormais, quando não coraram.

### **3.4 Microfotografias**

As microfotografias de pólen, de tétrades e de meiose I e II foram feitas em microscópio óptico, com filme colorido de 100 ASA (diversas marcas). As revelações dos filmes e das fotos foram feitas em casas comerciais especializadas.

### 3.5 Análise estatística

Foram utilizados 12 genótipos de triticales e as análises estatísticas realizadas separadamente para as fases da divisão meiótica, fases de tétrade e grãos de pólen.

As fases de tétrade foram avaliadas em um experimento com delineamento estatístico inteiramente casualizado, foram analisadas 100 tétrades por lâmina, com 5 repetições por genótipo.

Para os grãos de pólen foram avaliados dois fatores: polens viáveis e inviáveis, no experimento inteiramente casualizado para verificar quais dos 12 genótipos têm uma maior viabilidade.

A análise estatística do comportamento meiótico nas fases de meiose I e II foi realizada por meio do teste logaritmo –  $\log(X+K)$ : genótipos e tipos de células (normais e anormais)

Após a análise da variação, fez-se a comparação das médias pelo teste de Duncan ( $\alpha=0,05$ ) nos quatro experimentos. As análises estatísticas foram realizadas pelo Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores – SANEST (ZONTA et al., 1984).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Análise da microsporogênese

#### 4.1.1 Análise das fases da divisão meiótica

#### 4.1.2 Análise descritiva

As células mãe de pólen (CMP) de triticales consideradas normais apresentavam-se com as seguintes características:

**Metáfase I:** cromossomos alinhados na placa equatorial;

**Anáfase I:** início da migração dos homólogos para os pólos das células;

**Telófase I:** início da descondensação dos cromossomos, que estão nos pólos opostos da CMP, ocorre citocinese e percebe-se o reinício do envelope nuclear (Fig.4);

**Metáfase II:** duas células filhas com cromossomos alinhados na zona equatorial, ambas envoltas pela cápsula espessa da CMP e separadas entre si pela parede celular (Fig.5);

**Anáfase II:** segregação e migração das cromátides irmãs para os pólos opostos das células filhas;

**Telófase II:** início do processo de descondensação, os cromossomos se encontram nos pólos e tem início a citocinese (Fig.6);

**Fase de tétrades:** núcleos refeitos, célula com quatro micrósporos, separados pelas paredes celulares (Fig. 15);

Para alguns autores, a citocinese marca o fim da divisão celular fazendo parte da telófase, para outros, ela se constitui em uma fase à parte da divisão celular e, que ocorre após o término desta (ALBERTS et al, 2002; COOPER et al, 2004, VIÉGAS, 2006)

Em todos os doze genótipos estudados ocorreram células mãe de pólen anormais em metáfase I e II com cromossomos fora da placa equatorial (Fig.7 e Fig. 8), em anáfase I e II com cromossomos retardatários e/ou pontes cromossômicas (Fig. 9 e Fig. 10) e em telófase I e II com cromossomos retardatários e/ou pontes cromossômicas (Fig. 11, Fig. 12 e Fig. 13), assim como células em fase de tétrade contendo micrósporos com a presença de micronúcleos (Fig. 14).

Apesar de haver quase 100% de pólen viáveis, foram observados alguns grãos de pólen contendo anormalidades, tais como pólen biporado e com micronúcleos. (Fig.16)

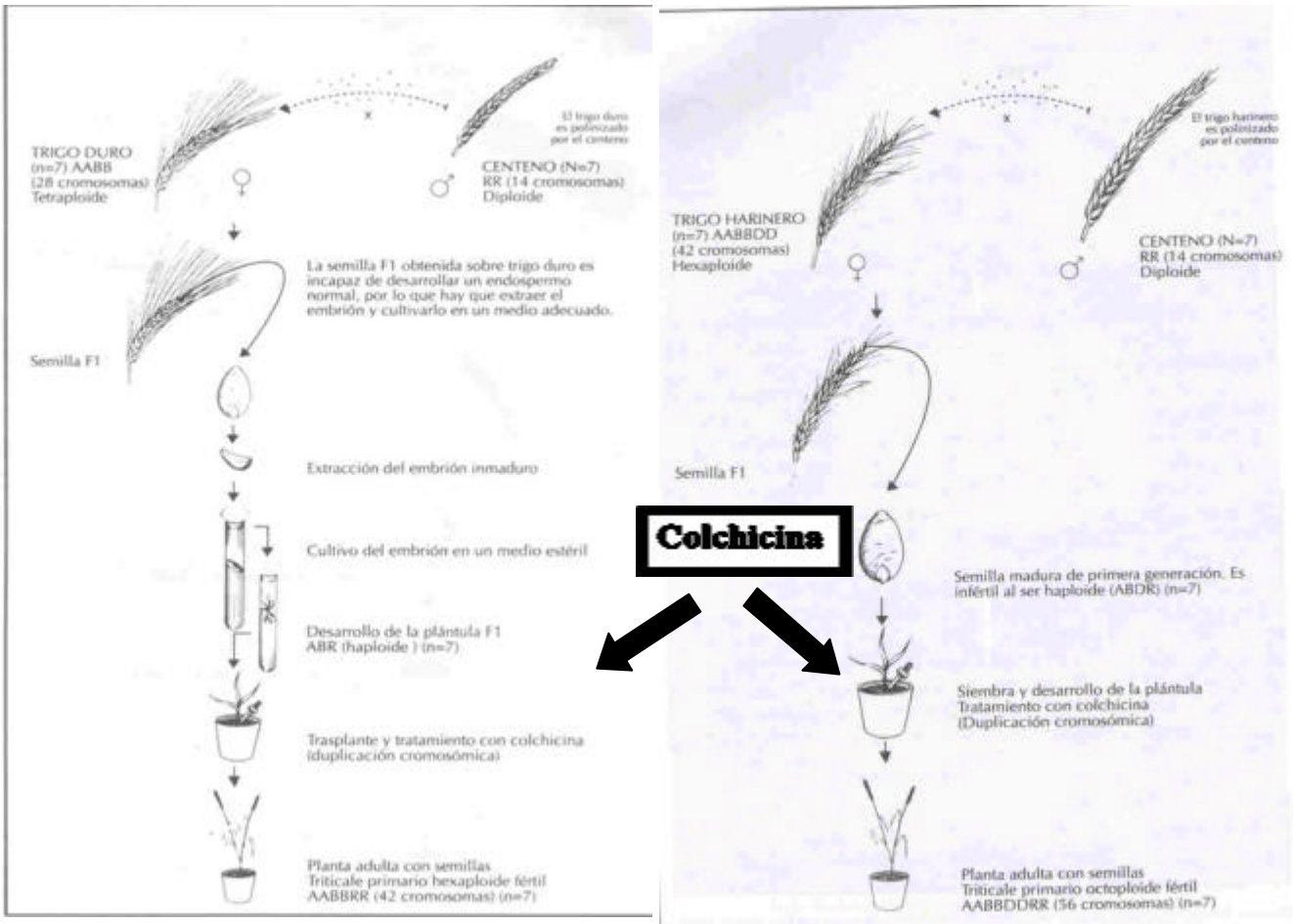


Figura 1 . Aplicação de colchicina para duplicação dos cromossomos

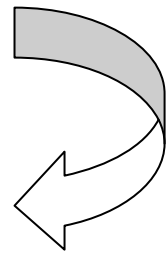
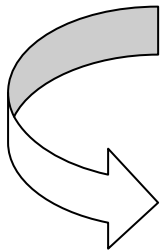


*Triticum durum*

X



Centeio



Triticale (hexaplóide primário)

**Figura 2**-cruzamento entre os parentais do triticale



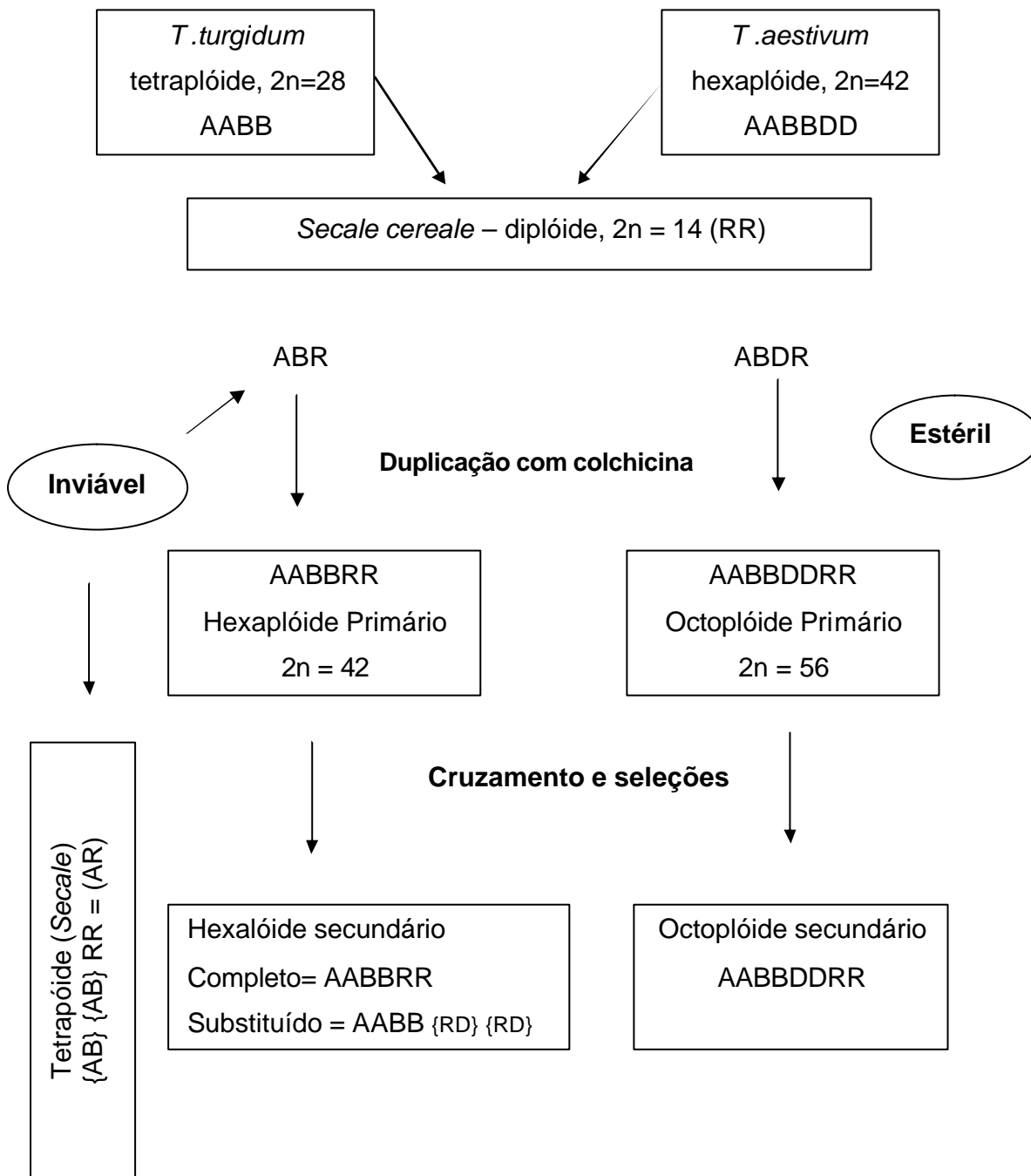
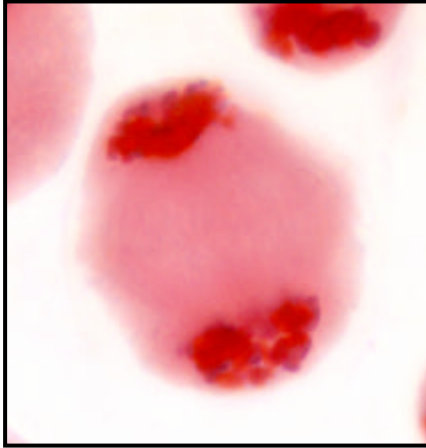
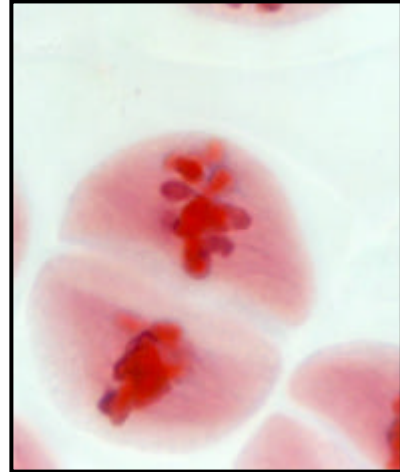


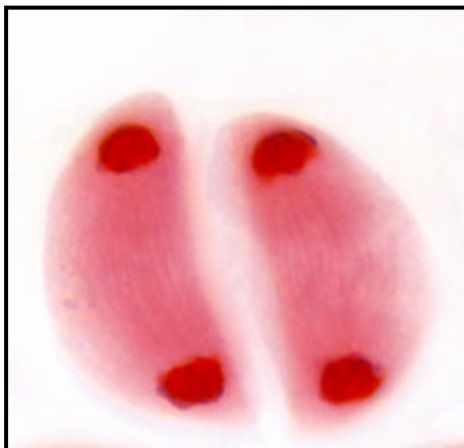
Figura 3 – Tipos de triticale



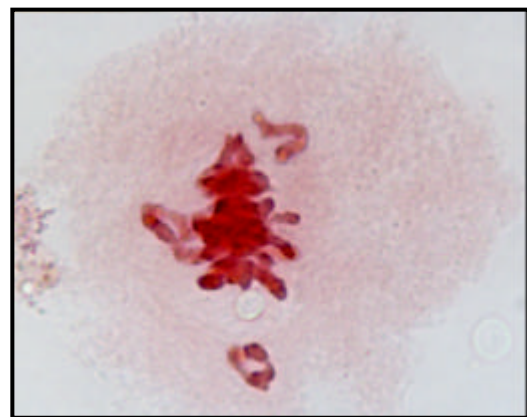
**Figura 4 –Telófase I normal (PFT 0407)**



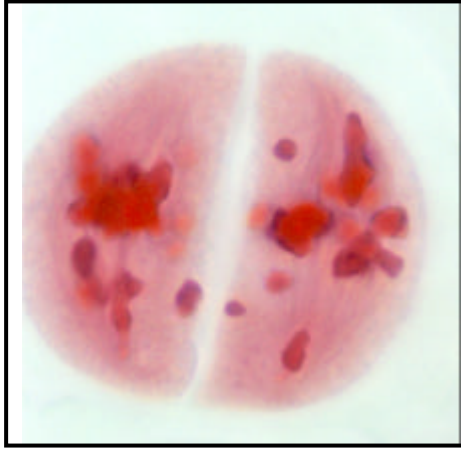
**Figura 5 - Metáfase II normal (PFT 0407)**



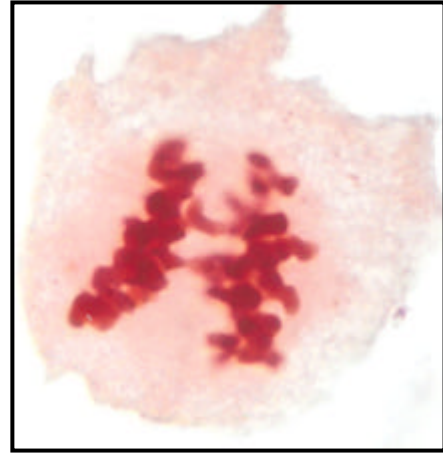
**Figura 6 - Telófase II normal (PFT 0407)**



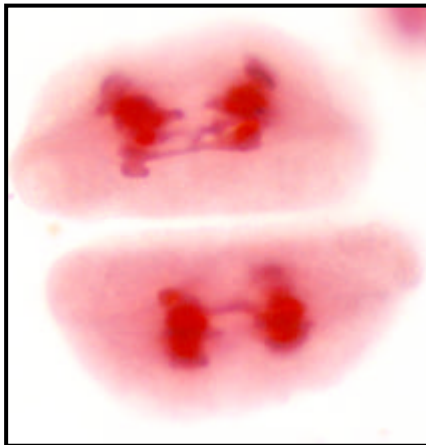
**Figura7- Metáfase I com cromossomos fora da placa equatorial**



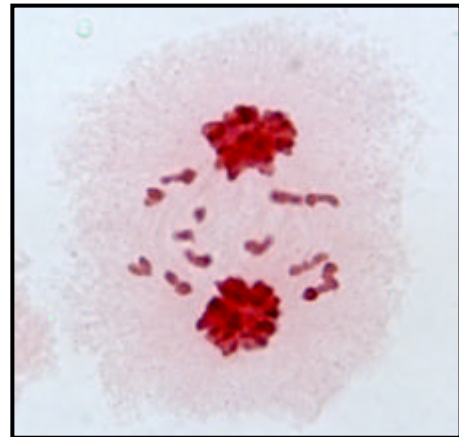
**Figura 8- Metáfase II com cromossomos fora da placa equatorial (PFT 0407)**



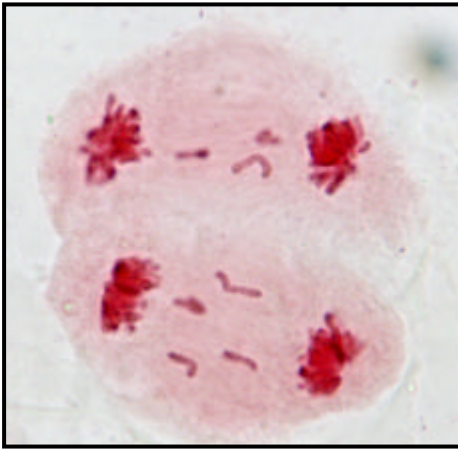
**Figura 9- Anáfase I com ponte (Embrapa 53)**



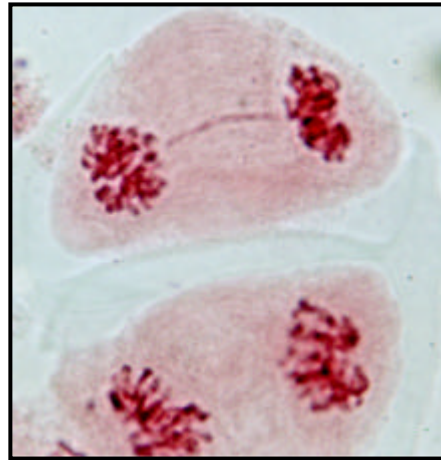
**Figura 10- Anáfase II com ponte (PFT 0407)**



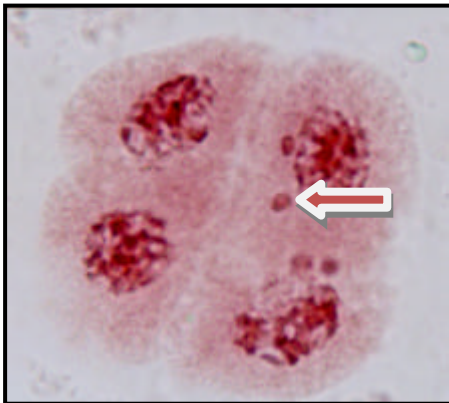
**Figura 11- Telófase I com cromossomos retardatários (BR1)**



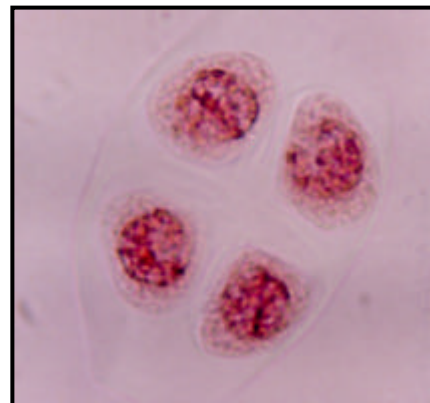
**Figura 12– Telófase II com cromossomos retardatários (BR1)**



**Figura 13– Telófase II com pontes (PFT 0401)**



**Figura 14– Tétrade anormal com micronúcleos (BR1)**



**Figura 15 - Tétrade normal**

#### 4.1.3 Análise estatística de células mãe de pólen em meiose

A análise da variação para o número de células normais em meiose I mostrou não haver diferenças significativas ( $\alpha = 5\%$ ) entre os doze genótipos de triticales hexaplóides, já em meiose II, os genótipos diferiram significativamente entre si (tab. 4 e tab. 5). As amostras analisadas apresentaram excelentes coeficientes de variação (3,36% e 2,89% para meiose I e II, respectivamente).

Na meiose I verificou-se que os genótipos PFT 0401, BRS Minotauro e BRS Netuno mostraram maior frequência de células normais, diferindo significativamente (nível 5%) da linhagem PFT 0417, conforme descrito na (tab. 6). Por outro lado, em meiose II, somente a cultivar BRS Minotauro destacou-se das demais, diferindo significativamente das linhagens PFT 0417, PFT 401 e PFT 924, que apresentaram os menores valores de células normais, conforme a (tab. 7).

Verificou-se uma grande frequência de células anormais, em meiose I, variando de 38,49% na linhagem PFT 0401 a 85,71% na linhagem PFT 0417 e em meiose II, 37,55% na cultivar BRS Minotauro a 70,10% na linhagem PFT 0417 da meiose.

#### **4.1.4 Análise estatística de células em fase de tétrades**

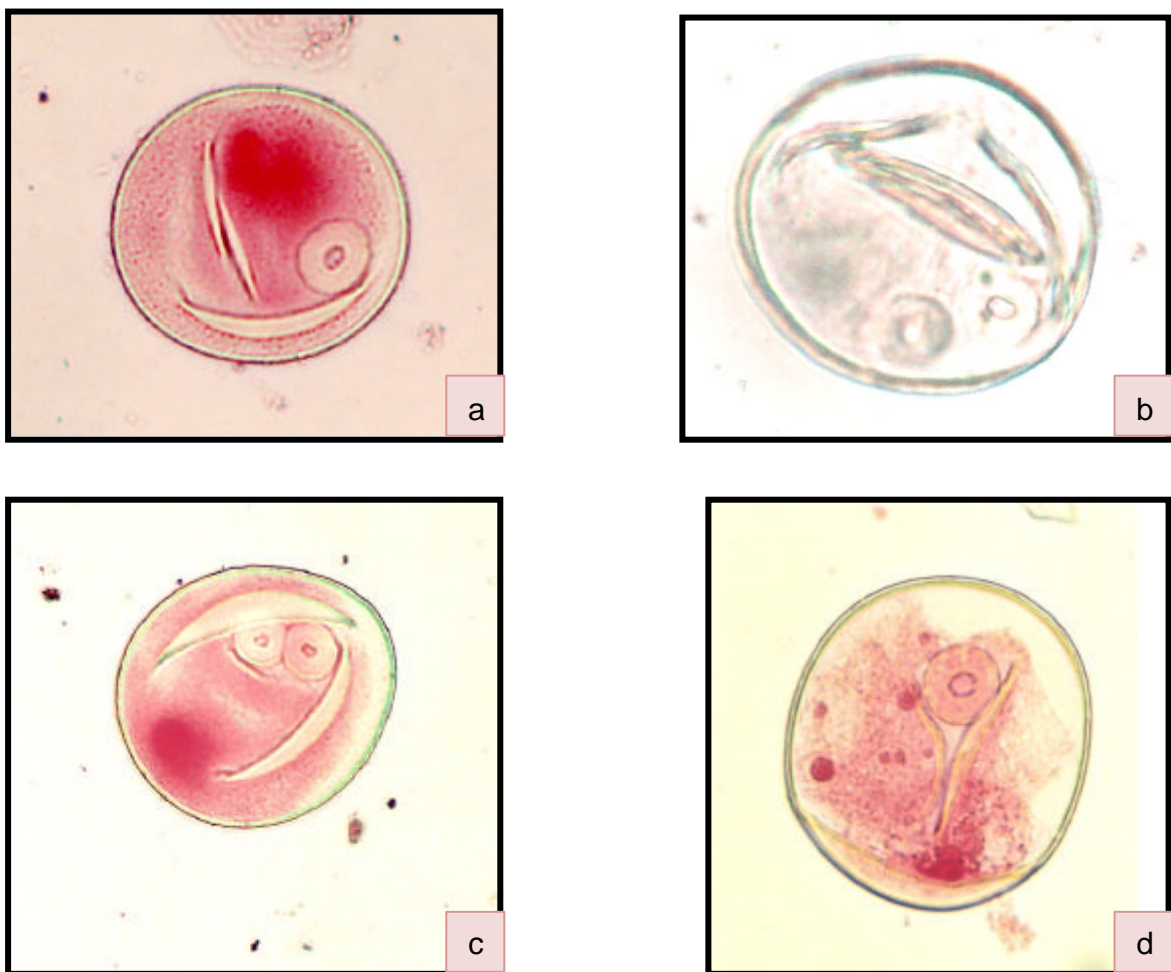
Os doze genótipos analisados apresentaram células com micronúcleos configurando como uma anormalidade freqüente em triticales hexaplóides. Não foram encontradas díades, tríades ou tétrades com micrósporos estéreis em nenhuma das variedades estudadas, talvez por se tratarem de cultivares melhorados.

A análise de variação do número de células normais e anormais em fase de tétrades dos doze genótipos de triticales mostrou haver diferenças significativas ( $\alpha = 5\%$ ) entre genótipos, conforme a (tab. 8).

Destacou-se a cultivar BRS Ulisses por apresentar a maior frequência de tétrades normais, diferindo significativamente de quase metade dos genótipos estudados (PFT 0407, PFT 924, PFT 0401, PFT 401 e PFT 0419), conforme a (tab. 9). De todos os genótipos analisados, a variedade PFT 0419 apresenta maior frequência de tétrades anormais (54,87%), provavelmente por apresentar maior quantidade de células anormais na meiose I e II.

#### **4.1.5 Análise estatística de grãos de pólen**

A análise de variância da viabilidade de grãos de pólen dos doze genótipos de tritcale mostrou não haver diferenças significativas ( $\alpha=5\%$ ) entre os genótipos (tab. 11). Na (tab. 10), verifica-se que, apesar da grande percentagem de genótipos com CMP anormais em meiose I e II e tétrades anômalas, a viabilidade dos grãos de pólen, aferida pelo método de coloração do carmim acético, é de cerca de 100%. Parece haver, ao longo do processo de microsporogênese, uma seleção em favor do material de maior viabilidade/normalidade.



47

**Figura 16-** Pólen de tritcale hexaplóide: pólen viável devido coloração (a); pólen inviável, sem coloração (b); pólen bipolarado (c); pólen com micronúcleos (d).

**Tabela 4- Análise da variação de células mãe de pólen (CMP) normais em meiose I de doze genótipos triticales hexaplóide**

ns = não significativo

<b>Causas da Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>prob. &gt; F</b>
<b>Cultivar</b>	11	0,5810	0,0528	1,09010	0,05499 ns
<b>Resíduo</b>	65	1,8062	0,0277		
<b>Total</b>	76	2,1387			
<b>Média Geral = 4,95 Coeficiente de Variação = 3,36%</b>					

**Tabela 5- Análise da variação de células mãe de pólen (CMP) normais em meiose II de doze genótipos de triticales hexaplóide**

<b>Causas da Variação</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor de F</b>	<b>prob. &gt; F</b>
<b>Cultivar</b>	11	0,5057	0,0459	2,2221	0,02084 *
<b>Resíduo</b>	79	1,6345	0,0206		
<b>Total</b>	90	2,1402			
<b>Média geral = 4,97; Coeficiente de variação = 2,89%</b>					

\* Significativo a nível 5 %

**Tabela 6-** Desdobramento pelo teste de Duncan das médias de células normais em meiose I de doze genótipos de triticales hexaplóide

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

Genótipos	Células Normais meiose I (%)
PFT 0401	61,51 a
Minotauro	60,03 a
Netuno	51,41 a
PFT 418	47,53 ab
PFT 0418	47,10 ab
PFT 0419	42,82 ab
PFT 401	38,05 ab
PFT 924	32,31 ab
Embrapa 53	31,76 ab
Ulisses	31,34 ab
PFT 0407	21,23 ab
PFT 0417	14,29 b

**Tabela 7-** Desdobramento pelo teste de Duncan das médias de células normais em meiose II de doze genótipos de triticales hexaplóide



Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

<b>Genótipos</b>	<b>Células Normais meiose II (%)</b>
<b>Minotauro</b>	62,45 a
<b>PFT 0418</b>	60,39ab
<b>Netuno</b>	60,28 ab
<b>PFT 0401</b>	47,46 ab
<b>Embrapa 53</b>	47,37 ab
<b>PFT 418</b>	44,61 ab
<b>PFT 0419</b>	44,59 ab
<b>Ulisses</b>	43,86 ab
<b>PFT 0407</b>	39,94 ab
<b>PFT 924</b>	32,34 b
<b>PFT 401</b>	31,39 b
<b>PFT 0417</b>	29,90 b

**Tabela 8-** Análise de variação do número de células normais em fase de tétrades de doze genótipos de triticales hexaplóide

Causas da Variação	GL	QM de células		Prob.>f	
		Normais	Anormais	A*	N*
Cultivar	11	0,0645	0,0808	0,0001	0,00003
Resíduo	136	0,0139	0,0155		
Total	147				
Média Geral		5,07	4,92		
Coeficiente de Variação (%)		2,32	2,53		

=Significativo em nível 5% \*\*anormal e normal.

**Tabelas 9-** Desdobramento pelo teste de Duncan das médias de células Normais Tétrades de doze genótipos de triticales hexaplóide

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan

Genótipos	Células Normais tétrades (%)
Ulisses	82,15 a
Minotauro	80,32 ab
Embrapa 53	62,21 abc
PFT 0418	68,05 abc
Netuno	67,44 abc
PFT 0417	65,49 abc
PFT 418	58,96 bcd
PFT 0407	53,50 cd
PFT 924	53,34 cd
PFT 0401	50,53 cd
PFT 401	46,94 d
PFT 0419	45,13 d

**Tabela 10-** Desdobramento pelo teste de Duncan das médias de viabilidade de grãos de pólen em doze genótipos de triticales hexaplóide

Médias seguidas pela mesma letra, nas colunas, não diferem entre si, ao nível de 5%, pelo teste de Duncan.

Genótipos	Número de grãos de pólen viáveis
<b>Minotauro</b>	<b>99,99 a</b>
<b>PFT 04019</b>	<b>99,99 a</b>
<b>PFT 401</b>	<b>99,59 a</b>
<b>PFT 0418</b>	<b>99,59 a</b>
<b>Embrapa 53</b>	<b>99,39 a</b>
<b>PFT 924</b>	<b>99,39 a</b>
<b>PFT 0401</b>	<b>99,19 a</b>
<b>PFT 0407</b>	<b>99,19 a</b>
<b>Ulisses</b>	<b>98,39 a</b>
<b>Netuno</b>	<b>98,39 a</b>
<b>PFT 418</b>	<b>98,19 a</b>
<b>PFT 0417</b>	<b>97,97 a</b>

**Tabela11-** Análise do número de grãos de pólen viáveis e inviáveis de doze genótipos de triticales hexaplóide

Causas da Variação	GL	QM de células		Pob.>F	
		Viáveis	Inviáveis	A*	N*
<b>Cultivar</b>	11	0, 00005	0, 0002	0,24616	0,042038
<b>Resíduo</b>	48	0, 00005	0, 0001		
<b>Total</b>	59				
<b>Média Geral</b>		5,29	4,61		
<b>Coeficiente de Variação (%)</b>		0,13	0,28		

=Significativo em nível de 5% \*\* anormal e normal.

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos concordam com as avaliações de campo realizadas na Embrapa Trigo, em que a linhagem PFT 924 tem apresentado enorme instabilidade fenotípica, mesmo após vários ciclos de seleção e tentativas de purificação. De modo semelhante, três cultivares, recentemente registradas pela Embrapa Trigo, apresentaram menor número de células mãe de pólen anormais:

- ? **BRS Minotauro:** a primeira cultivar de triticales desenvolvida com trigo e centeio brasileiro e de ampla adaptação de cultivo
- ? **BRS Ulisses e BRS Netuno:** introduzidas do México, do Centro Internacional de Melhoramento de Milho e Trigo (CIMMYT)

Para Bennet (1977), a heterocromatina telomérica ocorrente no centeio está envolvida na formação das pontes anafásicas/telofásicas. Segundo Thomas et al. (1980), a formação de pontes na anáfase tardia leva à produção de núcleos aberrantes no endosperma, o que seria a causa das cavidades e enrugamento dos grãos.

A ocorrência de cromossomos retardatários é responsável pela formação de gametas e, posteriormente, de zigotos aneuplóides. Gupta e Priyadarshan (1982) revisaram trabalhos de vários autores e verificaram que a aneuploidia média em populações de triticales 8x chegava a 83,3% e a 32,7% em triticales 6x, sendo que a mais baixa encontrada foi de 8,3%, que mesmo assim é uma frequência importante.

Atualmente, já está bem estabelecido que a frequência de aneuploidia é, geralmente, mais baixa em triticales 6x do que em 8x, que os tipos secundários são mais estáveis do que os primários e que os triticales octoplóides tendem a reverter para um número cromossômico menor (OETTLER, 2005).

Segundo Marutani (1993), citado por Corrêa et al. (2000), a irregularidade dos movimentos cromossômicos conduz à formação de tétrades com micronúcleo, devido ao retardamento de cromossomos na anáfase I e II. Para Mendes (1994), a presença de tétrades anormais é indicativa de processo meiótico irregular e, conseqüentemente, de diminuição de viabilidade de pólen. Mattos (1998) citado por Corrêa (2000) ressaltou que plantas com índice meiótico e viabilidade de grãos de pólen alto, indicam plantas

meioticamente estáveis e potencialmente férteis. Marutani et al. (1988, 1993) citado por Corrêa (2000) relataram que a coloração dos grãos de pólen é um indicador da fertilidade do mesmo.

Pieritz, citado por Oettler (2005), verificou que, diferentemente da oosfera, o pólen somente transmitia conjuntos cromossômicos euplóides ou, no máximo, com desvio de mais ou menos um cromossomo. Segundo Oettler (2005), resultados semelhantes foram descritos para triticales hexaplóides e, mesmo, resultados mostrando a falta de correlação entre distúrbios meióticos e fertilidade normal.

A menor frequência de tétrades irregulares nas cultivares de triticales, recentemente registradas e propostas para cultivo no Brasil, evidencia que o melhoramento genético, mesmo não utilizando todas as ferramentas adequadas para a seleção daqueles tipos melhor adaptados e com estabilidade de produção, tende a selecionar aqueles que agregam o menor número de características indesejáveis. A seleção assistida, através de técnicas citológicas e de marcadores genéticos e moleculares pode ser uma excelente ferramenta de auxílio ao melhoramento convencional de plantas, tanto na eliminação de genótipos indesejáveis e/ou instáveis, como na seleção daqueles com elevadas características superiores.

*“É óbvio que a instabilidade meiótica e as desordens reprodutivas do triticales são o resultado de um fenômeno muito complexo que envolve muitos fatores. Apesar de décadas de pesquisa, nenhuma das várias teorias desenvolvidas pôde explicar os eventos citogenéticos. O papel dos diferentes fatores, sua importância e interações permanecem contraditórios” (OETTLER, 2005).*

## 6 CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permitem concluir que:

- Existem diferenças entre genótipos de triticales hexaplóide quanto à frequência de células mãe de pólen anormais e de tétrades irregulares.

- Genótipos de triticales hexaplóide que apresentam irregularidades meióticas podem produzir pólen viável e em quantidade elevada.

- A identificação de genótipos de triticales hexaplóide quanto à frequência de células mãe de pólen normais/anormais pode ser utilizada como método auxiliar no processo de seleção em seu melhoramento genético.

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBERTS, B. ; JOHNSON, A. LEWES, J. ; RAFF, M. ROBERTS, K.; WALTER, P. **Molecular Biology of the Cell**. 2002. Ed. Garland Science. Nova York. 1463 pg.

BAIER, A.C.; NEDEL, J.L.; REIS, E.M.; WIETHÖLTER, S. **Triticale: cultivo e aproveitamento**. Passo Fundo: Embrapa-CNPT, 1994. 72p. (Embrapa-CNPT. Documentos, 19).

BRAMMER, S.P.**Desenvolvimento de estoques citogenéticos de trigo para a identificação, caracterização, mapeamento e transferência de genes de resistência a ferrugem da folha**.Embrapa.2003

BENNET, M.D. Heterochromatin, aberrant endosperm nuclei and grain shriveling in wheat-rye genotypes. **Heredity**, 1977, 39: 411-419.

COPERCAMPOS, Triticale-Cereais-Agricultura. Disponível em:  
<[HTTP://coopercampos.com.br/agricultura/ceretricale.htm](http://coopercampos.com.br/agricultura/ceretricale.htm)> Acesso em; 29 de outubro 2003

COOPER, G.M. **A célula: uma abordagem molecular**. Ed Artemed. 2ª Ed 2001. Porto Alegre. 712 p.

CORRÊA, Maria **Ciclo celular e microsporogênese da espécie da família Araceae, coletadas no Sul do Brasil**. Dissertação em Agronomia – Área de concentração em Fitomelhoramento. UFPEL. Pelotas. 2004 p.

CHASE, A.; SEDULSKY, T. **primeiro livro de gramíneas: noções sobre a estrutura com exemplos da flora brasileira**. Geeolong, 1991. Instituto de Botânica. São Paulo. 123p. p. 11-17

FALCÃO, Tânea de **A Influência genotípica no comportamento meiótico e relação entre aberrações cromossômicas e fertilidade em triticales hexaploide (Triticosecale Wittmak)**. Dissertação em genética. UFRGS 1978. Porto Alegre. 145p.

FELÍCIO, J.C.; CAMARGO, C.E.; FILHO, A.W.P. F; GALLO, P.B. **Avaliação de genótipos de triticales e trigo, em ambientes favoráveis e desfavoráveis no estado de São Paulo**. Bragantina, campinas, 60(2), 83-91, 2001.

GUERRA, Marcelo. **Introdução a Citogenética geral**. Editora Guanabara. 1988. Rio de Janeiro. 142p.

GUERRA, m.; MAYO, S. Poliploidia em três espécies de Araceae coletadas em Pernambuco. In: **Congresso Nacional de Botânica.**, 47°, Nova Friburgo, Rio de Janeiro, 1996, 545 p.

GRIFFITS, Anthony. MILLER, Jeffrey; SUZUKI, David; LEWONTIN, Richard; GELBART, William. **Introdução a Citogenética**. 6ª edição. Editora Guanabara, 1998, R. J. 856p

GUPTA, P.K.; PRIYADARSHAN, P.M. Triticales: present status and future prospects. **Advances in Genetics**, 1982, 21: 255-345

JOHN, B.; LEWIS, K.R. **Hierarquia cromossômica: introdução à biologia dos cromossomos**. Ed. USP. 1979. São Paulo.

JOLY, A.B. **Botânica introdução a taxonomia vegetal**. 12ª Ed. Companhia editora Nacional, 1998. São Paulo.



JOUVE, N.; SOLER, C. Triticale genomic and chromosomes' history. P. 91-118 in: GUEDES-PINTO, H.; DARVEY, N.; CARNIDE, V.P. **Triticale Today and Tomorrow**.1996

LAWRENCE, C.W. **The effect of the irradiation of different stages in microsporogenesis on chiasma frequency**. Heredity, 1961.

NASCIMENTO JR Alfredo **Triticale: presente, passado e perspectivas**. PALESTRA MINISTRADA em 21/10/2003, na Embrapa Trigo, Passo Fundo, RS, Brasil., 43 slides no sistema Microsoft Power Point, 2003 a.

NASCIMENTO JR., A. do **Melhoramento genético de triticale e de centeio para a maior competitividade e sustentabilidade dos sistemas sulb-brasileiros de exploração agropecuária**. Projeto de Pesquisa aprovado pela Embrapa – Empresa Brasileira de Pesquisa, como parte do Macroprograma 2: Competitividade e Sustentabilidade, 2003b, 51 p.

NASCIMENTO JR, A. do; BAIER, A.C.; TEIXEIRA, M.C.C.; WIETHÖLTER, S. Triticale in Brazil. In: Mohamed Mergoum; Helena Gómez MacPherson (Org.) **Triticale Improvement and Production**. 1 ed. Roma: FAO, 2004, v.1, p.93-98.

OETLLER, G..The fortune of a botanical curiosity – Triticale:past, present and future. **Journal of Agricultural Science**, 2005, 143: 329-346.

OELKE, E.A; **Triticale in Minnesota**. University of Minnesota service Pub. Alternative, Field Crops Manual 1989.

OLIVEIRA, M.; PANDOLF, V. **Evolução do trigo (*Triticum aestivum*)**. Revisão bibliográfica apresentada na disciplina de Evolução, Curso de Pós- Graduação em Agronomia, UFPel, 1995, 23 p.

RAMALHO, Flávia C. **Taxonomia e número cromossômico de representantes da família Araceae em Pernambuco Recife**. UFRPE, 1995. Dissertação para obtenção do grau de mestre. 174p.

RAMALHO, M.A.P.; SANTOS, J.B.; PINTO, C.A.B.P. **Genética na agropecuária**. Ed. UFLA. 2ª ed. 2000.Lavras. 472p.

RAVEN P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN. S.E. **Biologia Vegetal**. 6ª edição. Editora Guanabara. Rio de Janeiro. 2001.906p.

RECANTO- Plantas- Cereais- centeio. Disponível em:

[<HTTP://WWW.recanto.paz.nom.br/plantas/cereais/centeio.htm>](http://WWW.recanto.paz.nom.br/plantas/cereais/centeio.htm) Acesso em: 04 de janeiro de 2004

ROSINHA, R.C.; BAIER, A.C.; CRÓCOMO, D.H.G.; GARCIA, J.C.; VIEIRA, L.F.; ROSINHA, R.C.; BORGONOV, R.A.; TOMASINI, R.G.A.; **Proposta de uma política de governo para o trigo, o milho, o sorgo e o triticale: Aspectos de substituição de importações e substituição de parte da farinha de trigo na produção de pães, massas e biscoitos**. Brasília: EMBRAPA, (EMBRAPA. Documentos, 1). 1983. 35p

ROYO, C. **El triticale: Bases para el cultivo y aprovechamiento**. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, 1992. 96 p.

ROCHA, J.A.G.; NEDEL, J.L.; BAIER, A.C. Teste de envelhecimento precoce para sementes de triticale (*Triticosecale witmack*). **Revista Brasileira de Agrociência**,v. 4, n. 3, p. 206-210, 1999.

SING, R.J. **Plant Cytogenetics**. 2ª edição. CRC PRESS LLC 2003 Nova YORK. 463p.

THOMAS, J.B., KALTSIKES, P.J., GUSTAFSON, J.P., ROUPAKIAS, D.G. Development of kernel shriveling in triticale. **Zeitschrift für Pflanzenzüchtung**, 1980, 85: 1-27.

VARUGUESE, G.; BACKER, T. **Triticale**. CIMMYTT, México, D.F. 32 pp, 1987.

VIÉGAS, Judith. ; **Meiose, Gametogênese e Fertilização em Animais e Vegetais**, 14 p., 2006

ZONTA, E.P.; MACHADO, A.D.; SILVEIRA J.P.SANEST: **Sistema de análise estatística para microcomputadores**. Registrado na secretaria especial de informática sob nº 066060 – categoria A. pelotas, RS; UFPel. 1984.