

MICROSPOROGÊNESE EM HÍBRIDOS INTRAESPECÍFICOS SEXUAIS DE *B. humidicola*

Gabriel Luiz de Melo Sales (PIC-UEM), Andréa Beatriz Mendes-Bonato
(Orientador), e-mail: abmbonato@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Departamento de Biotecnologia,
Genética e Biologia Celular/Maringá, PR.

Genética, Genética Vegetal

Palavras-chave: microsporogênese, poliploidia, irregularidades meióticas

Resumo

Brachiaria humidicola é uma espécie forrageira, de origem africana, que se adapta bem a solos pobres e mal drenados como os do Pantanal brasileiro. Entretanto, poucas cultivares estão disponíveis no mercado. Os programas de melhoramento são dificultados pela condição poliploide e pela reprodução assexual da maioria das espécies. A hibridação intraespecífica para exploração da variabilidade genética na espécie é possível. Entretanto, a associação da poliploidia com a ocorrência de anormalidades meióticas afeta severamente a formação de grãos de pólen férteis e a produção de sementes. As análises citogenéticas são imprescindíveis no programa de melhoramento por identificar anormalidades meióticas que comprometem a fertilidade dos genótipos envolvidos e explicar as baixas taxas de sucesso em certos cruzamentos. Assim sendo, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a microsporogênese de híbridos intraespecíficos sexuais de *B. humidicola*.

Introdução

As espécies do gênero *Brachiaria* (Syn. *Urochloa* P. Beauv.) são importantes forrageiras em regiões tropicais e subtropicais. No Brasil, elas representam a maior parte das pastagens cultivadas e são a base da produção de carne e sementes forrageiras, tornando o país um dos maiores produtores e exportadores desses produtos. Este gênero é formado por mais de 100 espécies, de origem africana, com grandes diferenças morfológicas e fenológicas. No Brasil, existe dez cultivares registradas no Sistema Nacional de Proteção de Cultivares (BOLDRINI et al., 2011) e estas cultivares pertencem a quatro espécies: *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. humidicola* e *B. ruziziensis*. Entretanto, cultivares de duas espécies são cultivadas em mais de 50 milhões de hectares de pastagens; a *Brachiaria brizantha* cv. Marandu e a *Brachiaria decumbens* cv. Basilisk. Considerando que o Pantanal brasileiro permanece alagado por um bom período durante o ano e esta região representa uma importante e extensiva área de produção de gado, é de grande importância o desenvolvimento de cultivares

adaptadas a solos mal drenados. A *B. humidicola* é uma espécie que se adapta bem a solos pobres e mal drenados, mas apresenta de média a baixa qualidade nutricional. Os programas de melhoramento deste gênero encontram sérias dificuldades que são impostas pela poliploidia e pela reprodução assexual da maioria das espécies. A variação genética é um requerimento básico para os programas de melhoramento. No gênero *Brachiaria*, a variação genética precisa ser liberada através do uso da sexualidade para acessar a heterozigiosidade fixada pela apomixia (VALLE et al., 2009). Na coleção germoplasma de *Brachiaria* da Embrapa Gado de Corte foi identificado um acesso poliploide e sexual de *B. humidicola*, o que permitiu a hibridação intraespecífica para exploração da variabilidade genética na espécie. Apesar da hibridação ser possível entre acessos dessa espécie, a poliploidia frequentemente está associada com a ocorrência de anormalidades meióticas que afetam severamente a formação de grãos de pólen férteis e a produção de sementes (MENDES-BONATO et al., 2002; BOLDRINI et al., 2011). As análises citogenéticas dos híbridos são imprescindíveis na identificação das anormalidades meióticas que comprometem a fertilidade dos genótipos envolvidos (FELISMINO; PAGLIARINI; VALLE, 2010) e para explicar as baixas taxas de sucesso em certos cruzamentos. Portanto, o objetivo do presente trabalho foi avaliar a microsporangênese de híbridos intraespecíficos de *B. humidicola*.

Materiais e métodos

Foram avaliados citogeneticamente sete híbridos sexuais intraespecíficos de *Brachiaria humidicola* (PL 02, PL 64, PL 138, PL 179, PL 216, PL 289, PL 350). Estes híbridos fazem parte da coleção de germoplasma da Embrapa Gado de Corte - Campo Grande – MS. As inflorescências foram coletadas e fixadas em solução de etanol, clorofórmio e ácido propiônico (6:3:2; v/v), por 24 horas, transferidas para álcool 70%. Para as análises de comportamento meiótico, as lâminas são preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com carmim propiônico 1%. Foram contabilizadas células normais e anormais em cada uma das fases da meiose. As imagens foram capturadas através do microscópio óptico Olympus CX 31 equipado com uma câmera SC 30 utilizando o programa *AnalySIS getIT*

Resultados e Discussão

Foram analisados sete híbridos sexuais intraespecíficos de *Brachiaria humidicola* (PL 02, PL 64, PL 138, PL 179, PL 216, PL 289 e PL 350) pertencentes ao programa de melhoramento de *Brachiaria* da Embrapa Gado de Corte. A porcentagem total de anormalidades encontradas nos dois híbridos variou de 4,64% nas metáfases do híbrido PL 289 a 100% nas anáfases I do híbrido PL02 e nas anáfases II dos híbridos PL02, PL216, PL289 e PL350 (Tabela 1). As anormalidades meióticas, verificadas nos híbridos, foram a migração precoce de cromossomos aos polos durante as

metáfases e a presença de cromossomos retardatários nas anáfases, que são comuns em híbridos poliploides deste gênero. Estas anormalidades levaram a formação de micronúcleos nas telófases, na prófase II e nos micrósporos das tétrades. Estes micronúcleos, por sua vez, podem ter diferentes destinos. Os micronúcleos formados ao final da meiose I podem continuar como micronúcleos até o final da meiose ou podem reincorporar-se à placa equatorial da segunda divisão e não serem mais visualizados na tétrade (MENDES-BONATO et al., 2002, 2006; RICCI et al., 2011). No caso dos híbridos analisados, apesar da alta porcentagem de micronúcleos observados em prófase II, sugere-se que eles tenham se incorporado a placa equatorial da segunda divisão uma vez que não foram encontrados nas fases de metáfase II e anáfase II. Os micronúcleos encontrados nas telófases II e tétrades de micrósporos são, por sua vez, decorrentes da segregação irregular dos cromossomos nas metáfases II e anáfases II. Este comportamento meiótico já foi descrito em acessos de *B. humidicola* (BOLDRINI et al., 2009) e em híbridos intra e interespecíficos de *Brachiaria* (MENDES-BONATO et al., 2002).

Tabela 1. Fases da meiose, anormalidades meióticas encontradas em cada fase e porcentagem de células anormais nos sete híbridos analisados.

FASES DA MEIOSE	ANORMALIDADES	HÍBRIDOS						
		PL02	PL64	PL138	PL179	PL216	PL289	PL350
Met I	Cromossomos em ascensão precoce	23,7	71,4	27,8	48,8	44,1	4,64	9,37
Ana I	Cromossomos retardatários	100	60,4	98,7	90,9	91,6	85,3	95,6
	Pontes de terminalização de quiasmas	-	39,5	-	-	-	-	-
Tel I	Micronúcleos	78,7	87,0	59,4	56,9	40,0	51,0	64,4
Pro II	Micronúcleos	88,0	83,5	59,7	57,7	25,0	58,2	75,6
Met II	Cromossomos em ascensão precoce	92,8	89,6	70,0	61,9	92,3	24,4	93,5
Ana II	Cromossomos retardatários	100	96,5	93,8	96,2	100	100	100
Tel II	Micronúcleos	93,0	90,4	78,8	78,7	83,3	99,0	96,3
Tétrades de Micrósporos	Micronúcleo	84,5	75,5	86,5	75,1	78,9	86,7	96,9
	Políades	-	5,2	-	4,2	-	-	-
	Micrócitos	-	6,7	-	-	-	-	-

Met I: metáfase I; Ana I; anáfase I; Tel I: telófase I; Pro II: prófase II; Met II: metáfase II; Ana II: anáfase II e Tel II: telófase II.

Qualquer que seja o destino dos micronúcleos, eles vão resultar na eliminação de cromossomos e conseqüente formação de grãos de pólen inviáveis. No híbrido PL64, além dessas anormalidades, verificou-se a ocorrência de citocinese anormal resultando em tétrades com micrócito e políades. Estas últimas também foram observadas no híbrido PL179. Estas anormalidades resultam em micrósporos com quantidade desbalanceada de

material genético. De acordo com Boldrini et al. (2011) as irregularidades cromossômicas que ocorrem na meiose são mais preocupantes no final do ciclo, pois os cromossomos que não conseguiram se associar para formar o núcleo irão formar micronúcleos que podem ser eliminados por uma citocinese adicional.

Conclusões

Teoricamente, as hibridações intraespecíficas deveriam produzir poucas anomalias na meiose, pois não há incompatibilidade de genomas. Entretanto, poliploidia afeta o processo meiótico e leva a ocorrência de anormalidades meióticas que comprometem a viabilidade do pólen e a produção de sementes.

Agradecimentos

Gratidão à Universidade Estadual de Maringá, à Embrapa Gado de Corte, à Associação para fomento à pesquisa de melhoramento de forrageiras – UNIPASTO e à minha orientadora pelos ensinamentos e paciência.

Referências

- BOLDRINI, K. R.; ADAMOWSKI, E. V.; SILVA, N.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Meiotic behavior in nonaploid accessions of *Brachiaria humidicola* (Poaceae) and implications for breeding. **Genetics and molecular research : GMR**, v. 10, n. 1, p. 169–176, 2011.
- BOLDRINI, K. R.; MICHELETTI, P. L.; GALLO, P. H.; MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Origin of a polyploid accession of *Brachiaria humidicola* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Genetics and Molecular Research**, v. 8, n. 3, p. 888–895, 2009.
- FELISMINO, M. F.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. do. Meiotic behavior of interspecific hybrids between artificially tetraploidized sexual *Brachiaria ruziziensis* and tetraploid apomictic *B. brizantha* (Poaceae). **Scientia Agricola**, v. 67, n. 2, p. 191–197, abr. 2010.
- MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; FORLI, F.; BORGES DO VALLE, C.; DE OLIVEIRA PENTEADO, M. I. Chromosome numbers and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). **Euphytica**, v. 125, n. 3, p. 419–425, 2002.
- MENDES-BONATO, A. B.; RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M. S.; DO VALLE, C. B. Chromosome number and meiotic behaviour in *Brachiaria jubata* (Gramineae). **Journal of Genetics**, v. 85, n. 1, p. 83–87, 2006.
- RICCI, G. L.; DE SOUZA-KANESHIMA, A. M.; PAGLIARINI, M. S.; DO VALLE, C. B. Meiotic behavior in *Brachiaria humidicola* (Poaceae) hybrids. **Euphytica**, v. 182, n. 3, p. 355–361, 2011.
- VALLE, C.; RESOURCES, M. P.-G.; CHROMOSOME, U.; 2009, U. Biology, cytogenetics, and breeding of *Brachiaria*. **CRC press Boca Raton**, 2009.