

## USO DE MUTAÇÕES INDUZIDAS E CRUZAMENTOS RECÍPROCOS NO INCREMENTO DA VARIABILIDADE GENÉTICA PARA O CARÁTER CICLO VEGETATIVO EM TRITICALE

### USE OF INDUCED MUTATIONS AND RECIPROCAL CROSSES IN THE IMPROVEMENT OF GENETIC VARIABILITY FOR HEADING DATE IN TRITICALE

Fábio Pandini<sup>1</sup> Fernando Irajá Felix de Carvalho<sup>2</sup> José Fernandes Barbosa Neto<sup>3</sup>

#### RESUMO

*O triticale, por ser uma espécie recente e desenvolvida artificialmente, possui uma estreita base genética. O estudo de mecanismos que contribuem para o incremento da variabilidade genética é de grande importância para o melhoramento do triticale e na expansão do seu cultivo. O objetivo deste trabalho foi comparar a eficiência de diferentes métodos para ampliar a variabilidade genética do caráter ciclo vegetativo em triticale. Cruzamentos recíprocos e mutações induzidas pela radiação gama, nas doses de 0, 5, 10, 20, 40 kR foram testados nas cultivares BR4 e EMBRAPA18 de triticale. Os resultados obtidos revelaram um acréscimo do ciclo vegetativo para a maioria dos tratamentos. Houve incrementos significativos nas variâncias para ambas as cultivares nas duas gerações estudadas. Houve alterações nas médias e distribuições de frequência na maioria dos tratamentos. As maiores alterações ocorridas nas variâncias sugerem que um grande número de genes de pequeno efeito foram atingidos, incrementando as classes genotípicas. Embora a recombinação e a segregação de genes tenha sido superior para o incremento do ciclo, classes genotípicas com menor ciclo foram observadas, principalmente para o tratamento 40 kR, sendo viável a seleção de indivíduos com maior precocidade. Os resultados indicam a possibilidade do uso destas técnicas para ampliar a variabilidade genética do caráter ciclo vegetativo, aumentando a probabilidade de êxito na seleção.*

**Palavras-chaves:** *X triticosecale wittmack*, radiação gama, precocidade.

#### SUMMARY

*Triticale as a recent and artificially developed species has a narrow genetic basis. The study of mechanisms that contribute to the increase of genetic variability has great importance to triticale breeding and its crop expansion. The objective of this study was to compare efficiency of different methods of improving genetic variability for heading date in triticale. Hybridization and induced mutation by gamma radiation (5, 10, 20 and 40 kR doses) were tested in the cultivars BR4 and EMBRAPA18 of triticale. For most of the treatments the results showed an increasing on the number of days to heading. There were significant increase on variances for BR4 and EMBRAPA18 in the two generations studied and alterations in the means and frequency distributions. Changes that occurred on variances suggest that a large number of minor genes with small effects were modified, contributing for increasing genotypic classes. Although recombination and gene segregation had been superior for lateness, genotypic classes with earlier heading date were observed, specially for the treatment 40 kR, showing feasible select early individuals. Results revealed possibility to enlarge genetic variability, enhancing efficiency of selection.*

<sup>1</sup>Engenheiro Agrônomo, Mestre. Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Av. Bento Gonçalves 7712, 90001-970, Porto Alegre, RS. Autor para correspondência.

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, PhD, Professor do Departamento de Plantas de Lavoura, FA/UFRGS.

**Key words:** *X triticosecale wittmack*, gamma radiation, earliness.

## INTRODUÇÃO

A obtenção de genótipos de triticales (*X triticosecale wittmack*) com maior precocidade é de grande importância para a implantação e adequação da época de semeadura das culturas de verão. Isso auxilia no ajuste dos genótipos para as condições de clima do Sul do Brasil, diminuindo os riscos durante o desenvolvimento da cultura. A recombinação de genes através de hibridações e a obtenção de alterações alélicas através de mutações induzidas podem ser de grande utilidade para obtenção de genótipos com maior precocidade, pois a ampliação da variabilidade genética é fundamental para facilitar a seleção de genótipos superiores em programas de melhoramento genético.

Agentes mutagênicos têm sido utilizados para a ampliar a variabilidade genética (MICKE & DONINI, 1993), sendo que genótipos mais precoces de triticales foram obtidos por BUTNARU(1991) utilizando diferentes doses de radiação gama. Na análise das populações de triticales com a utilização de raios gama nas gerações  $M_3$  e  $M_4$ , submetidas às doses de 10, 20 e 40 kR, foram isolados mutantes para várias características de interesse agrônomo, como a obtenção de genótipos com florescimento precoce (REDDY, 1988). O uso de altas doses tem causado efeitos letais em sementes de triticales e as baixas doses não têm apresentado alterações em diversos trabalhos realizados, justificando o uso de doses intermediárias de radiação (WOLSKI & POJMAJ, 1991). Por outro lado, cruzamentos artificiais em triticales pouco têm contribuído para incremento da variabilidade genética em comparação com outras espécies. Isso se justifica por ser uma espécie recentemente desenvolvida e com estreita base genética. Mutações induzidas e cruzamentos artificiais têm sido relatados separadamente em muitos trabalhos com a finalidade de ampliar a variabilidade genética em diferentes espécies cultivadas, porém poucos autores discutem comparativamente a utilização destas técnicas no melhoramento. O trabalho foi realizado com o objetivo de testar diferentes doses de radiação do mutagênico físico Cobalto-60 e cruzamentos recíprocos como mecanismos de ampliação da variabilidade genética para o caráter ciclo vegetativo em triticales.

## MATERIAIS E MÉTODOS

As cultivares de triticales BR4 e EMBRAPA18, utilizadas por serem genótipos elite,

foram submetidas a irradiação por Cobalto-60 a uma taxa de 0,25Gy/min, no Departamento de Engenharia Nuclear da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Os tratamentos de 5, 10, 20 e 40 kR foram aplicados por amostras de 1000 sementes de cada cultivar, a 13% de umidade. Foram realizados cruzamentos recíprocos entre estas cultivares.

Após a aplicação do agente mutagênico, as sementes  $M_1$  foram semeadas a campo no inverno de 1994, sendo colhida uma espiga por planta do afilho principal. Para compor a geração  $M_2$  foram selecionadas ao acaso 100 espigas das plantas  $M_1$  de cada tratamento, originando 100 famílias. Destas, foram retiradas duas a três sementes de cada planta com o objetivo de avançar uma geração no verão de 1994/1995 e as demais sementes  $M_2$  foram conservadas. No inverno de 1995 foram semeadas a campo todas as sementes  $M_2$  remanescentes das mesmas plantas das quais foram obtidas as sementes  $M_3$  no verão de 1994/1995.

O delineamento experimental foi de blocos casualizados com duas repetições, utilizando plantas individuais como unidade experimental. Os blocos foram compostos de linhas de três metros de comprimento, espaçadas de 0,2 metros, com 10 plantas por linha. Na maturação, as plantas foram colhidas e ensacadas separadamente.

Os cruzamentos recíprocos foram realizados, dando origem a duas populações que foram conduzidas separadamente, a fim de detectar possíveis diferenças. As sementes  $F_1$  foram obtidas a campo no inverno de 1994. As espigas provenientes dos cruzamentos foram colhidas separadamente e semeadas em telado no verão de 1994/1995, originando as sementes  $F_2$ . De cada planta  $F_1$  foi colhida a espiga do afilho principal, sendo ensacada e debulhada separadamente. No inverno de 1995 foram semeadas a campo, utilizando duas repetições de 20 linhas por cruzamento, no espaçamento e densidade descrito anteriormente.

Os dados referentes às gerações  $M_2$  e  $M_3$  dos tratamentos mutagênicos e  $F_2$  dos cruzamentos recíprocos foram obtidos no inverno de 1995 para cada planta, em todos os tratamentos e gerações utilizadas. As medidas foram efetuadas em plantas individuais, a partir da semeadura até a emissão completa da espiga do colmo principal, utilizando fitas de diferentes cores para diferenciar as plantas após o florescimento.

Para todos os tratamentos e gerações avaliadas foram obtidas as distribuições de frequência, médias ( $\bar{x}$ ) e variâncias ( $s^2$ ), sendo comparada com a

cultivar padrão (cultivar não tratada) através do teste t para médias e do teste F para variâncias, descritos por STEEL & TORRIE (1980). Os tratamentos da geração M<sub>2</sub> também foram comparados com a geração F<sub>2</sub> dos cruzamentos artificiais.

**RESULTADOS**

Para os cruzamentos recíprocos a amplitude de variação e o número de classes foram semelhantes aos obtidos por radiação. De modo geral, os cruzamentos recíprocos apresentaram maior distribuição nas diferentes classes avaliadas (Figura 1). O cruzamento BR4 x EMBRAPA18 apresentou ciclo mais longo com diferenças significativa em relação ao padrão (Tabela 1). Quando comparado com os tratamentos mutagênicos este cruzamento mostrou diferenças significativas apenas para a maior dose utilizada, pelo prolongamento do ciclo vegetativo. Contudo, as médias provenientes do cruzamento EMBRAPA18 x BR4 não apresentaram diferenças significativas em nenhuma das comparações efetuadas.

Os cruzamentos artificiais também foram eficientes em provocar alteração na variância em relação ao padrão e aos tratamentos irradiados para ambos os genótipos (Tabela 1).

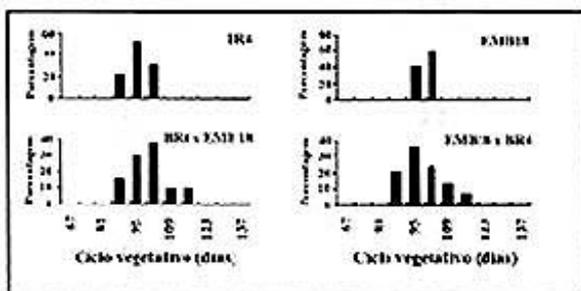


Figura 1 - Distribuição de frequência para o caráter ciclo vegetativo das cultivares BR4 e EMBRAPA18 na geração F<sub>2</sub> quando submetidos a cruzamentos recíprocos, Eldorado do Sul, RS, 1995.

As médias para as diferentes doses de radiação a partir do genótipo BR4 não apresentaram diferenças significativas quando comparadas com o tratamento padrão na geração M<sub>2</sub>, exceto o tratamento

Tabela 1 - Médias ( $\bar{x}$ ) e variâncias ( $\sigma^2$ ) para o caráter ciclo vegetativo (dias) na geração F<sub>2</sub> proveniente de cruzamentos recíprocos e da geração M<sub>2</sub> oriunda de diferentes doses de radiação gama (Co<sup>60</sup>) dos genótipos de triticale BR4 e EMBRAPA18. Eldorado do Sul, RS, 1995.

Tratamento	BR4			EMBRAPA18		
	n	$\bar{x}$	$\sigma^2$	n	$\bar{x}$	$\sigma^2$
Padrão	53	95,53	24,22	64	99,25	11,83
BR4 x EMBRAPA18	128	99,88*	64,16*	---	---	---
EMBRAPA18 x BR4	---	---	---	144	98,74	67,10*
5Kr	252	96,84	37,24**	278	98,93	22,02**
10Kr	243	97,51	42,49**	216	99,89	33,60**
20Kr	199	98,31*	43,46**	235	99,77	37,92**
40kF	200	95,20**	55,11*	62	98,95	58,83*

\* Significativo a 5% pelo teste de t para médias e pelo teste de f para variâncias em relação ao padrão;  
 \*\* Significativo a 5% pelo teste de t para médias e pelo teste de F para variâncias em relação ao cruzamento;  
 n = número de indivíduos avaliados.

20 kR no sentido de ampliação do ciclo vegetativo (Tabela 1). Para o genótipo BR4 os tratamentos irradiados provocaram alterações na variância para as duas gerações analisadas, com diferenças significativas para todos os tratamentos em relação ao padrão (Tabelas 1 e 2). Na geração M<sub>3</sub> houve diferenças significativas nas médias para todas as populações provenientes de tratamentos com radiação, sendo verificado um acréscimo para o ciclo vegetativo dos tratamentos em relação ao padrão (Tabela 2). Para o genótipo EMBRAPA18 houve diferenças significativas para as médias apenas na geração M<sub>3</sub> onde os tratamentos ampliaram significativamente o ciclo vegetativo em relação ao padrão, com exceção da maior dose de radiação (Tabela 2).

Os valores das variâncias foram incrementados com o aumento das doses para as duas gerações, com exceção do tratamento 5 kR na geração M<sub>3</sub> que revelou um comportamento intermediário. O genótipo EMBRAPA18 apresentou comportamento semelhante ao BR4, e para os tratamentos mutagênicos foram obtidas diferenças significativas das variâncias em relação ao padrão, exceto no tratamento 10 kR na geração M<sub>3</sub> (Tabela 2).

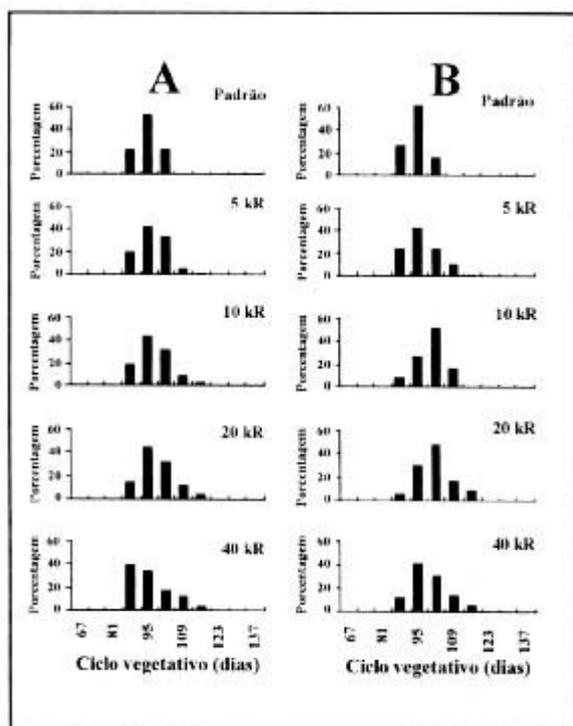
Um incremento no número de classes e amplitude de variação foi observado em todos os tratamentos utilizados. Para o genótipo BR4 na geração M<sub>2</sub> (Figura 2A) a amplitude obtida para o ciclo vegetativo foi de 88 a 116 dias, com semelhante número

de classes para os diferentes tratamentos mutagênicos. O tratamento de 40 kR provocou uma maior

**Tabela 2** - Médias ( $\bar{x}$ ) e variâncias ( $\sigma^2$ ) para o caráter ciclo vegetativo (dias) na geração  $M_2$  oriunda das cultivares de triticale BR4 e EMBRAPA18, submetidos a diferentes doses de radiação gama ( $Co^{60}$ ), Eldorado do Sul (RS), em 1995.

Trat.	BR4			EMBRAPA18		
	n	$\bar{x}$	$\sigma^2$	n	$\bar{x}$	$\sigma^2$
Padrão	62	94,21	19,45	69	98,75	12,36
5Kr	190	96,40*	41,07*	215	101,61*	40,55*
10Kr	31	100,42	31,72*	100	104,17*	17,52
20Kr	142	101,58*	41,59*	99	105,04*	39,16*
40Kr	161	99,09*	46,89*	26	103,88	57,07*

\* Significativo a 5% pelo teste t para médias e pelo teste F para variâncias em relação ao padrão; n = número de indivíduos avaliados; trat – tratamento.

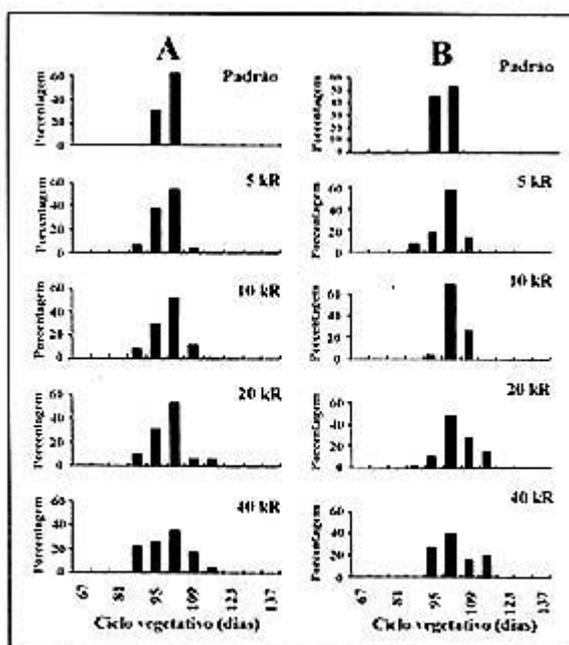


**Figura 2** - Distribuição de frequência para o caráter ciclo vegetativo da cultivar BR4 nas gerações  $M_2$  (A) e  $M_3$  (B), originadas de diferentes doses de radiação gama obtidas do radioisótopo Cobalto - 60, Eldorado do Sul, RS, 1995.

concentração de plantas aos 88 dias na geração  $M_2$  (Figura 2A). Os demais tratamentos de radiação gama apresentaram comportamento semelhante, tendendo para o incremento do ciclo, observado pela maior frequência de plantas aos 95 dias. Na geração  $M_3$  a amplitude e o número de classes para os tratamentos foram mantidos em relação à geração  $M_2$ , com exceção do tratamento 10 kR, que apresentou uma menor amplitude (Figura 2B).

O comportamento dos genótipos EMBRAPA18 e BR4 foram semelhantes (Figura 3), demonstrando uma menor amplitude de variação na geração  $M_2$ . Para todos os tratamentos, a maior concentração de plantas foi aos 102 dias, e distribuição semelhante de classes, oscilando o percentual de indivíduos para cada tratamento nas diferentes classes (Figura 3A). O tratamento 40 kR determinou uma maior homogeneidade de indivíduos entre classes, evidenciando a maior variação de distribuição em relação ao padrão e aos demais tratamentos obtidos por radiação. Na geração  $M_3$  o número de classes foi menor e o tratamento 10 kR apresentou uma menor amplitude (Figura 3B).

As regressões quadráticas explicaram o comportamento das diferentes doses de radiação e, embora os coeficientes de determinação tenham sido baixos, apresentaram significância para todas as



**Figura 3** - Distribuição de frequência para ciclo vegetativo da cultivar EMBRAPA18 nas gerações  $M_2$  (A) e  $M_3$  (B), originadas de diferentes doses de radiação gama obtida do radioisótopo Cobalto-60, Eldorado do Sul, RS, 1995.

avaliações, com exceção da geração  $M_2$  do genótipo EMBRAPA18 (Figura 4). A tendência constatada foi um incremento na duração do ciclo com o aumento das doses de radiação até o tratamento com 20 kR e reduzindo com o tratamento de 40 kR.

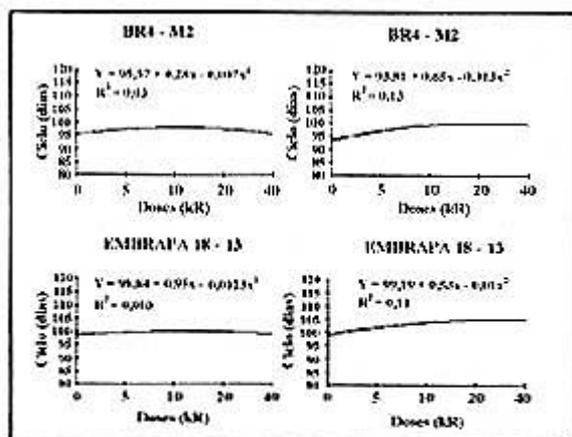


Figura 4 - Regressões ajustadas para ciclo vegetativo para as cultivares BR4 e EMBRAPA18, submetidas a diferentes doses de radiação gama, Eldorado do Sul (RS), em 1995.

**DISCUSSÃO**

Os resultados para os cruzamentos recíprocos com maior número de classes para ciclo tardio e superioridade nas médias revelam que os genótipos recombinantes ocorrem no sentido de incrementar o ciclo, havendo maior dificuldade de obter populações com combinações alélicas para redução do mesmo. Os tratamentos mutagênicos podem ser considerados mais efetivos que os cruzamentos recíprocos na obtenção de genótipos precoces, principalmente pelo número de indivíduos precoces obtidos com o tratamento 40 kR. As variâncias foram superiores para os cruzamentos artificiais na maioria dos tratamentos, contudo o maior número de classes ocorreu para o acréscimo do ciclo vegetativo, não contribuindo para a seleção e obtenção de plantas com maior precocidade. Por outro lado, as variações ocorridas para a maior dose de radiação utilizada foram semelhantes aos cruzamentos artificiais, com a vantagem de apresentarem classes com menor ciclo, representadas por um número maior de indivíduos. Houve uma ampliação da distribuição, contudo nem sempre estas modificações foram no sentido de reduzir o ciclo, pois a maioria dos tratamentos provocou um acréscimo na duração do ciclo vegetativo. Resultados

semelhantes foram obtidos por diversos autores em triticales e outras espécies, revelando uma tendência a prolongar o ciclo vegetativo (SINHA & JOSHI 1986; NASCIMENTO JUNIOR *et al.*, 1990).

Para ambas as cultivares as maiores amplitudes de variação e a freqüência diferenciada de indivíduos nas distintas classes, mantidas de uma geração a outra, sugerem a ocorrência de modificações genéticas. As médias das populações demonstram uma tendência ao incremento do ciclo vegetativo também nas menores doses de radiação utilizada, evidenciando o efeito do mutagênico sobre genes de maior expressão no caráter. As médias na geração  $M_2$  revelaram uma maior magnitude em relação à  $M_1$ , indicando a existência de segregação para os genes responsáveis pelo incremento do caráter. Para a cultivar EMBRAPA18, estas observações são ainda mais evidentes, pois mudanças nas médias foram observadas na geração  $M_3$ . Trabalhos anteriores utilizando outras cultivares de triticales demonstram que é possível obter indivíduos mutantes para o caráter ciclo vegetativo (RAJPUT, 1982; SINHA & JOSHI 1986).

Os incrementos lineares nas variâncias com o acréscimo da dose de radiação, semelhantes para as duas cultivares na maioria dos tratamentos nas gerações  $M_2$  e  $M_3$ , indicam a possibilidade de obter alterações no ciclo vegetativo. Esse incremento linear é explicado pela maior presença de indivíduos nas classes extremas, uma vez que as amplitudes de variação foram mantidas nas diferentes doses de radiação. Isto evidencia que um maior número de genes de pequeno efeito foi alterado, havendo predominância de micromutações para o caráter. Isso tem grande importância em programas de melhoramento, uma vez que há um aumento no número de classes genotípicas, com maior possibilidade do melhorista efetuar seleção. Paralelamente, poucos genes de maior expressão no caráter também podem ter sido modificados o que pode ser evidenciado pelo acréscimo significativo das médias para o ciclo vegetativo, bem como pelo comportamento quadrático das regressões. O acréscimo das médias para o caráter com o incremento das doses atinge um pico aos 20 kR, exceto para a cultivar EMBRAPA18, na geração  $M_2$ .

Embora tenha ocorrido uma associação significativa entre o aumento das doses e modificações genéticas, os valores baixos do coeficiente de determinação indicam a necessidade de controlar um número maior de variáveis. O decréscimo da média para o tratamento 40 kR em relação às demais doses de radiação, bem como o alto número de indivíduos nas classes precoces, principalmente na cultivar BR4, demonstra que alelos responsáveis pela redução do

ciclo também foram atingidos. O comportamento das regressões, aliado às maiores variâncias apresentadas pelo tratamento 40 kR, confirmado ainda pelas distribuições de frequência com grande número de indivíduos nas classes de menor ciclo vegetativo, demonstram a possibilidade de obter plantas mais precoces para ambas as cultivares com a utilização deste tratamento. A obtenção de genótipos com maior precocidade a partir de tratamentos mutagênicos em diferentes espécies também são citados na literatura (RAJPUT, 1982; TULMANN NETO & SABINO, 1994). Os tratamentos mutagênicos foram eficientes em ampliar a variabilidade genética do caráter ciclo vegetativo, demonstrando a capacidade dos raios gama em induzir mutações, provocando alterações nas frequências alélicas e nas frequências genotípicas do caráter.

A maior variabilidade detectada através das distribuições de frequência e os incrementos obtidos nas variâncias, bem como a redução linear da média com o acréscimo da dose de radiação, sugerem a viabilidade de induzir mutações através de raios gama. Isto possibilita a obtenção de incrementos na variabilidade genética para o caráter ciclo vegetativo e pode ter grande contribuição para o melhoramento genético, como uma técnica auxiliar para obtenção de genótipos mais promissores. Além disso, na irradiação de sementes, pode ser utilizado um número maior de genótipos e reduzir o número de cruzamentos artificiais, que são dispendiosos em espécies autógamas e exigem grande mão-de-obra. Além disso, o uso de mutagênicos, por envolver um maior número de genitores, pode minimizar os riscos da vulnerabilidade genética.

## CONCLUSÕES

Os agentes mutagênicos e os cruzamentos recíprocos são eficientes para o incremento da variabilidade genética do triticale e possibilitam a ocorrência de indivíduos segregantes para o caráter ciclo vegetativo, podendo auxiliar na obtenção de genótipos superiores; os tratamentos mutagênicos tendem a prolongar o ciclo vegetativo, quando são

utilizadas doses menores de radiação gama; as maiores modificações provocadas nas variâncias demonstram que maior número de genes de pequeno efeito foram alterados; plantas precoces de triticale podem ser obtidas com a utilização das doses de 20 e 40 kR de radiação gama.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao CNPq pelo auxílio financeiro para a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUTNARU, G. Aspects concerning mutagenesis in triticale. In: INTERNATIONAL TRITICALE SYMPOSIUM, 2, 1991, Passo Fundo, RS. **Proceedings...** México, 1991. 725 p. p. 154-156.
- MICKE, A., DONINI, B. **Plant Breeding: Principles and prospects.** London: Chapman & Hall, 1993. Cap.4: Induced mutations: p. 152-162.
- NASCIMENTO JUNIOR, A. do, CARVALHO, F.I.F. de, BARBOSA NETO, J.F., *et al.* Agentes mutagênicos e a intensidade de variabilidade genética em caracteres adaptativos na cultura da aveia. (*Avena sativa* L.). **Agronomia Sulriograndense**, Porto Alegre, v. 26, n. 2, p. 199-216, 1990.
- RAJPUT, M.A. Induced variability for heading date, plant height and tiller number in triticale. **Pakistan J Sci Ind Res**, Tandojam, v. 25, p. 77-79. 1982 .
- REDDY, V.R.K. Desirable induced mutation in triticale. **J Nuclear Agric Biol Meerut**, v. 17, p. 76-82. 1988.
- SINHA, R.P., JOSHI, M.G. Induced polygenic variation in hexaploid triticale in M<sub>1</sub> generation. **J Nuclear Agric Biol**, New Delhi, v. 15, p. 170-174, 1986.
- STEEL, R.G.D., TORRIE, J.H. **Principles and procedures of statistics.** 2. ed. New York: McGraw-Hill, 1980. 633 p.
- TULMANN NETO, A., SABINO, J.C. Indução e uso de mutante de hábito determinado e precoce em feijoeiro (*Phaseolus vulgaris* L.). **Rev Brasil Genet**, Ribeirão Preto, v. 17 n. 4, p. 425-30, 1994.
- WOLSKI, T., POJMAJ, M.S. Breeding strategies for improving lodging resistance in winter triticale in connection with heterosis. In: INTERNATIONAL TRITICALE SYMPOSIUM, 2, 1990, Passo Fundo. **Proceedings...** México, 1991. 725 p. p. 140-144. 1991.