

# ÁREAS BÁSICAS

## DUPLICAÇÃO CROMOSSÔMICA DE HÍBRIDOS TRIPLÓIDES DE CAPIM-ELEFANTE E MILHETO <sup>(1)</sup>

SANDRO BARBOSA <sup>(2\*)</sup>; LISETE CHAMMA DAVIDE <sup>(3)</sup>; ANTÔNIO VANDER PEREIRA <sup>(4)</sup>;  
JUSCÉLIO CLEMENTE DE ABREU <sup>(5)</sup>

### RESUMO

O objetivo deste estudo foi duplicar o complemento cromossômico de híbridos triplóides de capim-elefante e milho para obtenção de plantas hexaplóides férteis. Esta estratégia permitirá o uso de hexaplóides em programas de melhoramento genético do capim-elefante, por meio da transferência de alelos com as características desejadas, tornando possível sua propagação via semente. *Seedlings*, plântulas e segmentos caulinares cultivados *in vitro* foram tratados com colchicina a 0,05% ou 0,1% aplicadas por 12 ou 24 horas. *Seedlings* de genótipos híbridos diferentes e meristemas de dois híbridos interespecíficos cultivados *in vivo* foram tratados por 24 horas com colchicina a 0,05%. A duplicação cromossômica foi confirmada pela contagem de cromossomos em células meristemáticas de pontas de raízes. A viabilidade polínica, os testes de germinação *in vitro* e a produção de sementes foram utilizados para avaliar a fertilidade dos hexaplóides. *Seedlings* cultivados *in vitro* e tratados com colchicina a 0,1% por 24 horas tiveram a melhor resposta à indução de poliploidia; em 38% das plantas sobreviventes observaram-se o conjunto cromossômico duplicado e a presença de pólenes viáveis, confirmando a fertilidade dos hexaplóides.

**Palavras-chave:** Duplicação cromossômica, colchicina, poliploidia, híbrido interespecífico, *Pennisetum purpureum*, *Pennisetum glaucum*.

### ABSTRACT

#### CHROMOSE DUPLICATION OF TRIPLOID HYBRIDS BETWEEN ELEPHANTGRASS AND PEARL MILLET

The aim of this study was to double the chromosome number of elephantgrass and pearl millet triploid hybrids in order to obtain hexaploid fertile plants. This strategy would allow the use of the hexaploids in the elephantgrass breeding program as a bridge for transferring alleles of desired characteristics and making possible propagation by seed. *Seedlings*, plantlets and stem segments were cultivated *in vitro* and treated with 0.05% or 0.1% colchicine for 12 or 24 h. *Seedlings* of different hybrid genotypes and meristems of two interspecific hybrids were cultivated *in vivo* and treated for 24 h with 0.05% colchicine. Chromosome duplication was confirmed by countings in the root tip cells. Pollen viability, *in vitro*

---

<sup>(1)</sup> Recebido para publicação em 13 de junho de 2006 e aceito em 22 de março de 2007.

<sup>(2)</sup> Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Alfenas, UNIFAL-MG, Rua Gabriel Monteiro da Silva, 714, Centro, 37130-000 Alfenas (MG), Brasil. E-mail: sandro@unifal-mg.edu.br (\*) Autor correspondente.

<sup>(3)</sup> Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras - UFLA, Caixa Postal 37, 37200-000 Lavras (MG) Brasil E-mail: lcdavide@ufla.br

<sup>(4)</sup> Embrapa - Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610, 36038-330 Juiz de Fora (MG), Brasil. E-mail: avanderp@cnpqgl.embrapa.br

<sup>(5)</sup> Universidade Vale do Rio Verde - UninCor, Av. Castelo Branco, 82; Chácara das Rosas, 37410-000 Três Corações (MG), Brasil.

germination tests and seed production were used to evaluate the fertility of the hexaploids. *Seedlings* cultivated *in vitro* and treated with 0.1% colchicine for 24 h were the most efficient method of polyploidy induction, as 38% of the surviving plants have twice the number of chromosome viable pollen grains and fertile seeds.

**Key words:** Chromosome duplication, colchicine, polyploidy, interespecific hybrid, *Pennisetum purpureum*, *P. glaucum*.

## 1. INTRODUÇÃO

Entre as espécies do gênero *Pennisetum*, o capim-elefante (*P. purpureum*) e o milheto (*P. glaucum*) destacam-se, respectivamente, como forrageiras de elevado potencial de produção e cereal de importância econômica (PEREIRA et al., 2001). O capim-elefante é amplamente cultivado por todo o Brasil. Entretanto, a expansão da área cultivada de capim-elefante é limitada pelo custo do uso da propagação vegetativa, visto que a maioria das cultivares produz sementes de baixo vigor (PEREIRA et al., 2001 e PEREIRA et al., 2003). A obtenção de cultivares que possam ser propagadas por sementes agregando características como porte baixo, adaptação ao pastejo e resistência às cigarrinhas das pastagens tem sido considerado o principal objetivo do melhoramento dessa forrageira (PEREIRA et al., 2003). Uma das estratégias de melhoramento do capim-elefante, visando obter cultivares propagadas por meio de sementes, tem sido a hibridação interespecífica com o milheto seguido de indução de poliploidia cromossômica (JAUHAR, 1981; JAUHAR and HANNA, 1998; HANNA, 1999; SCHANCK, 1999; PEREIRA et al., 2001).

Dentro do gênero *Pennisetum*, o milheto é anual, alógama, com  $2n = 2x = 14$  e genoma AA e integrante do conjunto gênico primário, juntamente com outras duas espécies silvestres diplóides (*P. mollissimum* e *P. violaceum*). O capim-elefante é perene, alógama, com  $2n = 4x = 28$  e genomas A'A'BB e compõe o conjunto gênico secundário. O terceiro conjunto é constituído pelas demais taxas (MARTEL et al., 1996).

O híbrido de capim-elefante e milheto é um triplóide estéril com  $2n = 3x = 21$  cromossomos e genoma AA'B, que pode ser propagado vegetativamente. A restauração da fertilidade pode ser conseguida pela duplicação cromossômica, utilizando colchicina (KRISHNASWAMY e RAMAN, 1954; HANNA, 1981; HANNA et al., 1984) ou outros antimitóticos (ABREU et al., 2006).

Embora tenha se observado na literatura relatos de duplicação cromossômica do híbrido triplóide resultando em hexaplóides férteis de capim-elefante e milheto (HANNA, 1981; HANNA et al., 1984), no entanto, diversos problemas têm sido verificados na obtenção de hexaplóides férteis em híbridos

desenvolvidos no Brasil (ABREU et al., 2006). Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo adaptar e desenvolver métodos de duplicação cromossômica, utilizando diferentes explantes e *seedlings* triplóides estéreis provenientes do cultivo *in vitro* e *in vivo* para restaurar sua fertilidade e contribuir para a obtenção de cultivares superiores com capacidade de propagação por meio de sementes.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### Material genético

Foram utilizados seis híbridos triplóides obtidos pelo programa de melhoramento do capim-elefante da Embrapa Gado de Leite, a partir do cruzamento entre genótipos de capim-elefante e de milheto (Tabela 1).

**Tabela 1.** Híbridos triplóides selecionados pela Embrapa Gado de Leite, em Coronel Pacheco (MG) e utilizados nos experimentos

Genitores		Híbridos
Capim-elefante	Milheto	
BAG 54	M 36	CNPGL94-43-01
BAG 75	M 24	CNPGL94-60-01
BAG 19	M 24	CNPGL2000-65-227
BAG 64	M 64	HA
BAG 28	M 64	HB
BAG 65	M 41	HC

### Indução de poliploidia

Foram realizados cinco experimentos, nos quais diferentes métodos de exposição à colchicina foram utilizados, variando concentração e tempo de exposição, bem como material genético (Tabela 2).

Em todos os experimentos foi incluído um híbrido cujas características botânico-agronômicas dos genitores eram complementares (CNPGL94-60-01) e um híbrido cujos genitores apresentavam características divergentes (CNPGL2000-65-227).

**Tabela 2.** Experimentos realizados para indução de duplicação cromossômica, utilizando diferentes concentrações de colchicina e tempos de tratamento em híbridos de capim-elefante x milho

Experimento	Explantes	Híbrido triplóide	Colchicina	Tempo
			%	Horas
1	Meristemas	CNPGL94-43-01 CNPGL94-60-01 CNPGL2000-65-227	0,05	6, 15 e 24
2	<i>Seedlings in vitro</i>	CNPGL94-60-01 CNPGL2000-65-227	0,05 e 0,10	12 e 24
3	Plântulas <i>in vitro</i>	CNPGL94-60-01 CNPGL2000-65-227	0,05 e 0,10	12 e 24
4	Segmentos caulinares <i>in vitro</i>	CNPGL94-60-01 CNPGL2000-65-227	0,05 e 0,10	12 e 24
5	<i>Seedlings in vivo</i>	CNPGL94-43-01 CNPGL2000-65-227 H A H B H C	0,05	24

Na indução de poliploidia de meristemas laterais foram tratados cinco meristemas dos triplóides CNPGL94-43-01, CNPGL94-60-01 e CNPGL2000-65-227 em solução de colchicina 0,05% por 6, 15 e 24 horas. Após o tratamento, os meristemas foram submetidos à inoculação em meio MS + 2 mg/L de BAP e mantidos sob condição de iluminação de 2000 lux e temperatura constante de 25 + 2 °C. Após 60 dias do tratamento, os explantes que se desenvolveram e perfilharam foram contados e individualizados em novos tubos de ensaio, contendo meio MS suplementado com 0,5 mg/L de ANA. Após 45 dias de cultivo *in vitro*, esses explantes foram aclimatados e cultivados em hidroponia.

Pontas de raízes para análise citogenética foram coletadas em duas etapas do experimento: uma na transferência dos explantes sobreviventes ao tratamento de indução para a hidroponia e outra na transferência das plantas do cultivo hidropônico para vasos contendo terra e substrato Plantmax (1:1).

Para a indução de poliploidia em *seedlings*, dois híbridos triplóides (CNPGL94-60-01 e CNPGL2000-65-227) foram cultivados *in vitro* por 60 dias. Após esse período, foram obtidos explantes de 1,5 cm de parte aérea e 2,0 cm de sistema radicular, que foram induzidos à duplicação cromossômica tendo sido mergulhados até a altura do coleto em soluções de colchicina nas concentrações de 0,05% e 0,1%, por períodos de 12 e 24 horas. Foram utilizados 12 explantes de cada híbrido.

O material tratado foi cultivado *in vitro* por 60 dias e em seguida transferido para cultivo hidropônico por 30 dias. Amostras de raízes dos períodos de cultivo *in vitro* e hidropônico foram retiradas para análise citogenética.

Plântulas originadas do cultivo *in vitro* de *seedlings* triplóides (CNPGL94-60-01 e CNPGL2000-65-227) foram cultivadas em meio MS com 2 mg/L de BAP por 60 dias e receberam o mesmo tratamento para indução de poliploidia descrito para *seedling in vitro*. Para cada genótipo foram obtidas 18 plântulas.

Segmentos caulinares dos híbridos triplóides cultivados *in vitro*, foram mergulhados em soluções de colchicina 0,05% e 0,1%, por 12 e 24 horas. O material foi lavado e cultivado *in vitro* por 60 dias, sendo então transferido para um sistema hidropônico. Foram avaliadas 18 plântulas por híbrido. Os procedimentos de coleta de raízes e transferência para os vasos em casa de vegetação foram os mesmos aplicados para *seedlings in vitro*.

A partir dos *seedlings* híbridos triplóides CNPGL94-43-01, CNPGL2000-65-227, HA, HB e HC, cultivados por 60 dias em sistema de hidroponia, foram obtidos explantes de 6 cm incluindo parte aérea e radicular, que foram mergulhados até a altura do coleto em solução de colchicina 0,05% por 24 horas. Raízes de 15 *seedlings* tratados de cada híbrido foram lavadas em água corrente por 4 horas, conforme HANNA et al. (1984). Após 30 dias de cultivo hidropônico, as plantas sobreviventes foram transferidas para vasos e coletadas raízes para análise citogenética.

### Análise citogenética

As análises citogenéticas foram realizadas de acordo com os procedimentos adaptados por TECHIO et al. (2002) para *Pennisetum*. Foram realizadas a contagem do número cromossômico em células meristemas de pontas de raízes e a análise *in vitro* da viabilidade polínica. Para cada tratamento foram analisadas cinco lâminas e avaliadas entre 33 a 126 prometáfases e metáfases.

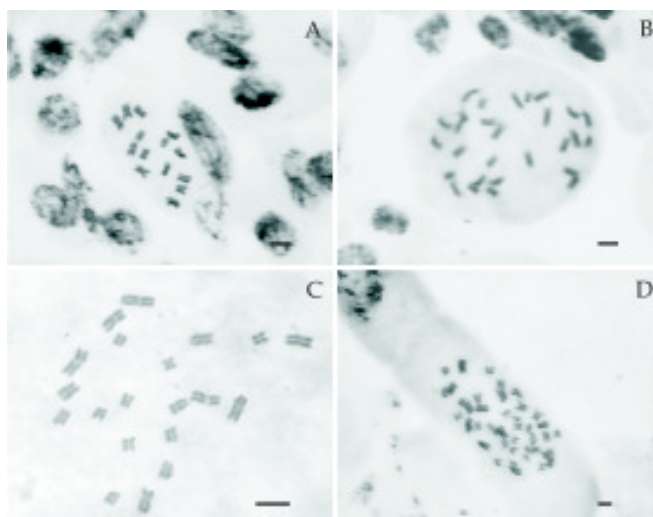
A viabilidade do pólen foi estimada por testes de germinação *in vitro*, conforme descrito por TECHIO et al. (2005). Esse método baseia-se na porcentagem de grãos de pólen germinados, sendo considerados viáveis aqueles grãos de pólen com tubo polínico de comprimento igual ou superior ao seu diâmetro.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na indução de poliploidia *in vitro* foram empregados como explantes meristemas laterais, *seedlings* e plântulas. Apesar de os tecidos meristemáticos geralmente constituírem as principais fontes de explantes usadas na clonagem de plantas *in vitro* (VIEIRA e APPEZZATO-DA-GLÓRIA, 2001), notou-se que esse tecido é inadequado para indução de poliploidia, embora a cultura de meristema tenha sido usada com sucesso por LYRENE and PERRY (1982) na produção e seleção de mirtilo (*Vaccinium myrtillus* L.) poliplóide *in vitro*. No presente trabalho, dos três genótipos tratados nos diferentes intervalos de tempo, as análises citogenéticas mostraram uma única plântula mixoplóide, entre as nove sobreviventes. Esta sobrevivente é resultante da exposição de meristemas do híbrido CNPGL94-43-01a solução de colchicina por 24 horas. A plântula apresentou metáfases com números cromossômicos variando de 14 a 42 (Figura 1), sendo o número 21 mais freqüente (43%). Os demais sobreviventes eram triplóides.

Dos 41 sobreviventes da indução de duplicação em *seedlings in vitro* foram obtidos 8 hexaplóides, 9 mixoplóides e o restante permaneceu triplóide (Tabela 3).

Pela análise citogenética em pontas de raízes coletadas *in vitro* das plantas V37-3C e V14-1A do híbrido CNPGL2000-65-227, verificou-se variação no número cromossômico entre 14 e 42. A avaliação citogenética de raízes coletadas de estacas dessas plantas permitiu observar que houve estabilização das células no nível hexaplóide. A duplicação cromossômica dessas plantas levou à produção de polens viáveis, constatada por meio de testes de germinação *in vitro*, cuja freqüência de polens germinados foi de 58,3% para a planta V37-3C e 63,8% para a V14-1A.



**Figura 1.** Metáfases de híbridos mixoplóides (A, B, C) e hexaplóides (D) de capim-elefante e milho após exposição a diferentes tempos e concentrações de colchicina. A) 14 cromossomos; B) 21 cromossomos; C) 28 cromossomos; D) 42 cromossomos. Barra 5  $\mu$ m.

O tratamento de plântulas *in vitro* apesar de ter resultado em um número maior de sobreviventes (56 plantas) apenas 3 deles eram hexaplóides, 15 eram mixoplóides e o restante triplóide (Tabela 4).

Observou-se na planta V83-4A, proveniente do CNPGL2000-65-227, 42 cromossomos na análise citogenética, a qual também produziu pólen viável revelando que houve restauração da fertilidade. No teste de viabilidade polínica, as plantas mixoplóides resultantes dos diferentes tratamentos desse híbrido, produziram polens viáveis variando em uma freqüência de 3,8% a 37,6%.

O menor número de sobreviventes (17 plantas) foi obtido no tratamento de segmentos caulinares, sendo dois com complemento cromossômico duplicado e o restante, mixoplóides e triplóides (Tabela 5).

A planta hexaplóide V138-4B teve o nível de ploidia 6x confirmado em meristemas coletados nos estádios de plântula *in vitro* e adulta, observando-se, em ambas, 100% das metáfases com 42 cromossomos. A presença de pólen viável com freqüência de 32,6% de germinação *in vitro*, juntamente com a avaliação citogenética evidenciaram a estabilização do nível hexaplóide, bem como a restauração da fertilidade nessa planta.

Os resultados de sobrevivência obtidos com a exposição de *seedlings* e plântulas *in vitro* revelaram que a colchicina mantém o mesmo efeito em diferentes concentrações e tempos de exposição. Contudo, comparando-se o efeito desse químico sobre os

diferentes explantes e genótipos avaliados, verificou-se que a colchicina afetou drasticamente o desenvolvimento de meristemas e segmentos caulinares. Especificamente para *Pennisetum*, o efeito tóxico da colchicina, segundo ABREU et al. (2006), foi letal para gemas axilares *in vivo* e segmentos caulinares *in vitro*. De acordo com ROTH (1984) e SCHIFINO-WITTMANN (2000), a utilização de altas concentrações de colchicina ou a exposição de tecidos por tempo inadequado, além da forma de aplicação

da droga, podem levar à morte de células e plantas, posto que a tolerância à colchicina varia de acordo com a espécie. Como a toxicidade das substâncias antimitóticas é expressiva e o objetivo desse tipo de experimentação está centrado na obtenção do maior número possível de sobreviventes com o complemento cromossômico duplicado, a variação do tipo de explante a ser utilizado torna-se um requisito indispensável, completando aquelas variáveis citadas anteriormente.

**Tabela 3.** Níveis de ploidia, obtidos em até três avaliações das plantas sobreviventes ao tratamento de *seedlings* híbridos cultivados *in vitro*, expostos a diferentes tempos e concentrações de colchicina. (\* presença de pólen, \*\* pólen viável, Mix = mixoplóide)

Concentração de Colchicina	Tempo	CNPGL 2000-65-227		CNPGL 94-60-01	
		Indivíduos	Ploidia	Indivíduos	Ploidia
%	hora	N.º		N.º	
0,05	12	4	3x	2	3x
		1	Mix / Mix	1	Mix
		2	Mix / 6x **	1	6x
	24	3	3x	1	3x
		1	Mix / Mix	1	Mix
		1	Mix / 6x **		
0,1	12	6	3x	1	Mix / Mix
		3	Mix*	1	3x
		1	Mix / 6x	-	-
		1	6x / Mix / 3x	-	-
	24	3	3x	2	3x
		1	Mix / Mix	-	-
		2	6x	-	-
		1	Mix / 6x *	-	-
1	6x / Mix / 3x	-	-		

**Tabela 4.** Níveis de ploidia das plantas obtidas por cultivo de plântulas *in vitro*, expostas a diferentes tempos e concentrações de colchicina. (\* presença de pólen, Mix = mixoplóide)

Concentração de colchicina	Tempo	CNPGL 2000-65-227		CNPGL 94-60-01	
		Indivíduos	Ploidia	Indivíduos	Ploidia
%	hora	N.º		N.º	
0,05	12	10	3x	4	3x
		3	Mix*	-	-
		1	6x	-	-
	24	9	3x	1	3x
		2	Mix *	1	Mix
		1	6x	-	-
0,1	12	6	3x	1	3x
		2	Mix *	-	-
	24	4	3x	3	3x
		5	Mix*	1	Mix
		1	6x *	-	-

**Tabela 5.** Níveis de ploidia, obtidos em até duas avaliações das plantas sobreviventes ao tratamento de segmentos caulinares cultivados *in vitro*, expostos a diferentes tempos e concentrações de colchicina. (\*\* presença de pólen viável, Mix = mixoploidia)

Concentração	Tempo	CNPGL 2000-65-227		CNPGL 94-60-01	
		Indivíduos	Ploidia	Indivíduos	Ploidia
%	hora	N.º		N.º	
0,05	12	1	3x	Sem sobreviventes	-
		6	3x	Sem sobreviventes	-
	24	1	Mix	-	-
		2	6x**	-	-
0,1	12	1	3x	Sem sobreviventes	-
		4	3x	1	3x
	24	1	Mix	-	-

Com relação à indução de poliploidia em *seedlings in vivo*, dos quinze tratados do híbrido HA (BAG 64 x M64), 12 sobreviveram ao tratamento com colchicina 0,05% por 24 horas. Desses sobreviventes, uma planta teve o complemento cromossômico duplicado, uma era triploide e o restante mixoploides. Do híbrido HB sobreviveram nove plantas, sendo uma duplicada, cinco mixoploides e três triploides. O híbrido HC foi o que melhor respondeu ao tratamento com 100% de sobrevivência. Porém, apenas uma planta foi duplicada, sendo onze mixoploides e três triploides. Em relação ao híbrido CNPGL2000-65-227, sobreviveram 14 plantas, sendo quatro com nível 6x de ploidia, três com 3x e sete mixoploides. Para o CNPGL94-43-01, obtiveram-se onze plantas, sendo três diplóides, uma tetraploide e sete mixoploides.

Nas plantas hexaploides dos híbridos HA e HB havia pólen em suas panículas, porém não foi possível averiguar a viabilidade polínica desses materiais devido à pouca disponibilidade de pólen para execução do protocolo de germinação *in vitro*. Todos os sobreviventes do CNPGL94-43-01 produziram polens viáveis, pois foram coletadas sementes nas panículas da maioria das plantas.

Tendo em vista os resultados tanto nos tratamentos de *seedlings in vitro* como *in vivo*, utilizados nos diferentes tratamentos, verifica-se que esse material é o mais indicado para experimentos de duplicação cromossômica nos híbridos entre capim-elefante e milheto avaliados.

Os tratamentos com 0,05% de colchicina por 12 horas e 0,1% por 24 horas geraram entre as plantas sobreviventes a maior frequência de hexaploides, 29% e 38%, respectivamente. Esses resultados foram similares aos obtidos por HANNA et al. (1984), que relataram que 30% dos *seedlings* sobreviventes ao tratamento com solução de 0,05% de colchicina por

24 horas eram duplicados. ABREU et al. (2006), tratando *seedlings in vivo* com solução de colchicina 0,05% por 24 horas e 0,1% por 12 horas, obteve 13% e 20% de sobreviventes em cada tratamento, respectivamente, sendo todos mixoploides. Segundo o mesmo autor, a diminuição do tempo e o aumento da concentração de colchicina não exerceram pouca influência sobre a taxa de sobrevivência e a proporção de números cromossômicos na análise dos mixoploides. Essa observação não está de acordo com os resultados deste trabalho, ou seja, concentrações mais elevadas associadas a tempos maiores de exposição aumentaram as probabilidades de se obter hexaploides induzidos.

A exposição de plântulas e segmentos caulinares cultivados *in vitro* e expostas aos diferentes tratamentos de indução geraram entre 38% e 13% de sobrevivência, respectivamente, a partir de 144 explantes tratados. No que diz respeito ao explante plântulas, apenas três plantas tiveram seus cromossomos duplicados. Para segmentos caulinares, essa frequência não chegou a 1,5%. Experimentos *in vitro* utilizando segmentos caulinares do CNPGL94-43-01 foram desenvolvidos por ABREU et al. (2006) com intuito de promover a indução de poliploidia nos estádios iniciais de desenvolvimento, porém o autor não obteve sobreviventes nos tratamentos com colchicina.

A exposição de *seedlings in vitro* revelou que plantas, cujo complemento cromossômico foi duplicado, podem reverter à condição triploide. CARVALHO (2000) e PAGLIARINI (2001) relataram que é frequente o aloploiplóide reverter parcial ou totalmente à condição diplóide, após alguns ciclos de divisão, principalmente devido à proliferação das células diplóides remanescentes que se multiplicam a taxas superiores àquelas das células poliplóides.

HANNA et al. (1984) não relataram a ocorrência de eliminação cromossômica quando induziram poliploidia em híbridos triplóides de capim-elefante e milho utilizando como explantes *seedlings* cultivados *in vivo* mergulhados em solução de colchicina 0,05% por 24 horas. Segundo ABREU et al. (2006), a eliminação cromossômica em híbridos induzidos de capim-elefante e milho estaria relacionada com os graus de parentesco dos genitores utilizados, pois esses poderiam compartilhar do mesmo controle genético para eliminação de cromossomos.

Assim, buscou-se utilizar, em todos os experimentos realizados, pelo menos um híbrido cujas características dos genitores fossem complementares e outro cujas características fossem geneticamente divergentes, não importando os atributos forrageiros. O sucesso na duplicação cromossômica obtida para o híbrido CNPGL2000-65-227, cujos genitores são geneticamente distantes, vem dar suporte às explicações aventadas por ABREU et al. (2006) com relação à eliminação cromossômica em híbridos induzidos de capim-elefante e milho. Segundo o autor, híbridos triplóides cujos genitores são ecotipos com controle genético diferenciados para a eliminação cromossômica possuem maiores possibilidades de terem o complemento cromossômico duplicado com sucesso.

#### 4. CONCLUSÕES

1. Na duplicação cromossômica em híbridos de capim-elefante e milho, o explante mais adequado foi *seedlings* desenvolvido *in vivo* e *in vitro* e expostos a soluções de colchicina 0,05% e 0,1% por 24 horas.

2. Híbridos de capim-elefante e milho cujos genitores possuem características botânico-agronômicas não complementares foram mais resistentes aos efeitos tóxicos da colchicina gerando maior número de sobreviventes e hexaplóides induzidos.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPEMIG pelo apoio financeiro à pesquisa e à CAPES pela bolsa de estudo concedida ao primeiro autor.

#### REFERÊNCIAS

- ABREU, J. C. de; DAVIDE, L. C.; PEREIRA, A. V.; BARBOSA, S. Mixoploidia em híbridos de capim-elefante x milho tratados com agentes antimitóticos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 41, n.11, p.1629-1635, 2006.
- CARVALHO, J. F. R. P. **Análise cariotípica e indução *in vitro* de poliploidia em Urucum (*Bixa orellana* L.)**. UFV, 2000. 124 f. (Tese de doutorado em Genética e Melhoramento de plantas), Viçosa, 2000.
- HANNA, W. W. Method of reproduction in napiergrass and in the 3X and 6X allopolyploid hybrids with pearl millet. **Crop Science**, Madison, v. 21, p.123-126, 1981.
- HANNA, W. W.; GAINES, T. P.; GONZALEZ, B.; MONSON, W. G. Effect of ploidy on yield and quality of pearl millet x napier grass hybrids. **Agronomy Journal**, Madison, v. 76, n. 6, p. 969-971, 1984.
- HANNA, W. W.; Melhoramento do Capim-elefante. In: PASSOS, L.P.; CARVALHO, L.A.; MARTINS, C.E.; BRESSAN, M.; PEREIRA, A.V. (ed) **Biologia e Manejo do Capim-elefante**. Juiz de Fora, Embrapa - Gado de Leite, p. 17 - 28, 1999.
- JAHUAR, P. P. **Cytogenetics and breeding of pearl millet and related species**. New York: Alan R. Liss, 1981.
- JAUHAR, P. P.; HANNA, W.W. Cytogenetics and genetics of pearl millet. **Advances Agronomy**, New York, v. 64, p. 1-26, 1998.
- KRISHNASWAMY, N.; RAMAN, V.S. Studies on the interspecific hybrid of *Pennisetum typhoides* Stapf and Hubb. x *P. purpureum* Schumach. III. The cytogenetics of the colchicine-induced amphidiploid. **Genetica**, Netherlands, v. 27, p. 253-272, 1954.
- LYRENE, P.M.; PERRY, J.L. Production and selection of blueberry polyploids *in vitro*. **Journal Heredit**, Cary, v. 73, n. 5, p. 377-378, 1982.
- MARTEL, E.; RICHROCH, A.; SAAR, A. Assessment of genome organization among diploid species (2n=2x=14) belonging to primary and tertiary gene pools of pearl millet using fluorescent *in situ* hybridization with rDNA probes. **Genome**, Ottawa, v. 39, n. 4, p.680-687, 1996.
- PAGLIARINI, M.S. Citogenética aplicada ao melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento**. Rondonópolis: Fundação Mato Grosso, 2001. p.871-910.
- PEREIRA, A.V.; VALLE, C.B.; FERREIRA, R.P.; MILES, J.W. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. **Recursos genéticos e melhoramento**. Rondonópolis: Fundação Mato Grosso, 2001. p.549-602.
- PEREIRA, A.V.; SOBRINHO, F.S.; SOUZA, F.H.D.; LÊDO, F.J.S. Tendências do melhoramento genético e produção de sementes de forrageiras no Brasil. In: VII SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS. Tema: "Melhoramento de Plantas e produção de sementes no Brasil", 2003. Lavras. **Anais...** Lavras (MG): UFLA, 2003. p. 23-35.
- ROTH, P.S. **Indução de poliploidia em clones de *Eucalyptus urophylla* S. T. Blake**. 1984. 79 f. Dissertação (Mestrado em Genética de Plantas) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1984.

SCHANCK, S.C.; Propagação vegetativa e sexual do capim-elefante. In: PASSOS, L.P.; CARVALHO, L.A.; MARTINS, C.E.; BRESSAN, M.; PEREIRA, A.V. (Ed.). **Biologia e manejo do capim-elefante**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1999. p. 1-16,

SCHIFINO-WITTMANN, M.T. The cytogenetics and evolution of forage legumes from Rio Grande do Sul: a review. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 4, n. 23, p. 989-995, 2000.

TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEREIRA, A.V., BEARZOTI, E. Cytotaxonomy of some species and of interspecific hybrids of *Pennisetum* (*Poaceae*, *Poales*). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 25, n 2, p. 203-209, 2002.

TECHIO, V.H. Genomic analysis in *Pennisetum purpureum* x *P. glaucum* hybrids. **Caryologia**, v. 58, n. 1, p. 28-33, 2005.

VIEIRA, M.L.C; APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B. Fundamentos e aplicações da cultura de tecidos no melhoramento. In: NASS, L. L.; VALOIS, A. C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGLIS, M. C. **Recursos genéticos e melhoramento**. Rondonópolis: Fundação Mato Grosso, 2001. p. 911-938.