

NÚMERO DE CROMOSSOMOS, ASSOCIAÇÕES CROMOSSÔMICAS E COMPORTAMENTO MEIÓTICO EM ACESSOS DO GÊNERO *Paspalum*

Natália da Silva Volpato (PIC-UEM), Andréa Beatriz Diverio Mendes
(Orientador),
e-mail: abdmendes@uem.br

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

Ciências Biológicas, Genética

Palavras-chave: microsporogênese, anormalidades meióticas, poliploidia

Resumo

As plantas do gênero *Paspalum* fornecem excelente forragem em pastagens nativas. Este gênero compreende aproximadamente 400 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais da América. A caracterização citogenética é extremamente necessária para a seleção de acessos para serem usados em cruzamentos intra ou interespecíficos e para obtenção de novas cultivares. Esta necessidade decorre do fato de que, no gênero há uma predominância de acessos poliploides e a poliploidia está frequentemente relacionada com a apomixia. O presente estudo teve como objetivo auxiliar o programa de melhoramento genético de *Paspalum* realizado pela Embrapa Pecuária Sudeste - SP através da análise citogenética de dois acessos de diferentes espécies deste gênero. Para as análises citológicas, os microsporócitos foram preparados pela técnica de esmagamento e corados com carmim propiônico. As imagens contendo os meiócitos com as anormalidades mais representativas foram capturadas através do microscópio óptico Olympus CX 31, câmera SC 30 pelo programa *AnalySIS getIT*. Os dois acessos apresentaram $2n = 4x = 40$ cromossomos e associações cromossômicas multivalentes. Apesar da ocorrência de cromossomos em ascensão precoce nas metáfases e cromossomos retardatários nas anáfases, a baixa frequência de tétrades de micrósporos anormais sugere que estes acessos formem grãos de pólen normais e possam ser usados como progenitores em programas de hibridação no melhoramento do gênero.

Introdução

O Brasil tem o segundo maior rebanho mundial de bovinos, sendo o maior exportador e o segundo maior produtor de carne bovina, com cerca de 214,9 milhões de cabeças de gado distribuídos por todo o país. Atualmente, a

necessidade de se obter novas variedades de forrageiras mais produtivas tem aumentado de maneira considerável os esforços para identificar gêneros, espécies e ecótipos bem adaptados às condições de diversos ecossistemas. A importância das forrageiras do gênero *Paspalum* na formação de pastagens cultivadas é notória. A variabilidade genética disponível facilita os programas de melhoramento na busca de cultivares mais produtivas e de melhor valor nutritivo. O gênero *Paspalum* pertence à tribo Paniceae, subfamília Panicoideae e família Poaceae. Este gênero possui de 300 a 400 espécies. As espécies do gênero *Paspalum* são quase na sua totalidade de origem sul-americana. Apesar dessa ampla distribuição, a grande maioria das espécies ocorre no Brasil, fazendo parte de diferentes formações vegetais em diferentes condições ecológicas. Existem espécies tipicamente hidrófilas nos rios da Amazônia até espécies xerófitas na região Nordeste e nos cerrados da região centro-oeste. Este gênero se destaca por apresentar boa capacidade de adaptação a acidez do solo, a desfolhação, ao fogo, ao frio e ao alagamento. A poliploidia é predominante neste gênero e já foram identificados acessos com $2n$ até $16n$, com a predominância de acessos $4n$ (Freitas et al., 1997; Adamowski et al., 2005; Pagliarini et al., 2001). Acessos com $2n = 2x = 20$ cromossomos são sexuais e alógamos por autoincompatibilidade e os poliploides são apomíticos e autocompatíveis (Quarin, 1992). Os diploides têm meiose normal, resultando em gametas viáveis, enquanto que nos poliploides, a ocorrência de associações cromossômicas anormais na prófase I e a presença de anormalidades segregacionais levam a formação de gametas aneuploides e consequentemente inviáveis. (Freitas et al., 1997; Adamowski et al., 2000; Pagliarini et al., 2001). Cultivares de *Paspalum* utilizadas como forrageiras foram obtidas de seleção dentro da variabilidade genética natural. As hibridações intra e interespecíficas podem ser usadas como meio para a introgressão de genes e consequente aumento da variabilidade genética deste gênero. Entretanto, as diferenças nos níveis de ploidia e a apomixia, constituem uma barreira à hibridação. Desta forma, as hibridações só são possíveis entre acessos sexuais tetraploides, usados como progenitores femininos, cruzados com acessos apomíticos com mesmo nível de ploidia. Portanto, o propósito do presente estudo foi determinar o número de cromossomos, avaliar as associações cromossômicas e o comportamento meiótico de dois acessos de *Paspalum*, com características agrônomicas desejáveis, previamente selecionados pelos melhoristas da Embrapa Pecuária Sudoeste para serem utilizados nos programas de hibridações.

Materiais e métodos

Foram avaliados citogeneticamente dois acessos do gênero *Paspalum*: BRA 23612 da espécie *P. atratum* e BRA 11177 da espécie *P. glaucences*. Estes acessos fazem parte da coleção de germoplasma, mantida sob condições de campo na Embrapa Pecuária Sudeste, localizada em São Carlos, São Paulo, Brasil. As inflorescências, envolvidas pela folha bandeira, foram coletadas e fixadas em etanol 95%, clorofórmio e ácido propiônico (6:2:2, v/v) durante 24

horas, posteriormente estas foram lavadas e transferidas para álcool 70% e armazenada sob refrigeração até o momento das análises. Os microsporócitos foram preparados pela técnica de esmagamento e corados com carmim propiônico a 1%. Todas as fases da meiose foram avaliadas. A determinação do número de cromossomos e a caracterização das associações cromossômicas foi feita nas diacineses. Foram analisadas vinte células em diacineses. O comportamento meiótico foi analisado da fase da metáfase I até tétrade de micrósporos. Os dados foram expressos em porcentagem de células normais e anormais. As imagens contendo os meiócitos com as anormalidades mais representativas foram capturadas através do microscópio óptico Olympus CX 31, câmera SC 30 pelo programa *AnalySIS getIT*.

Resultados e Discussão

A contagem do número de cromossomos revelou que os dois acessos eram tetraploides com $2n = 4x = 40$ cromossomos. Os estudos citogenéticos feitos em diferentes espécies de *Paspalum* têm demonstrado a prevalência da tetraploidia neste gênero (Adamowski et al., 2000, 2005; Pagliarini et al., 2001). Os acessos apresentaram associações cromossômicas uni, bi, tri e tetravalentes. Em todas as células analisadas houve uma predominância de bivalentes, variando de 15 a 20. Por outro lado, a variação de tetravalentes foi de zero a um. A variabilidade de configurações cromossômicas em *Paspalum* dá indicativos sobre a origem da poliploidia no acesso (Freitas et al., 1997; Pagliarini et al., 2001). A baixa frequência de associações multivalentes pode ser considerada um forte indicativo de alopoliploidia segmental, isto significa que os genomas formadores do poliploide são parcialmente homólogos. De acordo com Quarin 1992, em gramíneas apomíticas, a poliplidia é uma condição para a apomixia e esta é mais associada com a autopoliploidia do que a alopoliploidia. O comportamento meiótico dos acessos foi bastante peculiar. O acesso BRA 23612 apresentou uma baixa porcentagem de cromossomos em ascensão precoce nas metáfases I (1,56%) e uma maior porcentagem cromossomos retardatários nas anáfases I (34,72%). De acordo com Pagliarini et al., 2001 a ocorrência destas irregularidades segregacionais leva a formação de micronúcleos nas telófases I, o que pode acarretar na eliminação de cromossomos do núcleo principal e gerar gametas aneuploides. Entretanto, neste acesso não foram observados micronúcleos nas telófases I e demais fases da meiose II. No acesso BRA 11177, as irregularidades segregacionais em metáfase I (36%) e anáfase I (43,38%) foram moderadas e levaram a ocorrência de uma baixa frequência micronúcleos em telófase I (7,90%). Neste acesso, as anormalidades segregacionais se repetiram durante a segunda divisão meiótica, mas não foram observados micronúcleos na telófase II. Estes comportamentos, sugerem que os cromossomos que apresentaram ascensão precoce ou retardatária na primeira e /ou na segunda meiose foram incluídos no núcleo principal, portanto não houve a formação de micronúcleos. Este fato também foi comprovado pela baixa porcentagem de tétrades de micrósporos anormais: 0,76% no acesso BRA 23612 e 3,5% no acesso BRA 11177. A baixa

frequência de anormalidades meióticas leva a formação de grãos de pólen viáveis (Freitas et al., 1997; Adamowski et al., 2000; 2005; Pagliarini et al., 2001). Acessos com meiose regular podem ser utilizados em hibridações nos programas de melhoramento deste gênero.

Conclusões

Os acessos BRA 23612 BRA 11177 mostraram-se poliploides. A poliploidia pode acarretar em anormalidades meióticas que inviabilizam o grão de pólen. Entretanto, a meiose destas plantas pode ser considerada normal devido a baixa frequência de anormalidades observadas. Por isso, sugere-se que os acessos apresentados possam ser usados como doadores de pólen no programa de melhoramento genético de *Paspalum*.

Referências

- Adamowski, EV; Pagliarini, MS; Batista, LAR. (2000). Chromosome number and microsporogenesis in *Paspalum maritimum* (Caespitosa Group; Gramineae). Brazilian Archives of Biology and technology.43: 301 -305.
- Adamowski, EV; Pagliarini, MS; Mendes-Bonato, AB. (2005). Chromosome number and meiotic behavior in *Paspalum* accessions. Genetics and Molecular Biology.28: 773-780.
- Freitas, PM; Takayama, SY; Pagliarini, MS; Batista, LAR.(1997). Evaluation of meiotic behavior in polyploidy accessions of *Paspalum* (Plicatula Group). The Nucleus.40: 47 –52.
- Pagliarini, MS; Carraro, LR;Freitas, PM; Adamowski, EV; Batista, LAR; Valls, JFM. (2001). Cytogenetic characterization of Brazilian *Paspalum* accessions. Hereditas. 135: 289-294.
- Quarin, CL. (1002). The nature of apomixes and the origin in Panicoid grasses. Apomixis Neslletter.5:7-15.