

## INDUÇÃO DE POLIPLOIDIA EM LENTILHA

(*Lens esculenta* Moench.)

Induction of Polyploidy in Lentils

(*Lens esculenta* Moench.)

Wilson Manara<sup>1</sup>

Nublea T. Felkl Manara<sup>2</sup>

Ricardo Magnavaca<sup>3</sup>

Afonso Celso C. Valois<sup>3</sup>

Heraldo S. de Vasconcelos Sampaio<sup>3</sup>

### RESUMO

Sementes de lentilha (*Lens esculenta* Moench), foram tratadas com soluções de colchicina em diversas concentrações por períodos variáveis de tempo com a finalidade de obtenção de tipos poliploides.

Em testes citológicos preliminares, foi constatada a condição diploide das sementes ( $2n = 14$ ).

A análise citológica do material tratado, mostrou a existência de dois novos níveis de ploidia,  $2n = 28$  (tetraploide)  $2n = 56$  (octoploide) em pontas de raiz.

A lentilha demonstrou alta sensibilidade à colchicina. Somente concentrações muito baixas como 0,00625% permitiram a germinação e início de desenvolvimento de algumas plantas.

### SUMMARY

With the purpose of obtaining polyploids, seeds of lentil (*Lens esculenta* Moench), were treated with colchicine solutions at several concentrations for variable periods of time.

Preliminary tests showed that the original seeds were diploids ( $2n = 14$ ).

The cytological analysis of root-tips after the treatment showed the existence of two levels of ploidy,  $2n = 28$  (tetraploid) and  $2n = 56$  (octoploid).

The lentil have demonstrated high sensibility to colchicine. Only very low concentrations as 0,00625% permitted the germination and the onset of development of some plants.

### INTRODUÇÃO

A colchicina tem sido largamente utilizada na indução de poliploidia em diferentes espécies. Devido a sua fácil manipulação e efetividade na indução de poliploidia, ALLARD (1), foi escolhida como agente indutor no presente trabalho.

A literatura consultada nada cita a respeito da aplicação desta metodologia em lentilha e muito pouco em outras leguminosas.

- 1 — Prof. Assistente do Departamento de Fitotecnia da UFSM, aluno do Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da ESALQ., Bolsista da CAPES.
- 2 — Prof.<sup>a</sup> Assistente do Departamento de Fitotecnia da UFSM, aluna do Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da ESALQ.
- 3 — Engenheiros Agrônomos, alunos do Curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas da ESALQ, Bolsista do CNPq.

Em espécies de *Trifolium*, BREWBAKER (4), aplicou colchicina em "seedlings" nas concentrações de 0,15% e 0,30% com tempos de tratamento de 10 a 20 horas. Os tratamentos de menor duração permitiram maior viabilidade e mostraram ser tão efetivos na indução de poliploidia quanto os de maior tempo. Sugeriu também que tratamento de "seedlings" de leguminosas, de rápido desenvolvimento, com colchicina a 0,15% por 8 a 12 horas, poderia ser o mais efetivo.

ARMSTRONG & ROBERTSON (2), em *Trifolium*, imergiram "seedlings" em solução a 0,2% de colchicina por 12 horas. Com este tratamento conseguiram cerca de 7% de tetraploides, totais ou parciais.

ELLIOTT (7), fez uma revisão sobre indução de poliploidia com o emprego de colchicina em diversas espécies. Citou trabalho com alfafa no qual foram tratados brotos com solução a 0,2% por 1 hora e 30 minutos. Em grão de bico, foram tratadas sementes com solução a 0,25% por 30 minutos.

PORTER & WEISS (8), referem-se ao uso de colchicina na indução de poliploidia em leguminosas em geral como um método ineficiente. Em soja, indivíduos tetraploides foram sensivelmente inferiores aos diploides, do ponto de vista comercial.

Em outras famílias de plantas, BLAKESLEE & AVERY (3), trabalhando com *Datura stramonium*, trataram sementes com colchicina em concentrações de 0,003125% a 1,6%. Citaram que nenhum tratamento abaixo de 0,1% deu evidência de efetividade.

EIGSTI & DUSTIN (6), em revisão geral sobre o assunto, referiram que soluções mais concentradas aplicadas por períodos curtos tem produzido melhores resultados que soluções mais diluídas aplicadas por períodos longos. Acrescentaram ainda que, se uma concentração universal fosse selecionada para tratamento com colchicina, ela seria de uma solução a 0,20% ou próximo desta.

O objetivo deste trabalho foi verificar a possibilidade de obtenção de tipos poliploides pelo tratamento de sementes de lentilha com colchicina.

#### MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de lentilha foram adquiridas no comércio, sendo feita uma seleção para cor rosa e tamanho médio.

Na determinação da curva de absorção, foram usadas 40 sementes imersas em água destilada em Placa de Petri. As pesagens foram feitas de hora em hora, até atingir o platô de estabilidade.

Foram realizados 4 experimentos distintos. As concentrações de colchicina e tempo de tratamento para os 4 experimentos, bem como datas de plantio, constam na tabela 1.

TABELA 1 — Concentração da solução de colchicina, tempo de tratamento e épocas de plantio por experimento.

	E X P E R I M E N T O S			
	1	2	3	4
Concentrações %	0,4 e 0,8	0,1 e 0,2	0,05 e 0,025	0,0125 e 0,00625
Tempo (horas)	4 e 24	4 e 8	3 e 6	3 e 6
Data/plantio	28/4/72	13/5/72	23/5/72	23/5/72

Em todos os experimentos, para cada concentração, foram utilizados os dois tempos de tratamentos citados. Também em cada experimento foram colocadas duas testemunhas, uma para cada tempo de tratamento.

As sementes tratadas e testemunhas foram plantadas em caixas de 50x25 cm, contendo terriço peneirado, no espaçamento de 5x5 cm e, mantidas em casa de vegetação.

Foi feito teste preliminar para verificar a condição de diploidia das sementes  $2n=14$  — DARLINGTON & WYLIE (5), utilizando-se pontas de raiz pré-tratadas com solução de hidroxiquinoleína a 0,002 mol durante 4 horas. Na confecção de lâminas, empregou-se a técnica de "smear" e como coranteorceína acética a 1%. A contagem no número cromossômico, foi realizada em 10 plantas.

Para verificação da condição de ploida das plântulas tratadas, foram utilizadas pontas de raiz. A técnica empregada foi idêntica à descrita anteriormente, analisando-se células metafásicas em vista polar.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na determinação da curva de absorção, verificou-se que o início do platô de absorção, foi obtido após 4 horas de embebição das sementes. A ascensão da curva foi brusca nas 3 primeiras horas, mas a total estabilidade só ocorreu com 12 horas, conforme pode-se verificar no gráfico 1. Baseando-se neste gráfico, foi escolhido o tempo de 4 horas como o menor período de tratamento.

O teste preliminar através da análise citológica, demonstrou a condição de diploidia das sementes originais ( $2=14$ ).

Os experimentos 1, 2 e 3 foram abandonados porque em todos os tratamentos com colchicina a qualquer tempo, as sementes apenas germinaram, morrendo logo em seguida. Todas as testemunhas tiveram desenvolvimento normal.

No experimento 4, com menor concentração e tempo reduzido, as sementes tratadas tiveram algum desenvolvimento. Algumas foram utilizadas para contagem do número de cromossomas em pontas de raiz, outras transplantadas para caixas com areia e Placas de Petri, e algumas poucas permaneceram na caixa com terriço. Isto foi feito para verificar se a mudança de ambiente favorecia o desenvolvimento.

As radículas se mostraram pouco desenvolvidas e bastante espessas. Os caulículos apresentaram desenvolvimento mínimo, com folíolos anormais, o que não permitiu a análise dos estômatos.

As poucas plantas que sobreviveram apresentaram desenvolvimento extremamente lento, características morfológicas nitidamente distintas das normais como, caule espesso, folhas muito pequenas, espessas e deformadas.

Na figura 1, é mostrado o desenvolvimento das plantas tratadas em relação às testemunhas, 18 dias após o plantio.

A análise de lâminas de pontas de raiz do material tratado, mostrou o resultado, apresentado na tabela 2.

TABELA 2 — Resultado da análise citológica em pontas de raiz de lentilha, tratadas com colchicina.

Tratamento	Horas	N.º de lâminas	C E L U L A S		
			2n	4n	8n
0,0125%	3	2	muitas	poucas	nenhuma
0,0125%	6	4	—	—	—
0,00625%	3	9	muitas	muitas	nenhuma
0,00625%	6	9	poucas	muitas	poucas

Tendo em vista o baixo número de plantas que sobreviveram ao tratamento (24 plantas), poucas puderam ser observadas, principalmente aquelas submetidas à concentrações mais altas (0,0125%). Do tratamento 0,0125% durante 6 horas obtiveram-se 4 lâminas as quais não apresentaram condições de observação.

Observando-se a tabela 2, verifica-se que a concentração de 0,00625% nos dois tempos de tratamento, mostrou alguma eficiência na indução de poliploidia, embora as plantas se mostrassem pouco viáveis. Nesta concentração aproximadamente 40% das sementes germinaram e iniciaram desenvolvimento.

Na literatura consultada não há referências quanto a eficiência da colchicina na indução de poliploidia em concentrações tão baixas como a de 0,00625% do presente trabalho. Mesmo no tratamento de "seedlings", a eficiência na indução de poliploidia em algumas leguminosas BREWBAKER (4) e ARMSTRONG & ROBERTSON (2), foi obtida com uso de concentrações bem mais elevadas.

#### CONCLUSÕES

1. A lentilha (*Lens esculenta* Moench), mostrou-se muito sensível ao tratamento de sementes com colchicina.

2. Somente concentrações muito baixas permitiram a germinação e início de desenvolvimento de algumas plântulas. Estas baixas concentrações mostraram alguma eficiência na indução de poliploidia.

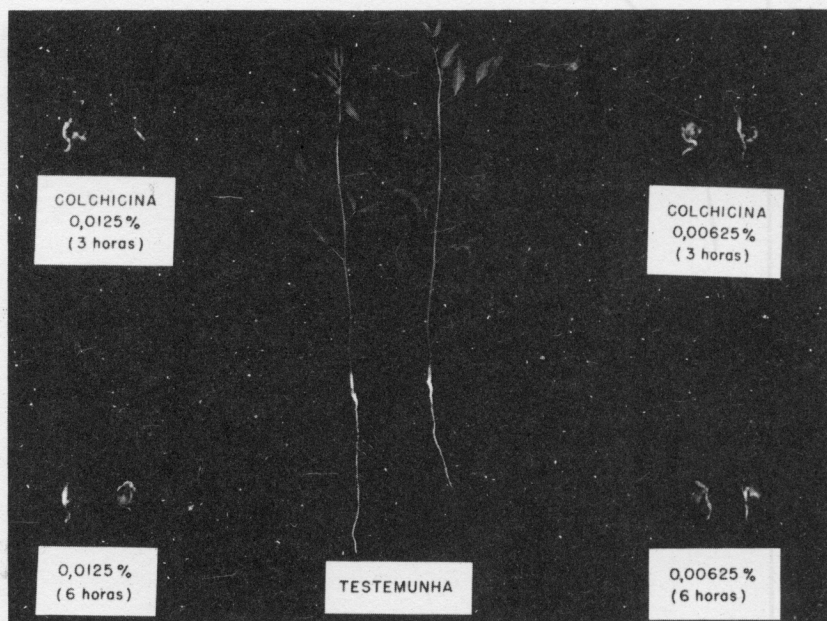
3. Há necessidade de novos estudos objetivando a obtenção de poliploides viáveis, pela avaliação de novas concentrações de colchicina e tempos de tratamento.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1 — ALLARD, R. W. — *Principles of Plant Breeding*. John Wiley & Sons Inc. N. York, 381 p., 1960.
- 2 — ARMSTRONG, J. M. and ROBERTSON, R. W. — Studies of colchicine — induced tetraploids of *Trifolium hybridum* L. — I — Cross and self fertility and cytological observations. *Canadian Journal of Agricultural Science*. 36(4): 255-266, 1956.
- 3 — BLAKESLEE, A. F. and AVERY, A. G. — Methods of inducing doubling of chromossomas in plants. *Journal of Heredity* 28: 393-411, 1937.

- 4 — BREWBAKER, J. L. — Colchicine induction of tetraploids in *Trifolium* species, *Agronomy Journal* 44: 592-594, 1952.
- 5 — DARLINGTON, C. D. and WYLIE, A. P. — *Chromossomes Atlas of Flowering Plants*. George Allen & Unwin Ltd., London, 519 p., 1945.
- 6 — EIGSTI, O. J. and DUSTIN, Jr. P. — *Colchicine in Agriculture, Medicine Biology and Chemistry*. The Iowa State College Press, Ames, Iowa, USA, 450 p., 1955.
- 7 — ELLIOTT, F. C. — *Mejoramento de Plantas — Citogenética*. Trad. Antonio Marino A. Cia. Editora Continental S/A., México, Espanha, 474, p., 1967.
- 8 — PORTER, K. B. and WEISS, M. G. — The efect of polyploidy on soybeans. *Agronomy Journal* 40: 710-724, 1948.

FIGURA 1 — Desenvolvimento das plantas de lentilha tratadas com colchicina, em relação às testêmunhas.



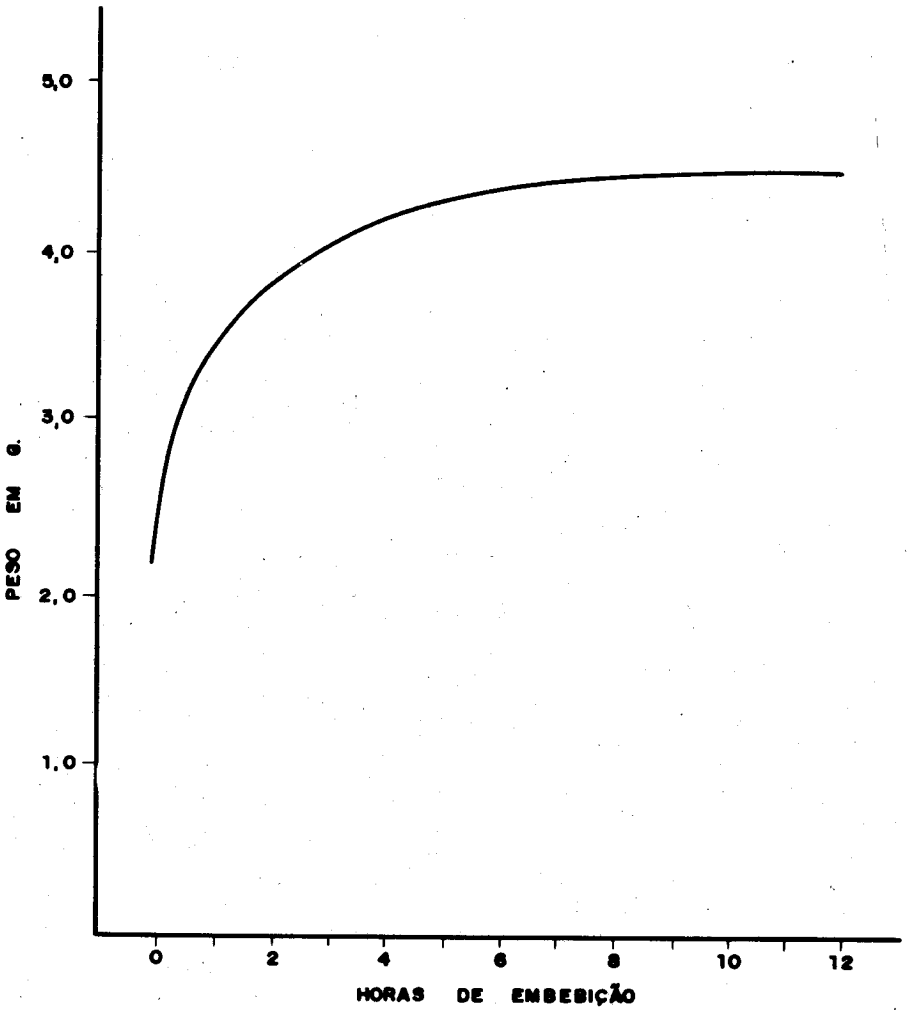


GRÁFICO 1 - CURVA DE ABSORÇÃO DE ÁGUA PARA SEMENTES DE LENTILHAS