

TRANSFORMAÇÕES CITOMORFOLÓGICAS EM PLANTAS DE *Centrosema virginianum* (L.) BENTH. PELO USO DA COLCHICINA

CYTOMORPHOLOGICAL TRANSFORMATION IN PLANTS OF THE *Centrosema virginianum* (L.) BENTH. BY USING COLCHICINE

Alice Battistin* Denize Rosana Jalovitzki** Zilda Marileide Santos Leal***

RESUMO

Diferentes concentrações de colchicina foram aplicadas em sementes de *Centrosema virginianum* (L.) Benth., por períodos variados de tempo, com a finalidade de detectar reações citomorfológicas no desenvolvimento de suas plantas. *Centrosema* mostrou alta sensibilidade à colchicina, sobrevivendo apenas 5% das mesmas. Várias alterações foram observadas em seus caracteres morfológicos, e, em pontas de raízes, ocorreu elevada taxa de polissomatia com dois novos níveis de ploidia, $2n = 4X = 36$ (tetraplóides) e $2n = 6X = 54$ (hexaplóides).

Palavras-chave: *Centrosema*, citomorfologia, colchicina, ploidia.

SUMMARY

Several concentrations of colchicine were applied in the seeds of *Centrosema virginianum* (L.) Benth. during variable periods of time in order to determine some cytomorphological reactions in the development of the plants. The *Centrosema* have demonstrated high sensibility to colchicine, with only 5% survived. Several differences were observed in the morphological characters and, in the root-tips it was detected high percentage of polissomaty with two news levels of ploidy, $2n = 4X = 36$ (Tetraploids) and $2n = 6X = 54$ (hexaploids).

Key words: *Centrosema*, cytormorfology, colchicine, ploidy.

INTRODUÇÃO

Novos rumos foram abertos para o melhora-

mento de plantas, a partir da descoberta do uso da colchicina como agente indutor de poliploidia. A colchicina é um alcalóide extraído da *Colchicum autumnale*, que atua não somente como antimitótico, inibindo a formação do fuso de divisão ou levando à formação de fuso abortivo, mas, também, pelo fato de ser tóxica, contribue na ocorrência de modificações morfofisiológicas das plantas.

Em espécies forrageiras, as perspectivas de sua aplicação, são bastante boas, e, talvez, sejam aquelas plantas que, ao sofrerem alterações pelo uso do alcalóide, tenham mais chances de serem melhoradas (SIMONDS, 1980; EVANS, 1981 e SCHIFINO, 1985).

Embora possa acontecer uma diminuição na produção de sementes, este fenômeno pode ser altamente vantajoso para plantas que tenham como principal interesse a produção de massa verde (uma vez manifestado o efeito gigantismo).

Diversos trabalhos em leguminosas forrageiras foram feitos, utilizando-se colchicina como agente modificador, com resultados satisfatórios em vários caracteres da planta (DÜMBIER et al, 1975).

Sendo o gênero *Centrosema* (D.C.) Benth., uma das leguminosas que apresenta boas características para uso em pastagens, neste trabalho tentamos evidenciar algumas reações citomorfológicas em resposta à diferentes tratamentos com colchicina.

MATERIAL E MÉTODOS

Sementes de *C. virginianum*, procedentes de Osório (RS), Torres (RS) e Piracicaba (SP), foram plantadas no Jardim Botânico da UFSM, e sementes descendentes destas plantas foram utilizadas neste trabalho.

A curva de absorção de água, foi obtida pela média de 40 sementes imersas em água destilada, e pesadas de hora em hora, até atingirem o platô de estabilidade.

* Professor Titular, Doutor em Agronomia, Departamento de Biologia - Genética, Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). 97119-900 - Santa Maria, RS.

** Bolsista de Iniciação Científica - CNPq

*** Bolsista de Iniciação Científica - FAPERGS, Departamento de Biologia - Genética.

Foram realizados 5 experimentos, usando-se diferentes concentrações de colchicina por períodos variáveis de tempo (Tabela 1). Para cada experimento foram usadas 15 sementes tratadas e 4 testemunhas em cada tratamento.

As análises mitóticas, quanto aos níveis de ploidia, foram feitas em 5 raízes tratadas e 2 testemunhas de cada tratamento. A metodologia usada para as preparações citológicas foi de BATTISTIN e VARGAS (1989). As restantes 10 sementes e 2 testemunhas foram germinadas em copos plásticos e, após o desenvolvimento, transferidas para o campo.

A partir da data do plantio em copos até a coleta dos últimos dados, as plantas foram analisadas quinzenalmente quanto aos seguintes caracteres morfológicos: desenvolvimento dos primeiros folíolos, cor, espessura e forma das folhas, desenvolvimento geral da planta, época de florescimento, produção de flores e sementes. Para constatar a persistência dos níveis de ploidia, foram feitas análises mitóticas em pontas de raízes nas sementes descendentes.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verifica-se que a ascensão da curva de absorção é brusca nas 6 primeiras horas seguida pelo estabelecimento de um platô por volta da sétima hora (Figura 1). Baseando-se nestes dados foi escolhido o tempo de 7 horas como o menor período em que as células iniciam suas mitoses. A atuação da colchicina sobre as células interfásicas, nesta espécie, foi considerada efi-

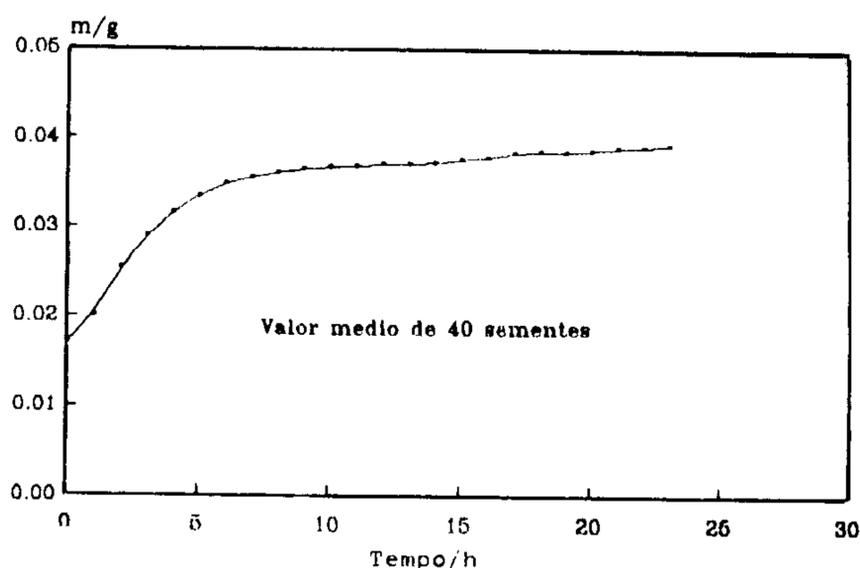


FIGURA 1 - Curva de absorção de água das sementes para germinação de *C. virginianum* (L.) Benth.

ciente após um tempo mínimo de 6 horas de contato (Tabela 1).

Das 400 sementes inicialmente tratadas e germinadas, somente 20 sobreviveram e completaram um ciclo biológico. Isto representa uma sobrevivência de apenas 5% das plantas.

O efeito mais drástico foi observado nos tratamentos de $3,00 \times 10^{-1}\%$ de colchicina nos períodos de 6 e 8 horas, em que todas as sementes germinaram (Figura 2), porém a maioria não formou cotilédones e morreu após 25 dias. Outras emitiram um cotilédone anormal, não formaram raízes (Figuras 3 e 4) e morreram após 45 dias.

As sementes tratadas com colchicina $2,00 \times 10^{-1}\%$ por 6 e 8 horas, germinaram 100% e tive-

TABELA 1 - Concentração da solução de colchicina, tempo de tratamento e épocas de plantio por experimento - Ano 1990

Colchicina %	t/h	1 ^a			2 ^a			3 ^a			4 ^a			5 ^a		
		P.G.	T.C.	L.V.												
$3,00 \times 10^{-1}$	6	20/04	30/04	28/20	15/05	25/05	28/10	10/06	20/06	28/10	05/07	15/07	28/10	30/07	10/08	28/10
	8															
$2,00 \times 10^{-1}$	6	20/04	30/04	28/10	15/05	25/05	28/10	10/06	20/06	28/10	05/07	15/07	28/10	30/07	10/08	28/10
	8															
$1,50 \times 10^{-1}$	6	20/04	30/04	28/10	15/05	25/05	28/10	10/06	20/06	28/10	05/07	15/07	28/10	30/07	10/08	28/10
	8															
$6,25 \times 10^{-3}$	6	20/04	30/04	28/10	15/05	25/05	28/10	10/06	20/06	28/10	05/07	15/07	28/10	30/07	10/08	28/10
	8															

P.G. - Postas no germinador a 25°C

T.C. - Transferidas para copos plásticos e mantidas em laboratório numa temperatura média entre 15,4°C a 19,8°C.

L.V. - Transferidas para o campo.

t/h - Tempo em horas

ram um crescimento inicial diferenciado (Figuras 2, 3 e 4), mas quando colocadas no campo, ambas atingiram o mesmo crescimento, emitindo apenas 4 folhas compostas com 2 folíolos (Figuras 5 e 6). Não formaram flores, nem frutos, porém não morreram.

Nos tratamentos de colchicina a $1,50 \times 10^{-1}\%$ por 6 e 8 horas, quando comparadas com as testemunhas, as sementes tiveram uma germinação e um crescimento inicial bem mais lento (Figuras 2, 3 e 4). Entretanto, quando colocadas no campo, foram as que mais se assemelharam às testemunhas (Figuras 7, 8 e 9 respectivamente). Apesar das plantas do tratamento $1,50 \times 10^{-1}\%$ por 8 horas serem mais vigorosas que as plantas do tratamento $1,50 \times 10^{-1}\%$ por 6 horas, em ambas ocorreu formação de touceiras, boa ramificação, grande

número de folhas, algumas mais carnosas e outras rugosas. Algumas plantas apresentaram um verde mais intenso. A floração ocorreu na mesma época das plantas testemunhas. Houve diminuição na produção de sementes.

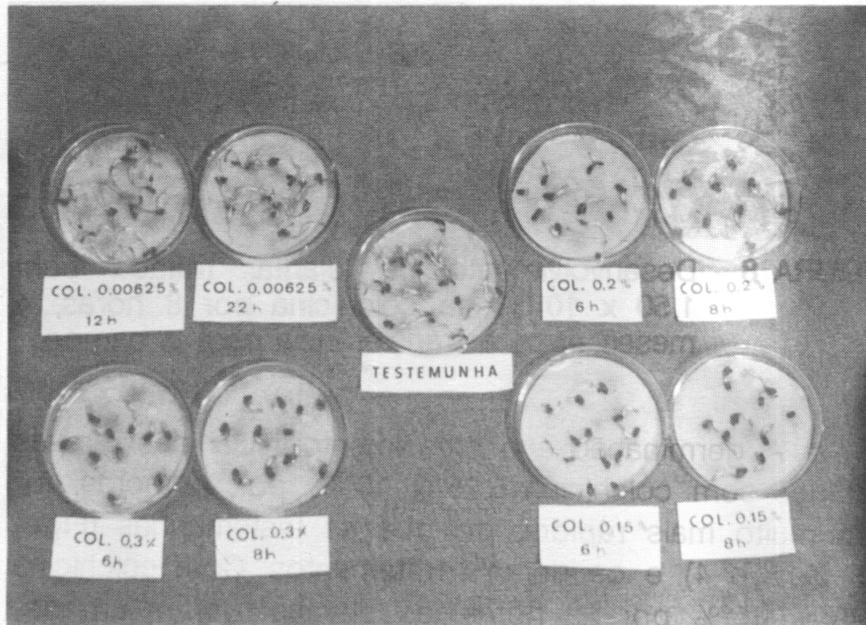


FIGURA 2 - Efeitos das diferentes concentrações de colchicina, no tratamento das sementes, 7 dias após a germinação.

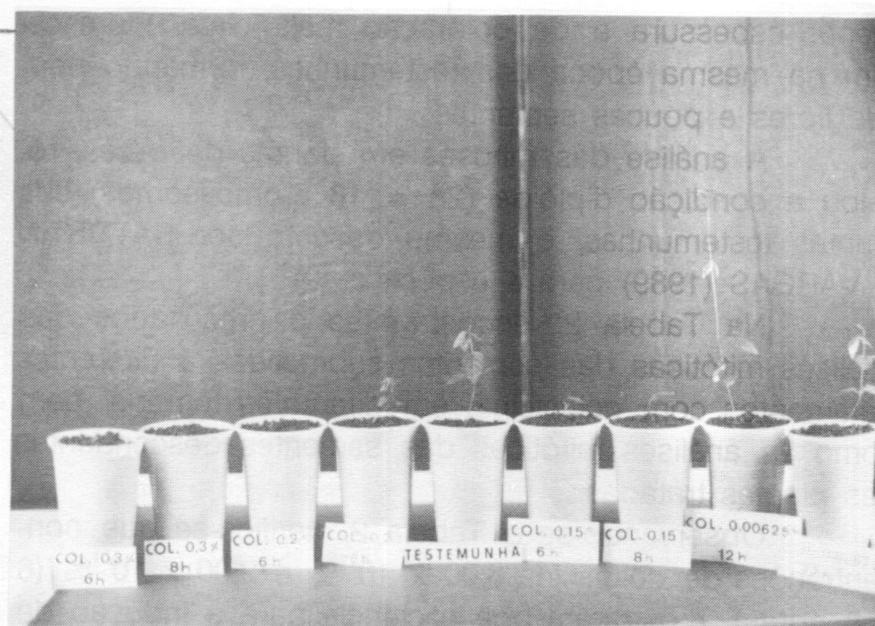


FIGURA 3 - Efeitos das diferentes concentrações de colchicina, no desenvolvimento das plântulas, 45 dias após a germinação.

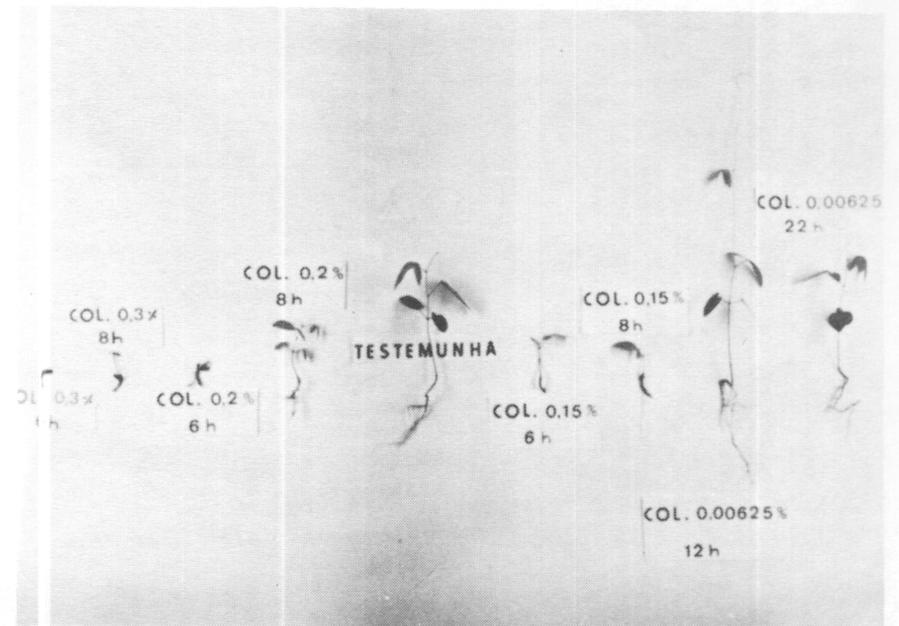


FIGURA 4 - Efeitos das diferentes concentrações de colchicina no desenvolvimento das raízes, 45 dias após a germinação.

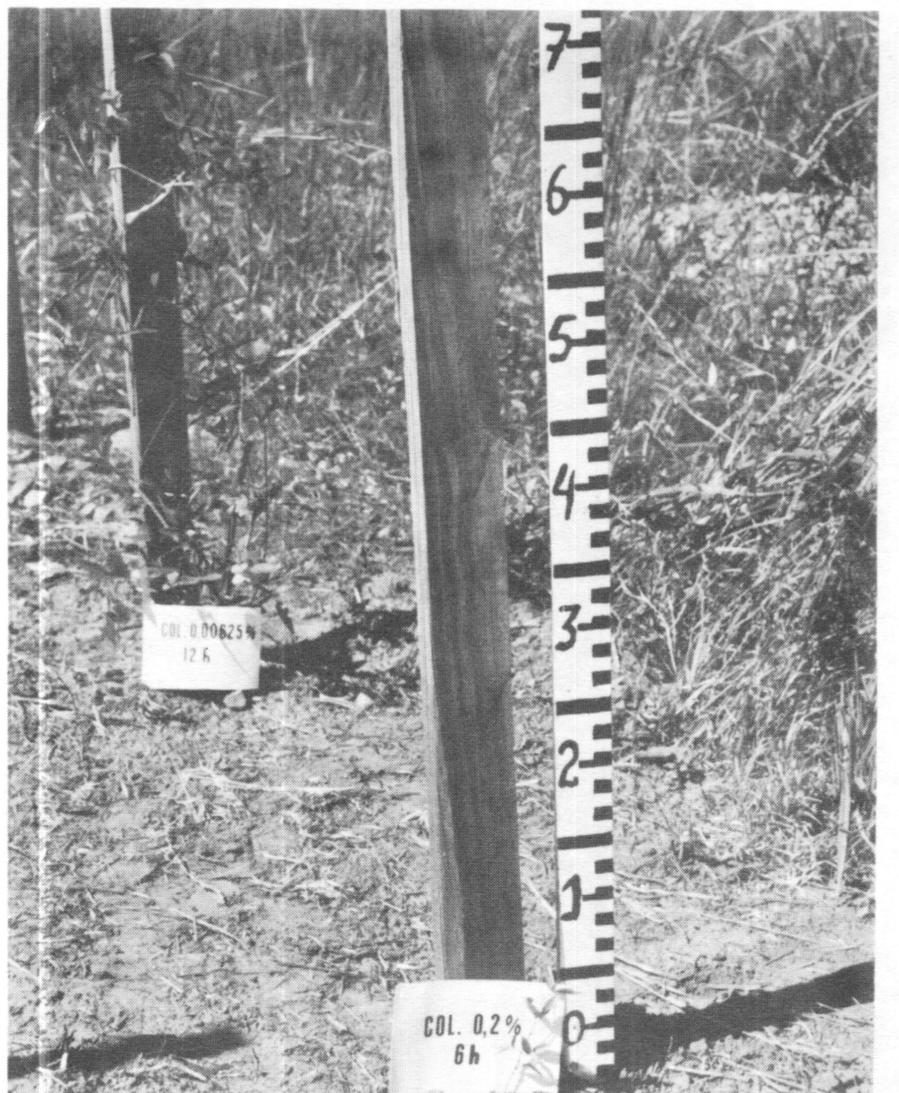


FIGURA 5 - Desenvolvimento da planta, tratada com $2,00 \times 10^{-1}\%$ de colchicina por 6 horas, 4 meses após a transferência para o campo.

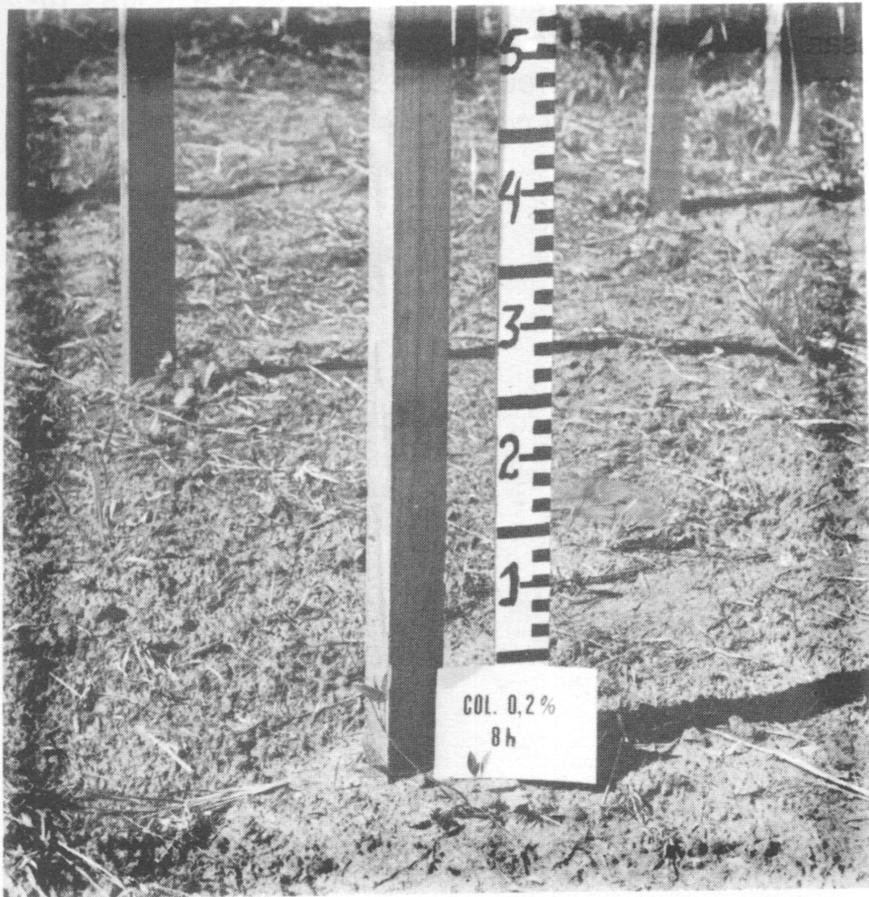


FIGURA 6 - Desenvolvimento da planta, tratada com $2,00 \times 10^{-1}\%$ de colchicina por 8 horas, 4 meses após a transferência para o campo.



FIGURA 8 - Desenvolvimento da planta, tratada com $1,50 \times 10^{-1}\%$ de colchicina por 8 horas, 4 meses após a transferência para o campo.

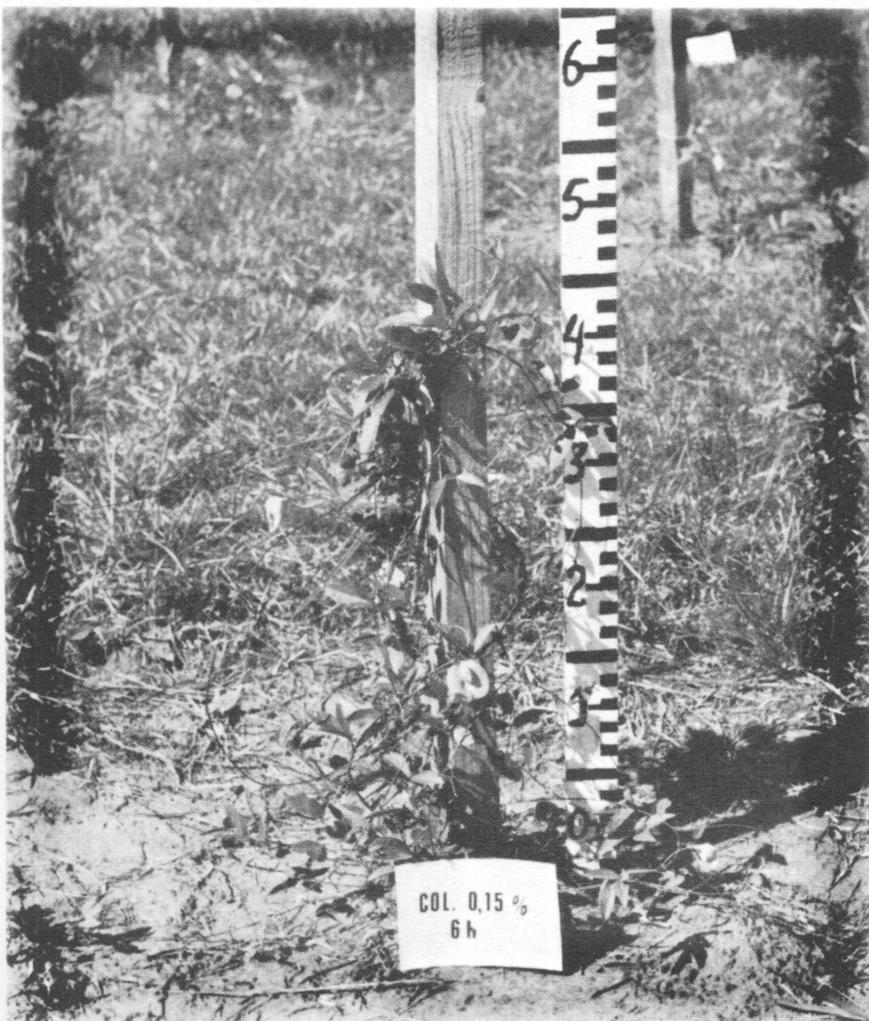


FIGURA 7 - Desenvolvimento da planta, tratada com $1,50 \times 10^{-1}\%$ de colchicina por 6 horas, 4 meses após a transferência para o campo.

A germinação e o crescimento inicial das plantas tratadas com colchicina $6,25 \times 10^{-3}\%$ por 12 horas, foram muito mais rápidos do que as testemunhas (Figuras 2, 3 e 4) e os demais tratamentos. Com colchicina $6,25 \times 10^{-3}\%$ por 22 horas, as plantas tiveram um desenvolvimento inicial semelhante às testemunhas (Figuras 2, 3 e 4). Em ambos, o terceiro par de folhas apresentou somente 2 folíolos albinos (Figura 3). No campo atingiram altura semelhante às testemunhas (Figs. 9, 10 e 11). Caracterizam-se por formarem poucas ramificações, não desenvolverem touceiras, produzir folhas de menor espessura e de coloração mais clara. Floresceram na mesma época das testemunhas, formando poucas flores e poucas sementes.

A análise das mitoses em pontas de raízes, revelou a condição diplóide ($2n = 18$ cromossomos) das plantas testemunhas, o mesmo descrito por BATTISTIN & VARGAS (1989) para a espécie.

Na Tabela 2, encontram-se os resultados das análises mitóticas das sementes submetidas a diferentes tratamentos com colchicina, em diferentes tempos, bem como as análises mitóticas das sementes descendentes das plantas tratadas.

Observando-se a Tabela 2, verifica-se que concentrações de colchicina $3,00 \times 10^{-1}\%$ e $2,00 \times 10^{-1}\%$ (6 e 8 horas), mostraram boa eficiência para a indução de poliploidia, embora a taxa de mortalidade fosse 100% em um dos tratamentos e, as do outro tratamento, não pudessem ser avaliadas citologicamente na descendên-



FIGURA 9 - Desenvolvimento da planta testemunha, 4 meses após a transferência para o campo.

cia, pelo fato de não produzirem sementes.

Foi detectada ocorrência de polissomatia em muitas raízes tratadas e analisadas, com exceção nos tratamentos $3,00 \times 10^{-1}\%$ e $2,00 \times 10^{-1}\%$ (6 e 8 horas), cujas células pertencentes a mesma raiz, possuíam o mesmo número de cromossomos.

Tratamentos com colchicina $1,50 \times 10^{-1}\%$ por 6 e 8 horas, mostraram inicialmente boa resposta à indução (16%), entretanto, na descendência só foram encontrados diplóides (Tabela 2).

Dos tratamentos com colchicina $6,25 \times 10^{-3}\%$, o mais eficiente foi o que permaneceu durante 22 horas. Sua descendência manteve os diferentes níveis de células poliplóides (43%) embora, todas as sementes analisadas apresentassem polissomatia.

CONCLUSÕES

Centrosema virginianum (L.) Benth., mostrou grande sensibilidade ao tratamento com colchicina, man-



FIGURA 10 - Desenvolvimento da planta, tratada com $6,25 \times 10^{-3}\%$ de colchicina por 12 horas, 4 meses após a transferência para o campo.

tendo apenas sobrevivência de 5% de suas plantas. Somente as concentrações mais baixas permitiram o desenvolvimento das mesmas.

Além de ocorrerem diversas modificações morfológicas, foram encontrados entre as células, vários níveis de ploidia, indicando ser possível conseguir nesta espécie plantas poliplóides através do método de indução pela colchicina.

A elevada taxa de polissomatia encontrada nas raízes, provavelmente fosse causada pela colchicina, uma vez que nas testemunhas o fenômeno não ocorreu.

AGRADECIMENTOS

As autoras agradecem ao CNPq, FAPERGS e FIPE pelo apoio financeiro. Ao Departamento de Biologia da Universidade Federal de Santa Maria, RS onde foi realizado o trabalho. Aos Professores Dr. Reinaldo Simões Gonçalves e Engenheiro Oscar Carvalho pelo apoio técnico.

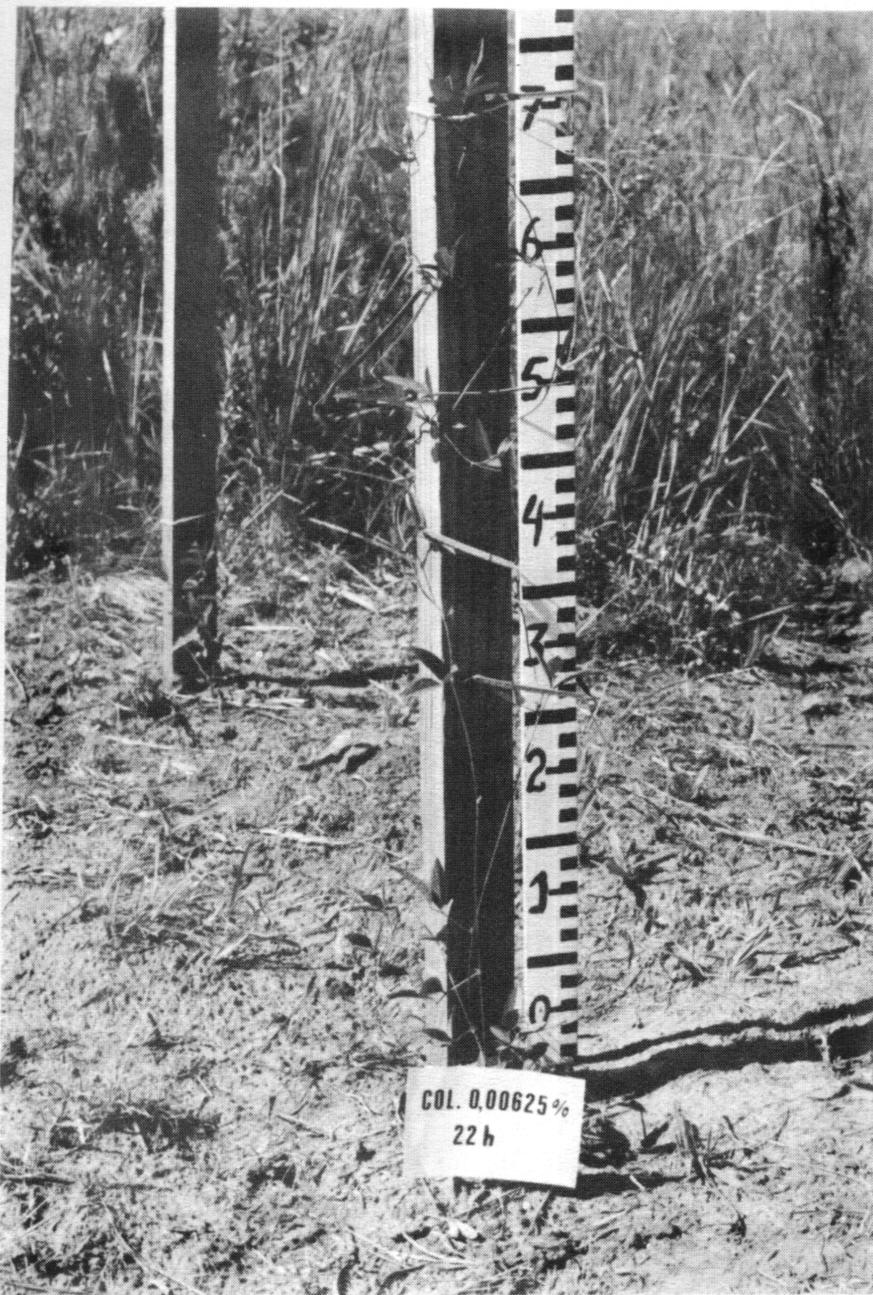


FIGURA 11 - Desenvolvimento da planta, tratada com $6,25 \times 10^{-3}\%$ de colchicina por 22 horas, 4 meses após a transferência para o campo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATTISTIN, A., VARGAS, M.G. A cytogenetics study of seven species of *Centrosema* (D.C.) Benth. (Leguminosae-Papilionoideae). *Rev Bras Genet*, v. 12, n. 2, p. 319-329, 1989.

TABELA 2 - Determinação do número cromossômico em metáfases mitóticas de pontas de raízes de *Centrosema virginianum* (L.) Benth.

2ª - Tratadas com colchicina - ano 1990				Níveis de ploidia (% células)		
T.C. %	t/h	R.E.	C.A.	2n=18	4n=36	6n=54
$3,00 \times 10^{-1}$	6	25	64	90,6	4,70	4,70
$3,00 \times 10^{-1}$	8	25	94	92,6	5,30	2,10
$2,00 \times 10^{-1}$	6	25	92	96,7	3,30	
$2,00 \times 10^{-1}$	8	25	106	96,2	3,80	
$1,50 \times 10^{-1}$	6	25	58	86,2	13,8	
$1,50 \times 10^{-1}$	8	25	60	81,7	18,3	
$6,25 \times 10^{-3}$	12	25	85	84,7	8,20	7,10
$6,25 \times 10^{-3}$	22	25	75	72,0	16,0	12,0

2b - Descendentes das plantas tratadas com colchicina - Ano 1991						
$3,00 \times 10^{-1}$	6					
$3,00 \times 10^{-1}$	8					
$2,00 \times 10^{-1}$	6	Não formaram sementes				
$2,00 \times 10^{-1}$	8					
$1,50 \times 10^{-1}$	6	15	53	10,0		
$1,50 \times 10^{-1}$	8	13	47	10,0		
$6,25 \times 10^{-3}$	12	17	45	80,0	17,8	2,20
$6,25 \times 10^{-3}$	22	21	30	56,7	30,0	13,3

T.C. = Tratamento com colchicina

R.E. = Número de raízes examinadas

C.A. = Número de células analisadas

- DÜMBIER, M. W., ESKEW, D.L., BINGHAM, E.T., et al. Performance of genetically comparable diploid and tetraploid alfalfa; agronomic and physiological parameters. *Crop Science*, v. 15, p. 211-214, 1975.
- EVANS, G.M. Polyploidy and crop improvement. *Journal of the Agricultural Society of the University of Wales*, v. 62, p. 93-116, 1981.
- SCHIFINO, M.T. Estudos citogenéticos em *Trifolium rio-grandense* Burkart, *T. polymorphum* Poir e *T. repens* L. Indução de poliploidia, número cromossômico, cariótipo, comportamento meiótico. Porto Alegre, 1985. 255 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Curso de Pós-Graduação em Genética. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 1985.
- SIMONDS, N.W. Polyploidy in plant breeding. *Span*, v. 23, n. 2, p. 73-75, 1980.