

POPULAÇÕES E FONTES DE PÓLEN COMO FATORES POTENCIAIS NA FORMAÇÃO DE EMBRIÕES HAPLÓIDES EM CRUZAMENTO INTERGENÉRICO

POPULATIONS AND POLLEN SOURCES AS POTENTIAL FACTORS IN THE FORMATION OF HAPLOID EMBRYOS IN INTERGENERIC CROSSES

SILVA, José A.G. da¹; CARVALHO, Fernando I. F. de²; OLIVEIRA, Antonio C.²; SILVA, Simone A.³; SANCHES-CHACÓN, Carlos D.³; MARCHIORO, Volmir S.⁴; LORENCETTI, Claudir⁴; BENIN, Giovani⁴; SIMIONE, Daniel⁵; FINATTO, Taciane⁵

RESUMO

Com a finalidade de identificar prováveis genitores que expressem a capacidade de elevar o número de embriões haplóides obtidos e fontes de pólen que contribuam para o caráter, foram polinizados 380 espigas de trigo com milho híbrido AG 6018 e doce BR 400 e 40 espigas com anteras de aveia, obtendo-se 149 embriões haplóides que foram levados ao meio de cultura e incubados em tubo de ensaio. Pode ser percebido que os caracteres número de grãos cheios formados e número de embriões resgatados estão sob responsabilidade de combinações genéticas específicas e não apenas de um genitor individualizado. As populações F_1 não apresentaram maior produção de grãos cheios e embriões do que os genótipos da população F_2 o que permite inferir que a diferença entre as gerações não está apoiada na hipótese de vigor híbrido. Contudo, o milho doce permitiu um incremento significativo do número de grãos cheios e embriões haplóides formados em relação ao milho híbrido e as anteras de aveia quando utilizadas como fonte de pólen não apresentaram resultados satisfatórios.

Palavras-chave: trigo, aveia, milho e ginogênese.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de novas variedades de trigo é um trabalho permanente e contínuo nos programas de melhoramento, objetivando gerar genótipos superiores com capacidade para tolerar fatores de ambiente adversos, alcançando melhores índices de produtividade de grãos e incorporando novas áreas ao processo produtivo. Porém, uma das grandes limitações no melhoramento de plantas autógamas, como o trigo, é o tempo necessário para ser atingido o estágio de homozigose após a hibridação, sendo necessário desenvolver novas técnicas que permitam aumentar a eficiência de seleção para o lançamento de variedades mais produtivas, já que, os efeitos de dominância mascaram o fenótipo dificultando a obtenção de genótipos superiores nas primeiras gerações de autofecundação.

No melhoramento de cereais de estação fria, a haploidia permite acelerar o processo de melhoramento varietal pela eliminação das gerações segregantes heterozigotas com conseqüente ganho de tempo, podendo aumentar a eficiência de seleção e economia de espaço nos campos experimentais.

Comparando a probabilidade de seleção de um genótipo qualquer, se for obtido 20 plantas de trigo por di-haploidização, este número equivaleria no melhoramento convencional a um tamanho de população de 400 plantas, pois, não ocorrem indivíduos heterozigotos nas progênes di-haplóides (MORAES-FERNANDES, 1987), ou seja, o cultivo do embrião imaturo resulta na plântula haplóide que, após a duplicação com colchicina, alcança a homozigose numa única geração (MORAES-FERNANDES, 1990).

Nos cereais, plantas haplóides são usualmente frágeis na sua estrutura, com colmos e folhas finas, porte baixo e inflorescências pequenas e estéreis (NIIZEKI & OONO, 1971). Para restauração da fertilidade e utilização no melhoramento, as plantas haplóides devem ter seu genoma duplicado, sendo a colchicina o agente mais comumente utilizado (WAN et al., 1991; BARNABÁS et al., 1981).

As duas técnicas mais empregadas na obtenção de embriões haplóides têm sido a cultura de anteras (DUNWELL, 1985) e cruzamentos interespecíficos com a subseqüente eliminação do genoma do doador de pólen durante o desenvolvimento embrionário (KOTT & KASHA, 1985). A eliminação somática dos cromossomos do doador é progressiva por causa de sincronização dos ciclos mitóticos entre as duas espécies, ocasionando anomalias do fuso e inativação do genoma paterno.

Os cruzamentos intergenéricos surgem como uma nova sistemática para superar as dificuldades encontradas na cultura de anteras, como a da técnica desenvolvida por LAURIE & BENNETT (1987) no cruzamento trigo x milho que propiciou o entendimento da participação menos intensa do genótipo do que a cultura de anteras e maior eficiência na obtenção de haplóides abrindo novos horizontes para a haploidização na cultura de trigo (LAURIE & REYMONDIE, 1991).

A identificação de genitores de trigo que expressem a capacidade de elevar o número de embriões haplóides obtidos às populações segregantes formadas bem como a utilização de fontes de pólen que contribuam para o caráter podem ser de grande utilidade nos programas de melhoramento, permitindo com isso, auxiliar o melhorista em concentrar seus esforços nas combinações mais promissoras, orientando o sentido dos cruzamentos e do genótipo dos genitores paterno

¹ Eng. Agr. estudante do Curso de Pós-Graduação em Agronomia (Fitomelhoramento) em nível de mestrado, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (UFPel).

² Eng. Agr. (Ph.D), Prof. do Depto de Fitotecnia (Fitomelhoramento) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

³ Eng. Agr. (Dr), Prof. colaborador, bolsista Recém-Doutor da FAPERGS. Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

⁴ Eng. Agr. (Dr), estudante de Doutorado do Departamento de Fitotecnia (Fitomelhoramento) da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

⁵ Estudante do curso de Graduação em Biologia. Bolsista de iniciação científica da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas (FAEM/UFPel).

Silva et al. Populações e fontes de pólen como fatores potenciais na formação de embriões haplóides em cruzamento intergenérico

e materno a ser empregado. Desse modo, o objetivo do trabalho foi o de verificar as populações de trigo mais responsivas quanto ao potencial de formar embriões haplóides e identificar as combinações que estariam contribuindo para o caráter, bem como o potencial de três fontes de pólen, genótipos de milho (híbrido e doce) e pólen de aveia em cruzamento intergenérico.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido em telado, estufa e laboratório de di-haplóides pertencentes ao Centro de

Genômica e Fitomelhoramento da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, localizado no município de Capão do Leão/RS no ano de 2001. Foram utilizados quatro genótipos de trigo na geração F₂ provenientes da EMBRAPA Trigo de Passo Fundo e três da geração F₁ obtidos de cruzamentos realizados a campo no Centro Agropecuário da Palma FAEM/UFPEL.

Os genótipos foram semeados em condições de telado, utilizando populações de trigo contrastantes em relação aos caracteres tolerância ao alumínio (Al³⁺) e estatura de planta, como demonstra os dados incluídos na Tabela 1.

Tabela 1 - Populações de trigo F₁ e F₂ utilizadas para o cruzamento intergenérico (trigo x milho) com seus respectivos cruzamentos de origem com presença ou ausência dos caracteres de importância agrônômica como tolerância ao Al³⁺ e estatura de planta (cm), FAEM/UFPEL, 2001.

POP.	GER.	CRUZAMENTO	REAÇÃO Al ³⁺	ESTATURA
P ₁₀	F ₁	EMBRAPA 120 X PF 92231	T X T	I X A
P ₁₁	F ₁	PF 950354 X ANAHUAC	T X S	A x B
P ₁₂	F ₁	PF 92231 X ANAHUAC	T X S	A X B
P ₁	F ₂	BR35 X CEP 24	T X T	I X A
P ₄	F ₂	CEP 24 X PF 87504	I X I	A X I
P ₈	F ₂	EMBRAPA 120 X EMBRAPA 49	T X T	I X A
P ₉	F ₂	PF 92231 X SONORA 64	T X S	A X B

POP. (População); GER. (Geração).

Reação ao Al³⁺: T (tolerante), I (intermediário) e S (susceptível).

Estatura: A (alta > 120 cm), B (baixa < 80 cm) e I (intermediário 80 – 120 cm).

As populações de trigo avaliadas foram semeadas em baldes, contendo solo adubado com macro e micronutrientes e com pH corrigido para 6,0 em 9 épocas distintas com intervalos de 15 a 20 dias para cada semeadura, iniciando a semeadura em 01 de fevereiro e término 11 de junho de 2001, tendo cada genótipo ocupado dois baldes, permanecendo 4 a 5 plantas em cada balde.

Como fontes de pólen foram empregadas as cultivares de milho híbrido (AG 6018) e a cultivar de milho super doce (BR 400) que eram semeadas em intervalos de 7 dias em condições de campo, em área preparada próximo ao telado. Com a queda de temperatura as plantas de milho com até 1m de estatura foram retiradas das condições de campo e transplantadas para dentro de uma estufa plástica para favorecer o florescimento; desde então, as novas épocas de milho para produção de pólen passaram a ser semeadas em ambiente protegido objetivando a formação de pólen viável.

Foram também utilizados, várias cultivares de aveia branca (*Avena sativa* L.) como doadores de pólen, coletando as anteras maduras dos genótipos conduzidos em telado e depositados sobre o estigma da flor do trigo.

A emasculação do trigo foi realizada com a retirada dos antécios centrais, corte das glumas e a retirada das anteras sendo ensacadas em envelopes de papel vegetal e no terceiro ou quarto dia após a emasculação foi feita a polinização com pólen recém coletado da planta doadora (FIGURA 1A) mantendo o mesmo número de espigas polinizadas com milho doce, milho híbrido e anteras maduras de aveia. Após 24 e 48 horas da polinização, foi injetada no colmo uma solução de 2,4 D a 10% (FIGURA 1B), permanecendo as plantas por mais 25 dias em casa de vegetação, iniciando logo após a coleta das

espigas para resgate dos embriões no Laboratório de Di-haplóides e Hidroponia e em câmara de fluxo laminar, utilizando o microscópio estereoscópio (FIGURA 1D).

Foi efetuada a polinização em 7726 antécios e resgatados 149 embriões haplóides que foram levados ao meio de cultura modificado "Batata-2" segundo CHUANG et al. (1981). Os componentes do meio de cultura e suas quantidades para um litro foram: extrato de batata aquoso 5% (1/10 do volume total = 70 mL/L), Fe EDTA (10 mL/L), vitaminas (2 mL/L), AIA (1 mL/L), macro batata regeneração (100 mL/L), sacarose (30 g/L), agar (7 g/L) e pH corrigido para 5,9. Antes do resgate dos embriões foi realizada a contagem do número de antécios polinizados, número de grãos cheios formados (FIGURA 1C) e número de embriões resgatados para cada genótipo analisado.

Os embriões haplóides resgatados foram incubados nos tubos de ensaio, permanecendo três dias no escuro e após transferidos para a luz, ficando na BOD por mais 30 a 60 dias para o desenvolvimento da plântula haplóide e posterior tratamento com a colchicina.

Visando a normalização dos dados correspondente ao número de embriões haplóides resgatados, foi realizada a transformação dos dados para RAIZ quadrada de X + 0,5 proposto por STEEL & TORRIE (1960). Tal transformação teve como objetivo de normalizar a distribuição do erro experimental que provavelmente, prejudicaria a sensibilidade do teste de significância. Os dados dos caracteres número de grãos cheios formados (NGCF) e número de embriões resgatados (NER) foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas utilizando o teste de Tukey.



Figura 1 - (A)- Polinização com pólen de milho os antécios do trigo; (B)- Aplicação de 2,4D no colmo do trigo com agulha e seringa; (C)- Contagem do número de grãos cheios formados; (D)- Resgate de embriões haplóides com o auxílio de microscópio estereoscópico, FAEM/UFPEI, 2002.

RESULTADO E DISCUSSÃO

O resumo da análise de variância revela que não ocorre a interação população x fonte de pólen. Portanto, a análise deverá recair principalmente entre população e fonte de pólen de forma isolada que evidenciaram significância, demonstrando existir diferenças para NGCF e NER (Tabela 2).

Tabela 2 - Resumo da análise de variação do tipo fatorial para genótipos (F_2P_9 , F_2P_8 , F_2P_4 , F_2P_1 , F_1P_{10} , F_1P_{11} e F_1P_{12}) e fontes de pólen (milho híbrido e milho doce) quanto ao número de grãos cheios formados (NGCF) e número de embriões resgatados (NER), FAEM/UFPEI, 2002.

Análise de Variação	GL	QM (N G C F)	QM (N E R)
População	6	80,1666*	0,1905*
Fonte de pólen	1	50,0297*	0,2969*
População x Fonte de Pólen	6	9,9321ns	0,0154ns
Erro	184	11,1162	0,0869
CV(%)	-	32,34	30,70

* Significativo a 5% de probabilidade de erro pelo teste F; ns -Não significativo pelo teste F.

Pelos dados incluídos na Tabela 3, é possível perceber que a média das constituições genéticas F_2P_9 e F_2P_8 foram as que mais contribuíram para o número de grãos cheios formados e o número de embriões resgatados, apresentando uma média de 7,70 NGCF e 0,49 NER e 9,12 NGCF e 0,59 NER por espiga polinizada, respectivamente.

O genótipo F_1P_{12} foi o que evidenciou menor contribuição para o caráter NGCF revelando uma média de 5,25, seguido do genótipo F_1P_{11} e F_1P_{10} com média de 5,50 e 6,05 e os genótipos F_2P_1 e F_2P_4 com 6,68 e 6,62 NGCF, respectivamente. Para o caráter NER a população F_1P_{10} foi a que menos contribuiu, com uma média de 0,15, sendo seguido pelo F_1P_{11} e F_1P_{12} com 0,22 e a população F_2P_4 com 0,28 e a F_2P_1 com 0,23 embrião resgatado por espiga polinizada. Entretanto, esses cinco genótipos não foram significativamente diferentes pelo teste de Tukey.

O número de grãos cheios formados e o de embriões resgatados foram considerados baixos para a maioria das populações trabalhadas. Fato este considerado importante, e que necessita de uma série de trabalhos que possibilitem elevar a taxa de embriões haplóides resgatados. Além disso, no que se refere a fase de duplicação cromossômica até a colheita das sementes, um grande número de plantas são perdidas o que pode reduzir de forma drástica a obtenção de plantas duplo haplóides formadas e limitando a utilização do método dentro de um programa de melhoramento com base

na seleção clássica, pois, nesse caso, corre-se o risco elevado de perda de alelos importantes na população.

O genótipo PF 92231, que fez parte como genitor da população F₂P₉, apresentou bons resultados quando cruzado com Sonora 64 (MNGCF=7,7 e MNER=0,49), porém, não obteve o mesmo desempenho quando combinado com o genótipo Anahuac para formar a população F₁P₁₂, reduzindo consideravelmente a média do número de grãos cheios formados e o número de embriões resgatados por espiga para 5,25 e 0,22, respectivamente.

Tabela 3 - Desempenho das populações de trigo F₁ e F₂ quanto ao número de espigas polinizadas, número de antécios polinizados, número de grãos cheios formados, número de embriões resgatados bem como suas respectivas médias para os genótipos F₂P₉, F₂P₈, F₂P₄, F₂P₁, F₁P₁₀, F₁P₁₁ e F₁P₁₂, FAEM/UFPEL, 2002.

POP.	NEP	NAP	NGCF	MNGCF	NER	MNER
F ₂ P ₈	78	1422	711	9,12 a	47	0,59 a
F ₂ P ₉	76	1337	585	7,70 a	38	0,49 a
F ₂ P ₄	52	954	344	6,62 b	15	0,28 b
F ₂ P ₁	44	776	294	6,68 b	10	0,23 b
F ₁ P ₁₀	44	779	266	6,05 b	13	0,15 b
F ₁ P ₁₁	50	882	275	5,50 b	13	0,22 b
F ₁ P ₁₂	36	626	189	5,25 b	9	0,22 b
TOTAL	380	6776	2664	-	145	-

POP. (população), NEP (número de espigas polinizadas), NAP (número de antécios polinizados), NGCF (número de grãos cheios formados), MNGCF (média do número de grãos cheios formados por espiga polinizada)= NGCF/NEP, NER (número de embriões resgatados) e MNER (média do número de embriões resgatados por espiga polinizada)= NER/NEP.

A população F₁P₁₀ que inclui a Embrapa 120 como genitor no cruzamento com a PF 92231 expressou a menor média para a MNGCF (6,05) e a que menos contribuiu para a MNER (0,15), porém, para a formação da população F₂P₈ proveniente da combinação com a Embrapa 49, possibilitou um incremento na média dos caracteres em estudo de 9,12 para o NGCF e de 0,59 NER, sendo esta a população mais promissora.

O cruzamento utilizando Embrapa 120 com a PF 92231 que formou a população F₁P₁₀ não resultou em médias elevadas para o NGCF e NER. Fato este, realmente difícil de ser compreendido; pois, a população F₂P₈ (Embrapa 120 x Embrapa 49) expressaram os melhores resultados, seguidos da população F₂P₉. Conseqüentemente, era previsível que o cruzamento Embrapa 120 com PF 92231 apresentassem médias elevadas para o NGCF e NER.

A provável hipótese de que os genitores teriam capacidade geral de combinação na formação de grãos cheios e embriões resgatados em cruzamento trigo x milho não foram confirmados nos cruzamentos estudados o que determina sua nulidade; porém, há evidências de que os caracteres em estudo estão sob responsabilidade de combinações genéticas específicas e não apenas de uma constituição genética individualizada. Outra hipótese seria de que as combinações genéticas F₂P₉ e F₂P₈, tendo o maior NEP e NAP, provavelmente teria uma maior probabilidade na obtenção de NGCF e NER; por isso, a comparação nas populações avaliadas foi feita com base em médias.

Segundo UHRIG (1985) & CHEN (1986) a capacidade

de formar calos ou embrióide é hereditária na cultura de anteras, e parece que esta resposta é controlada por um número limitado de genes mendelianos. Além disso, a interação genótipo x ambiente deve ser considerada ($\sigma^2_{G.E}$) principalmente no desenvolvimento de protocolos requeridos para a produção de plantas haplóides e de seu emprego em programas de melhoramento. Segundo AUGUSTIN (1998), os estudos visando a haploidização em aveia através de cruzamentos intergenéricos, demonstraram que os fatores como o meio de cultura, tratamento químico, ambiente e genótipos paternos, influenciaram na formação de embriões haplóides.

A expectativa de que as populações F₁ permitissem uma maior produção de grãos cheios e embriões resgatados com base no vigor híbrido não foi confirmada, visto que, na população F₂ ocorre depressão endogâmica apresentando plantas com menor vigor; entretanto, isto não ocorreu (Tabela 3). Conseqüentemente, as diferenças obtidas entre as populações F₁ e F₂ não está apoiada na hipótese de vigor, o que auxilia de uma certa forma o embasamento da constituição genética em expressar os caracteres NGCF e NER.

Os resultados médios para NGCF e NER evidenciaram diferenças significativas para fontes de pólen, demonstrando que o milho doce foi mais eficiente do que o híbrido em relação aos caracteres analisados para a média de todas as populações. Além disso, foram utilizados anteras de aveia, devido as características similares de serem espécies de clima frio o que poderia ser uma nova alternativa como fonte de pólen e possibilitaria a obtenção de embriões haplóides sem a necessidade de produzir o milho durante as estações frias, o que acarreta ambiente com temperatura, fotoperíodo e umidade controladas para permitir o florescimento e formação de pólen viável. Maiores detalhes poderão ser observados nas Figura 3 e 4, sobre o efeito das fontes de pólen nas diferentes constituições genéticas, onde o milho doce sempre proporcionou maior NGCF e NER nas populações F₂P₈ e F₂P₉; nas demais populações as diferenças foram pequenas.

Tabela 4 - Resultado médio dos caracteres avaliadas visando determinar as fontes de pólen mais responsivas quanto a média do número de grãos cheios formados (MNGCF) e média do número de embriões resgatados (MNER), FAEM/UFPEL, 2001.

Fonte de Pólen	MNGCF	MNER
Milho doce BR 400	7,43 a	0,92 a
Milho híbrido AG6018	6,58 b	0,86 b
Aveia	6,15 b	0,10 c

*Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem significativamente a 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O milho doce permitiu um considerável incremento de 1412 grãos cheios formados e 86 embriões haplóides resgatados em relação a utilização do milho híbrido que apresentou 1252 grãos cheios e 59 embriões obtidos (Tabela 4) o que concorda com os dados apresentandos por INAGAKI & TAHIR (1990), em que a comparação da frequência de produção de embriões haplóides foi significativamente diferente entre os genótipos de milho, variando de 18% a 32% em cruzamento com trigo.

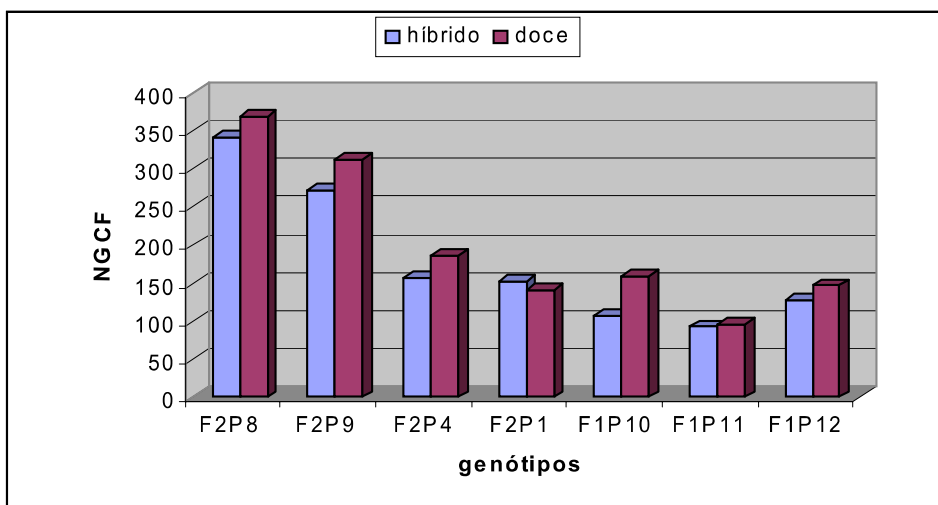


Figura 2 - Capacidade de formação de grãos cheios formados nos genótipos F2P8, F2P9, F2P4, F2P1, F1P10, F1P11 e F1P12, utilizando pólen de milho híbrido AG 6018 e milho doce BR 400, FAEM/UFPEL, 2002.

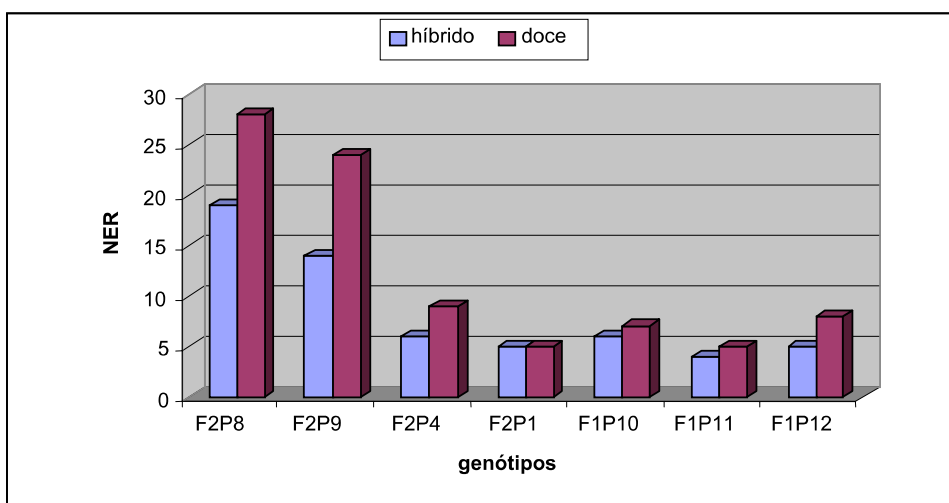


Figura 3 - Capacidade de formação de embriões haplóides nos genótipos F2P8, F2P9, F2P4, F2P1, F1P10, F1P11 e F1P12, utilizando pólen de milho híbrido AG 6018 e milho doce BR 400, FAEM/UFPEL, 2002.

Em relação ao pólen de aveia, foram polinizadas 40 espigas o que correspondeu a um total de 950 antécios trabalhados com 246 grãos cheios formados e 4 embriões haplóides resgatados. A utilização da aveia branca como genitor paterno não favorece a técnica de ginogênese, porém, estudos que permitam determinar a concentração ideal de 2,4D a ser preparado, o número de aplicações do hormônio após polinizações, bem como fatores genéticos e de ambiente que contribuam para o caráter podem favorecer consideravelmente a técnica do cruzamento trigo x aveia. Além disso, é relevante a quantidade de pólen produzido pelo milho bem como a facilidade na polinização, pois, para a polinização utilizando aveia é necessário que as anteras estejam maduras onde são retiradas com a pinça e colocadas em placa de *petri* e após utilizada uma antera individual que é depositada sobre

o estigma de cada flor do trigo, o que dificulta consideravelmente os trabalhos.

Nas espécies que apresentam estiletes curtos como a aveia o tubo polínico atinge no máximo pouco milímetros, entretanto, o milho apresenta estiletes de mais de 50 cm, porém, a porção apical do tubo contém os dois espermatóides que avançam no estilete degenerando a parte mais velha, desse modo, o tubo polínico formado não é contínuo ao chegar do estigma até o óvulo. Esse fenômeno pode ser um fator relevante que pode explicar a maior facilidade na obtenção de embriões haplóides utilizando o milho como polinizador, pois, em muitas espécies, ocorre a formação de um tubo polínico contínuo, mas que por uma série de razões genéticas e de ambiente é incapaz de crescer de maneira a atravessar todo o estilete chegando até o ovário para a fecundação.

Segundo BIGNOTTO et al. (2001) os grãos situados na base da espiga possuem uma melhor constituição genética, devido serem polinizados pelos grãos de pólen mais vigorosos, uma vez que o comprimento do estilo-estigma dos grãos situados na base é maior em comparação aos grãos situados na ponta da espiga. Desse modo, estudos para a seleção de pólen através dos grãos da base da espiga, indiretamente estariam sendo selecionados grãos de pólen mais vigorosos o que poderia estar correlacionado com o aumento no número de embriões resgatados em cruzamento trigo x milho.

CONCLUSÃO

A formação de grãos cheios formados e embriões resgatados provenientes de cruzamento trigo x milho, não deve ocorrer com base em um único genitor e sim sob responsabilidade de combinações genéticas específicas.

As plantas da geração F₂ apresentam o maior número de grãos cheios formados e embriões resgatados, evidenciando que as diferenças obtidas entre as médias das populações F₁ e F₂ não tem apoio na hipótese de heterose.

O milho doce (BR 400) é mais eficiente do que o milho híbrido (AG 6018) na expressão dos caracteres número de grãos cheios formados e número de embriões resgatados e superior a utilização de anteras de aveia.

ABSTRACT

Aiming at identifying probable parents that express the capacity to increase the number of obtained haploid embryos and pollen sources that contribute to the character, 380 wheat spikes were pollinated with hybrid corn AG 6018 and sweet corn BR 400, as well as 40 wheat spikes pollinated with oat anthers. It were obtained 149 haploid embryos that were taken to the medium culture and incubated in test tube. The characters number of full grains and number of rescued embryos are under the control of specific genetic combinations and not just an individualized genotype. The F₁ populations did not present higher full grain and embryo production than the genotypes of F₂ populations, what makes it possible to infer that the difference among the generations is not supported by the hybrid vigor hypothesis. However, the sweet corn allowed a significant increase in the number of full grains and haploid embryos formed, in relation to the hybrid corn and the oat anthers.

Key words: wheat, oat, corn and gynogenesis.

REFERÊNCIAS

AUGUSTIN, L.; SUSIN, M.; GRANDO, M.F.; et al. Laboratório de biotecnologia vegetal da Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária da Universidade de Passo Fundo. In: ENCONTRO DE GENETICISTAS DO RIO GRANDE DO SUL, 1., 1998, Pelotas, **Anais...** Pelotas: Editora Universitária, 1998, p. 54-55.
BARNABÁS, B.; PFAHLER, P.L.; KOVACS, G. Direct effect of colchicine on the microspore embryogenesis to produce dihaploid plants in wheat (*Triticum aestivum*). **Theoretical and Applied Genetics**, v.81, p.675-678, 1981.

BIGNOTTO, E.A.; RAMALHO, M.A.P.; RIBEIRO, P.H.E. Seleção do pólen por meio da posição da espiga dos grãos na espiga de milho. Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, disponível em <<http://www.sbmp.org.br/cbmp2001/area2/02Resumo249.html>> Acesso em: 17 abr. 2003.

CHEN, Y. Anther and pollen culture in rice. In: HU, H.; YANG, H., ed. **Haploids of higher plant in vitro**. Berlin: Springer-Verlag, 1986 p.3-25.

CHUANG, C.-C.; OU YANG, T.-W.; CHIA, H.; et al. A set of potato media for wheat anther culture. In: SYMPOSIUM ON PLANT TISSUE CULTURE, 1978, Peking. Plant Tissue Culture, Boston: Pitman, 1981. p. 51-56.

DUNWELL, J.M.; CORNISH, M. de; COURCEL, A.G.L. Influence of genotype, plant growth, temperature and anther incubation temperature on microspore embryo production in *Brassica nappus* spp. Oleifera. **Journal of Experimental Botany**, v.36, p.679-689, 1985.

INAGAKI, M.; TAHIR, M. Comparison of haploid production frequencies in wheat varieties crossed with *Hordeum bulbosum* L. and maize. **Japan Journal of Breeding**, v.40, p.209-216, 1990.

KOTT, L. S.; KASHA, K.J. Embryo culture and haploid plant production. In: BRIGHT, S.W.J.; JONES, M.G.K., ed. **Cereal tissue and cell culture**. Dordrecht: Martinus Nijhoff, 1985, p.45-78.

LAURIE, D.A.; BENNETT, M. D. Wheat x Maize hybridization and the production of haploid wheat plants. In: INTERNATIONAL WHEAT GENETICS SYMPOSIUM, 7., 1987, Cambridge, U.K. **Proceedings...** Cambridge, p. 349 – 354, 1987.

LAURIE, D. A; REYMONDIE, S. High frequencies of fertilization and haploid seedling production in crosses between commercial hexaploid wheat varieties and maize. **Plant Breed**, Berlin, v. 106, n. 3, p. 182 – 189, 1991.

MORAES-FERNANDES, M.I.B. Perspectivas da biotecnologia para o melhoramento de plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 22, n. 9, p. 881 – 886, 1987.

MORAES-FERNANDES, M.I.B. Obtenção de plantas haplóides através da cultura de anteras. In: TORRES, A. C.; CALDAS, L.S. (Eds.) **Técnicas e aplicações da cultura de tecidos de plantas**. Brasília: EMBRAPA – CNPH, p.311 – 332, 1990.

NIIZEKI, H.; OONO, K. Rice plants obtained by anther culture. In: COLLOQUES INTERNATIONAUX DU CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE, 193., 1970, Straubourg. **Les cultures de tissus de plantes**. PARIS: CNRS, 1971. p.251-257.

STEEL, R.G.D.; TORRIE, J.H. – Principles and Procedures of Statistics – With Special Reference to the Biological Sciences. Mcgraw-Hill Book Company, Inc. New York, Toronto, London. 1960, 481 p.

UHRIG, H. Genetic selection and liquid medium condition improve the yield of androgenetic plants from diploid potatoes. **Theoretical and Applied Genetics**, v.71, p.263-271, 1977.

WAN, Y.; DUNCAN, D.R.; RAYBURN, A.L.; et al. The use of antimicrotubule herbicides for the production of double haploid plants from anther derived maize callus. **Theoretical and Applied Genetics**, v.81, p.205-211, 1991.