

BRAGANTIA

Boletim Científico do Instituto Agrônômico do Estado de S. Paulo

Vol. 31

Campinas, maio de 1972

N.º 15

EFEITOS DA COLQUICINA EM *ARACHIS* *HYPOGAEA* L. ^(1, 2)

CÂNDIDA H. T. M. CONAGIN, engenheira-agrônoma, Seção de
Citologia, Instituto Agrônômico

SINOPSE

A aplicação da colquicina no amendoim comum (*Arachis hypogaea* L.) foi realizada com a finalidade de obter mutações, das quais as favoráveis seriam utilizadas no programa de melhoramento.

Observações sobre o número de cromossomos revelaram que houve duplicação em algumas células das raízes, sendo estas polissomáticas, do nível tetraplóide-octoplóide; houve também formação de grãos de pólen maiores e desiguais em algumas plantas; a parte aérea não apresentou nenhuma evidência de poliploidia.

Independentemente da variação dos grãos de pólen e da polissomatia das raízes, modificações fenotípicas foram observadas, das quais destacam-se as plantas de fenótipo semelhante ao *Arachis monticola*, pelo interesse científico, e as sementes maiores e mais regulares, pelo interesse agrônômico que apresentam.

1 – INTRODUÇÃO

A aplicação da colquicina em amendoim foi feita pela primeira vez no Instituto Agrônômico por Mendes ⁽³⁾, que em 1945 tentara a duplicação do número de cromossomos da espécie selvagem *Arachis villosulicarpa*; a verificação do número de cromossomos mostrou que as alterações observadas foram apenas fenotípicas. Novos tratamentos realizados recentemente na mesma espécie produziram modificações semelhantes em algumas plantas sem alterar o número de cromossomos ou o tamanho e aspecto do pólen.

⁽¹⁾ Recebido para publicação em 12 de outubro de 1971.

⁽²⁾ Agradecemos ao Eng.º-Agr.º Armando Conagin o planejamento do trabalho e a orientação sobre a coleta de dados; ao Eng.º-Agr.º Eduardo Abramides agradecemos a análise estatística dos dados.

⁽³⁾ MENDES, A. J. T. Dados não publicados.

Quanto ao efeito da colquicina em *A. hypogaea*, experiências feitas anteriormente por Gregory ⁽⁴⁾ mostraram que o amendoim comum é planta muito resistente à poliploidização. Em trabalho sobre o mesmo assunto Veyret (11) também não encontrou poliploidização no amendoim.

Na literatura consultada foram encontrados exemplos de plantas nas quais diversos característicos agrônômicos foram afetados sem que tivesse havido modificação no seu número de cromossomos (3, 4, 5, 6); quando a colquicina foi aplicada para duplicar o número de cromossomos de diplóides de sorgo, por exemplo, modificações não esperadas na progênie, como o aumento do tamanho das sementes, foram observadas, sem a correspondente poliploidização.

O trabalho realizado e aqui apresentado procurou estudar os efeitos da colquicina sobre os caracteres morfológicos da variedade de amendoim Tatu, a mais cultivada no Estado de São Paulo.

2 — MATERIAL E MÉTODO

Aplicação da colquicina — A aplicação da colquicina em vegetais pode ser feita em sementes, em plúmulas de plantinhas novas, em gemas vegetativas, no sistema radicular, onde haja, enfim, tecido meristemático em divisão, fazendo variar as concentrações e a duração dos tratamentos.

Em experiências preliminares, a colquicina, em diversas concentrações, foi aplicada a sementes antes de germinar, a sementes pré-germinadas e ao sistema radicular de plantinhas novas. Certos tratamentos foram inócuos, e outros letais, devido a concentrações altas ou ao método utilizado, ou ainda às duas coisas.

Essas experiências deram a orientação para a continuação do trabalho, que foi feito utilizando-se os seguintes métodos:

a) Método de infiltração pela imersão — as sementes foram postas a germinar em caixas de petri sobre papel chupão umedecido com água; quando as raízes atingiram 1,0 a 1,5 cm foram imersas em soluções de colquicina, variando a concentração e o tempo de imersão (quadro 1).

b) Método de infiltração a vácuo — sementes pré-germinadas

(4) GREGORY, W. C. Comunicação verbal.

foram imersas nas soluções de colquicina e assim levadas a um dessecador no qual foi feito vácuo durante 10 minutos, depois do que deixou-se entrar o ar vagorosamente (1); em seguida as sementes foram lavadas em água corrente e plantadas na estufa; nestes tratamentos o tempo foi uniforme, variando só as concentrações das soluções (quadro 2).

c) Tratamento de gemas por embebição — foi feito quando os cotilédones se separavam completamente e se distanciavam o suficiente para permitir que fosse colocada em cada gema cotiledonar uma pequena mecha de algodão previamente embebida na solução de colquicina; o algodão era mantido úmido durante os tempos de tratamento por meio de copinhos de vidro emborcados sobre as plantinhas; as concentrações e os tempos de tratamento se acham no quadro 3.

d) Tratamento da haste principal — a aplicação foi feita diretamente na haste principal, cortada logo acima das gemas cotiledonares, também pela colocação de uma pequena mecha de algodão sobre a superfície cortada (quadro 4).

Observações citológicas — A verificação do número de cromossomos foi feita em raízes de “seedlings” F_2 , pois a geração F_1 tinha geralmente poucas sementes, e estas precisavam ser aproveitadas para a multiplicação; foram feitos os mesmos exames em raízes de gerações posteriores.

As raízes foram coletadas em solução saturada de paradiclorobenzeno e nela permaneceram 4-5 horas a 16-17°C; em seguida foram fixadas em álcool-ácido acético (1:1) e coloridas emorceína acética, pelo processo de esfregaço (7, 8).

O exame do pólen, colorido numa gota de carmin acético, foi feito sob o ponto de vista de forma, tamanho e porcentagem de grãos vazios.

Observações morfológicas — As plantinhas provenientes dos tratamentos foram mantidas em estufa e observadas periodicamente quanto ao desenvolvimento, caracteres morfológicos, período de florescimento, produção e aspecto dos frutos e sementes; as que apresentaram qualquer interesse, foram selecionadas e receberam o prefixo “Co”. As sementes F_1 , que são poucas, foram primeiro

multiplicadas e depois postas em ensaios de competição. Os resultados dos ensaios anuais foram analisados sob o ponto de vista da produção de frutos por planta, peso dos frutos, peso das sementes, rendimento e riqueza em óleo.

3 – RESULTADOS E CONCLUSÕES

Nos quadros 1 a 4 constam os resultados obtidos nos diferentes modos de aplicação da colquicina em amendoim, experimentados neste trabalho.

QUADRO 1. — *Arachis hypogaea* L. Resultados dos tratamentos de sementes com colquicina pelo método de infiltração por imersão (*)

Tratamento	Duração	Concentração da sol.	Plantas sobreviventes	Material selecionado
	<i>h</i>	<i>%</i>	<i>n.º</i>	
T.1	5	0,005	19	—
T.2	"	0,010	18	—
T.3	"	0,020	20	—
T.4	"	0,040	19	—
T.5	8	0,005	19	—
T.6	"	0,010	20	—
T.7	"	0,020	20	—
T.8	"	0,040	19	—
T.9	15	0,005	15	Co 36*
T.10	"	0,010	20	Co 1, Co 34**
T.11	"	0,020	13	Co 3, Co 35**
T.12	"	0,040	18	Co 2, Co 4
T.13	24	0,005	20	—
T.14	"	0,010	19	—
T.15	"	0,020	16	—
T.16	"	0,040	8	Co 5

(*) Cada tratamento foi feito com 20 sementes.

(**) Material constituído de uma mistura de plantas.

QUADRO 2. — *Arachis hypogaea* L. Resultados dos tratamentos de sementes com colquicina pelo método de infiltração a vácuo, durante 10 minutos

Tratamento	Sementes tratadas	Concentração da sol.	Plantas sobreviventes	Material selecionado
	n.º	%	n.º	
T. 33	20	0,005	19	—
T. 34	"	0,010	16	Co 40 *
T. 35	"	0,020	16	Co 27, Co 28
T. 36	"	0,040	10	—
T. 37	20	0,005	19	Co 30 *
T. 38	"	0,010	16	Co 29
T. 39	"	0,020	16	Co 42 *
T. 40	"	0,040	14	—
T. 41	10	0,005	7	
T. 42	"	0,010	10	
T. 43	"	0,020	8	
T. 44	"	0,040	8	Co 31
T. 45	20	0,020	14	Co 41 *
T. 46	"	0,040	7	
T. 51	"	0,010	19	
T. 52	"	0,020	19	

(*) Material constituído de uma mistura de plantas.

Entre os diversos tratamentos de colquicina experimentados no amendoim comum, alguns produziram polissomatia nas raízes, outros foram inócuos e outros ainda foram letais; de uma maneira geral, os mais eficientes em produzir modificações fenotípicas foram os tratamentos de gemas e os da haste principal.

Número de cromossomos — O número de cromossomos foi relativamente fácil de ser verificado porque o paradiclorobenzeno, tendo efeito c-mitótico, não só encurta os cromossomos como os torna mais espalhados na placa metafásica (7).

QUADRO 3. — *Arachis hypogaea* L. Resultados do tratamento de gemas vegetativas com colquicina pelo método de embebição (*)

Tratamento	Dura- ção	Concen- tração da sol.	Plantas sobrevi- vientes	Material selecionado
	<i>h</i>	%	<i>n.º</i>	
T. 17	24	0,005	19	—
T. 18	"	0,010	18	Co 17
T. 19	"	0,020	11	Co 19
T. 20	"	0,040	18	Co 18
T. 21	15	0,005	19	Co 20, Co 21 e Co 22
T. 22	"	0,010	18	—
T. 23	"	0,020	19	—
T. 24	"	0,040	18	Co 12, Co 13, Co 14, Co 15 e Co 16
T. 25	8	0,005	19	Co 6, Co 23, Co 38 **
T. 26	"	0,010	18	Co 37 **
T. 27	"	0,020	20	Co 7, Co 24, Co 25 e Co 26
T. 28	"	0,040	20	Co 10, Co 11
T. 29	5	0,005	19	—
T. 30	"	0,010	20	—
T. 31	"	0,020	19	Co 8
T. 32	"	0,040	20	Co 9 e Co 33
T. 82	3	0,100	13	Co 43, Co 44 e Co 78 **
T. 83	"	0,200	9	Co 56, Co 79 **
T. 84	"	0,400	10	Co 70 **
T. 85	"	0,800	17	Co 65, Co 66 e Co 80 **
T. 86 (***) ..	6	0,100	32	Co 45 a Co 52 e Co 81 **
T. 87 (***) ..	"	"	16	Co 53, Co 54, Co 55 e Co 82 **

(*) Cada tratamento foi feito com 20 plantas.

(**) Material constituído de uma mistura de plantas.

(***) Neste tratamento foram utilizadas 40 plantas.

Raízes polissomáticas com $2n = 40$ e $2n = 80$ cromossomos entremeadas com raízes normais foram encontradas em diversas plantas tratadas com colquicina; não foi observada nenhuma planta que tivesse só raízes polissomáticas.

A polissomatia só foi encontrada na geração F_2 , as demais gerações produzindo raízes inteiramente normais.

QUADRO 4. — *Arachis hypogaea* L. Resultados da aplicação de colquicina, durante 6 horas, à superfície cortada da haste principal

Tratamento	Plantas tratadas	Concentração da sol.	Plantas sobreviventes	Material selecionado
	n.º	%	n.º	
T. 93	20	0,1	10	Co 68 a Co 74
T. 94	20	"	7	Co 75 a Co 77
T. 99	13	"	3	
T. 100	15	"	12	
T. 88	40	0,2	18	Co 57 a Co 64, Co 83
T. 89	40	0,4	17	Co 84 *
T. 95	14	"	11	
T. 96	8	"	8	
T. 90	40	0,8	14	Co 67 *
T. 97	20	0,1	14	
T. 98	20	"	20	

(*) Material constituído de uma mistura de plantas.

As células octoplóides foram evidentemente produzidas pelos tratamentos, pois a sua ocorrência em material normal é muito rara (9); além disso, é conhecido o efeito c-mitótico da colquicina em raízes de amendoim (2, 7).

Em trabalho recente, Quader (10) se refere à obtenção de plantas com 80 cromossomos, de meiose anormal e com sintomas de gigantismo, às quais ele chama de autotetraplóides.

No material estudado, porém, não houve evidência de poliploidização na parte aérea.

Grãos de pólen — A porcentagem de pólen viável, indicada pela coloração com o carmim acético, é igualmente elevada nas plantas testemunhas e nas tratadas, variando entre 91,0% e 100,0%. Em material estudado por Veyret (11), ao contrário do nosso, foi encontrada alta esterilidade do pólen, causada por meiose anormal.

Quanto ao tamanho, a maioria dos grãos de pólen apresentou as medidas normais, não diferindo das encontradas na variedade Tatu; alguns tratamentos, entretanto, produziram grãos maiores e irregulares em tamanho, não tendo sido pesquisada a causa desta irregularidade. Assim como a polissomatia, os grãos de pólen maiores só foram encontrados em plantas tratadas.

Aspecto vegetativo das plantas — As modificações fenotípicas não estão relacionadas com os casos de polissomatia, única alteração cromossômica observada, nem com os casos de grãos de pólen maiores que o tamanho normal.

Algumas das alterações morfológicas observadas em plantas tratadas pela colquicina foram:

a) plantas que não se ramificaram normalmente, produzindo apenas a haste principal e mais um ou dois ramos, todos muito longos; tais plantas produziram poucas flores e raros frutos;

b) plantas provenientes dos tratamentos mais fortes ou mais prolongados, que não se desenvolveram, ficando pequenas, com internódios e ramos curtos, atrofiados, sem flores, isto é, propriamente plantas anãs e estéreis;

c) sementes que apenas expandiram a plúmula sobre um hipocótilo espessado, com raízes grossas, e assim ficaram por algum tempo, acabando por morrer no fim de 15 ou 20 dias.

Estes três itens descrevem modificações que puderam ser observadas só na geração F_1 , pois tais plantas não se reproduziram.

d) plantas que apresentaram aspecto vigoroso, com ramificação mais intensa que a normal;

e) plantas de ramos rasteiros e frutos catenados (figuras 1 e 2), muito semelhantes ao *Arachis monticola*;



FIGURA 1. — *Arachis hypogaea* L. var. Tatu: A — planta normal; B — planta fenotipicamente modificada, resultante do tratamento de sementes com colquicina.

f) plantas que produziram frutos e sementes em média maiores que os da variedade Tatu; além disso, as sementes são mais regulares, havendo pequena diferença entre as sementes extremas e as centrais de uma mesma vagem (figura 3).

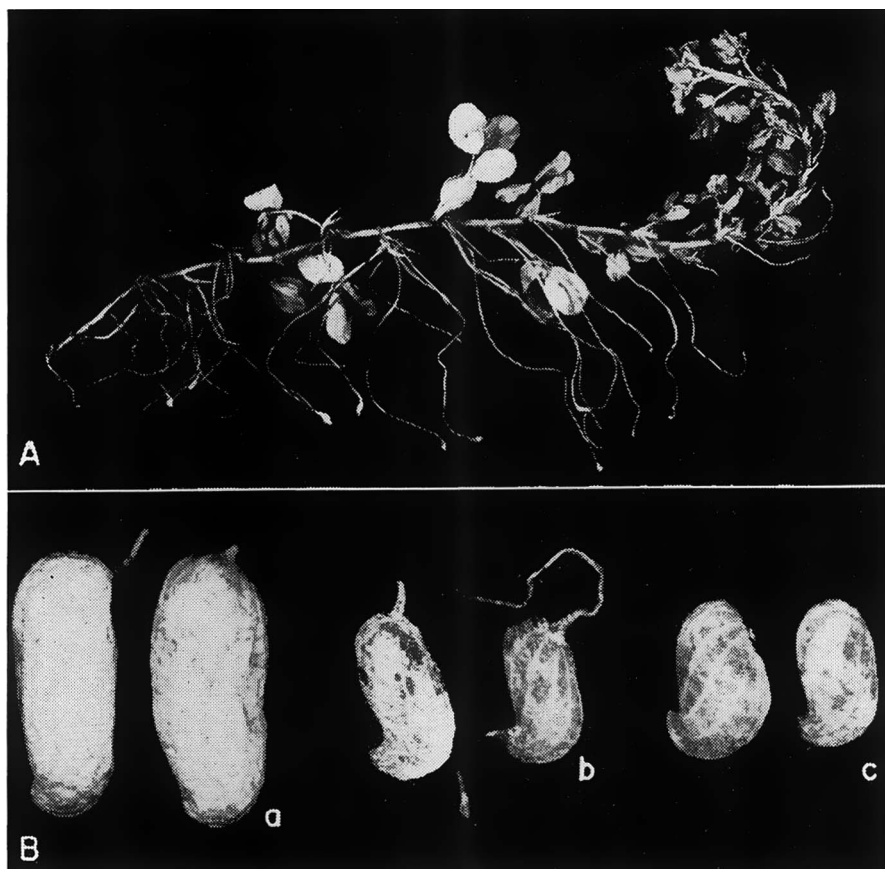


FIGURA 2. — *Arachis hypogaea* L.: A — ramo cotiledonar da planta modificada, apresentada na figura 1-B, mostrando os pendões com os frutos em desenvolvimento nas extremidades; B — frutos em tamanho natural: a — var. Tatu; b — da planta mutada; c — da espécie *A. monticola*.

A análise estatística revelou que embora haja diversas plantas com frutos e sementes maiores, nenhuma planta foi melhor que a testemunha em produção, sendo no máximo tão boa quanto ela, e que todas foram mais pobres em óleo.

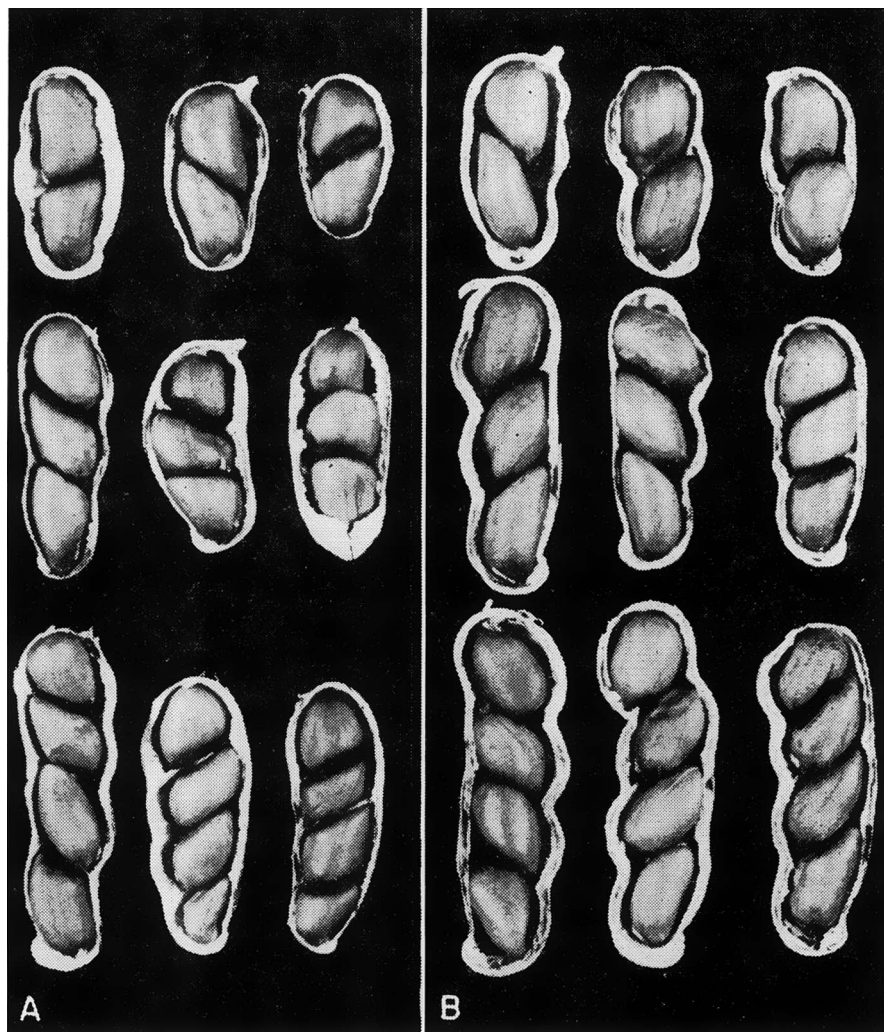


FIGURA 3. — *Arachis hypogaea* L. Frutos com 2, 3 e 4 sementes: A — típicos da variedade Tatu; B — de uma planta (Co 9-2) tratada com colquicina. Tamanho natural.

Entre as modificações produzidas chamou a atenção, pelo maior interesse sob o ponto de vista científico, a obtenção de plantas semelhantes ao *A. monticola*, e sob o ponto de vista agrônômico, as sementes maiores, mais regulares e menos ricas em óleo, que, por essas características, poderão constituir um bom amendoim de mesa.

COLCHICINE EFFECTS ON *ARACHIS HYPOGAEA* L.

SUMMARY

Treatments with colchicine in peanuts have been tried on seed, cotyledonary buds and on seedling main stems previously cutted.

Polysomatic roots were observed in F₂ plants, but there was not any evidence of polyploidy in other parts; some treatments produced irregular larger pollen grains.

Phenotypic modifications were observed: some plants with few and long branches as well as others with very short ones, all them being sterile; seedlings with abnormal hypocotyl and thick roots, that died few days after germination; plants which produced catenate fruits similar to those of *Arachis monticola*; and plants with larger and more regular seed than the original variety.

No association was found between the phenotypic modifications and polysomaty or abnormal pollen.

LITERATURA CITADA

1. BRAACK, J. K. & ZEILINGA, A. E. Production of a colchicine induced tetraploid asparagus. *Euphytica* 6:201-212, 1957.
2. CARPENTIER, S. Action de la colchicine sur les racines et radicules d'arachide. *Revue Cytol. Biol. vég.* 15:155-178, 1954.
3. EIGSTI, C. J. & DUSTIN Jr., P. Colchicine in agriculture, medicine, biology and chemistry. Ames, Iowa State College Press, 1955. 470 p.
4. ERICKSEN, A. W. & ROSS, J. G. Inheritance of colchicine induced malesterility in sorghum. *Crop Sci.* 3:335-338, 1963.
5. FRANZKE, C. J. & ROSS, J. G. Colchicine induced variants in sorghum. *J. Hered.* 43:107-115, 1952.
6. HARPSTEAD, D. D.; ROSS, J. G. & FRANZKE, C. J. The nature of chromatine changes of colchicine induced variants. *J. Hered.* 45:255-258, 1954.
7. MEDINA, D. M. & CONAGIN, C. H. T. M. Nova técnica para a contagem de cromossomos de amendoim (*Arachis hypogaea* L.) *Bragantia* 22:421-444, 1963.
8. ————— & —————. Técnica citológica. Campinas, Instituto Agrônomico, 1964. 107p. (Publicação 2610)
9. MENDES, A. J. T. Estudos citológicos no gênero *Arachis*. *Bragantia* 7:257-267, 1947.
10. QUADER, M. A. Cytological studies in colchicine induced polyploids in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Oléagineux* 21:312, 1969.
11. VEYRET, Y. Action de la colchicine sur *Arachis hypogaea* L. *Comptes Rendus de la Conference Arachide-Mil, Bambey (Sénégal)*, 1954. *Bull. Agro.* 12:212-213, 1955.