

DETERMINAÇÃO DO NÍVEL DE PLOIDIA E DO COMPORTAMENTO MEIÓTICO EM HÍBRIDOS INTRAESPECÍFICOS DE *Urochloa humidicola* (RENDLE) MORRONE & ZULOAGA

Maria Fernanda Rodrigues de Tomasi (PIC/UEM), Andréa Beatriz Diverio Mendes (orientadora). E-mail: abdmendes@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.
PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas, Genética/Genética Vegetal

Palavras-chave: *Brachiaria*; micronúcleo; microsporogênese.

RESUMO

A espécie *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga é amplamente utilizada como pastagens em solos mal drenados. Entretanto, a composição das pastagens conta com poucas cultivares e isso fragiliza os campos em função do monocultivo. Portanto, o desenvolvimento de novos materiais, através do melhoramento, buscando por características favoráveis, se faz necessário. Para explorar a variabilidade genética dessa espécie, o programa de melhoramento tem promovido a hibridação entre os diferentes acessos presentes no Banco de Germoplasma dessa espécie. A apomixia e a poliploidia, características dessa espécie, tornam esta estratégia bastante complexa. O presente estudo teve como objetivo auxiliar o programa de melhoramento genético de *Urochloa* realizado pela Embrapa Gado de Corte-MS através da avaliação da determinação do número de cromossomos, das associações cromossômicas e do comportamento meiótico de um híbrido intraespecífico de *U. humidicola*. Para as análises citológicas, os microsporócitos foram preparados pela técnica de esmagamento e corados com carmim propiônico 1%. A análise da microsporogênese revelou que o híbrido é hexaploide, derivado de $x = 6$. Foi observada uma alta porcentagem de anormalidades segregacionais. A presença de cromossomos em ascensão precoce nas metáfases e cromossomos retardatários nas anáfases culminou numa alta frequência de tétrades de micrósporos com micronúcleos. A presença de micronúcleos nos micrósporos leva a formação de gametas desbalanceados o que inviabiliza a formação de sementes.

INTRODUÇÃO

O gênero *Urochloa* P. Beauv. [syn. *Brachiaria* (Trin.) Griseb.] é encontrado em regiões tropicais e subtropicais, principalmente no leste africano que é considerado o centro de origem das espécies desse gênero. No território brasileiro, estima-se que dos 158 milhões de hectares de pastagens cultivadas, 90% são representadas por capins do gênero *Urochloa*. Dentre as várias espécies utilizadas como forrageira, a

espécie *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga [syn. *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick.] representa uma excelente opção para ser utilizada como pastagens em solos mal drenados como os do Pantanal Brasileiro.

As espécies do gênero *Urochloa* de alto valor agrônômico são geralmente apomíticas e poliploides. O modo de reprodução está associado com os diferentes níveis de ploidia, que variam entre e dentro das espécies. A poliploidia, por sua vez, está frequentemente correlacionada com a alta frequência de anormalidades meióticas (Pagliarini et al., 2008). Há uma predominância de tetraploides nas espécies de *Urochloa*. Entretanto, ao contrário das demais espécies deste gênero, a hexaploidia é prevalescente em *U. humidicola* com número básico de cromossomos $x = 6$ (Boldrini et al., 2011).

Na espécie *U. humidicola*, o único acesso sexual, identificado entre o germoplasma existente, possibilitou a hibridação intraespecífica e, com isso, a exploração da variabilidade existente nos acessos apomíticos. Dessa forma, populações oriundas do cruzamento de *U. humidicola* cv. Tupi com outros genótipos dessa espécie estão sendo avaliadas para desenvolvimento de novas cultivares. Essa estratégia permitiu um avanço no programa de melhoramento e possivelmente permitirá a união das características desejáveis dos genótipos elite.

Estudos citogenéticos de acessos de diferentes espécies e híbridos de *Urochloa* tem mostrado a importância dessa ferramenta para a seleção de progenitores e de híbridos com potencial para a formação de novas cultivares. Considerando a presença de poliploidia e o modo de reprodução, os híbridos formados devem apresentar baixos índices de anormalidades meióticas, garantindo, assim, uma boa produção de sementes. Desta forma, o objetivo do presente projeto foi avaliar a microsporogênese determinando o número de cromossomos, as associações cromossômicas e o comportamento meiótico de um híbrido intraespecífico de *U. humidicola* pertencente ao Banco de Germoplasma de *Urochloa* da Embrapa gado de Corte – MS.

MATERIAL E MÉTODOS

Foi avaliado citogeneticamente um híbrido intraespecífico de *U. humidicola*. Este híbrido faz parte da coleção de germoplasma da Embrapa Gado de Corte, situada em Campo Grande – MS, onde é mantido em campo.

As inflorescências para avaliação da microsporogênese foram coletadas ainda envolvidas pela folha bandeira. Após a retirada da folha bandeira, foram fixadas em etanol, clorofórmio e ácido propiônico, nas proporções 6:3:2, por 24 horas. Passado esse período, o material foi lavado e transferido para álcool a 70% e acondicionado sob refrigeração até o momento da preparação das lâminas. Para as análises meióticas, os meiócitos foram preparados pela técnica de esmagamento e corados com carmim propiônico 1%. Para determinar o número de cromossomos, foram analisadas células na fase de diacinese. As imagens contendo os meiócitos com as anormalidades mais representativas foram capturadas através do microscópio Olympus CX 31, câmera SC 30 pelo programa *AnalySIS getIT*.

RESULTADO E DISCUSSÃO

O conhecimento do número total de cromossomos, do nível de ploidia e do número básico de cromossomos é extremamente importante para a caracterização genética de híbridos intraespecíficos do gênero *Urochloa* (Boldrini et al., 2011). A análise citológica revelou que o híbrido é hexaploide apresentando $2n = 6x = 36$ cromossomos, derivado de $x = 6$. No caso dos híbridos, o reconhecimento de cada par cromossômico, ou seja, as associações cromossômicas formadas, é indispensável para o sucesso do programa de melhoramento (Pagliarini et al., 2008). No presente estudo, foram observadas, predominantemente, associações bivalentes e uma baixa frequência de multivalentes.

A análise citológica do híbrido revelou a presença de anormalidades meióticas segregacionais. As irregularidades segregacionais observadas no híbrido analisado são comuns em acessos poliploides naturais de diferentes espécies do gênero *Urochloa*, em cultivares comerciais, como a *U. decumbens* cv Basilisk, em acessos de *U. brizantha* e *U. ruziziensis* tetraploides duplicados artificialmente, e em híbridos intra e interespecíficos apomíticos e sexuais.

A porcentagem total de anormalidades encontradas variou de 54,83% nas telófases II a 92,85% nas anáfases II. Teoricamente, os híbridos intraespecíficos deveriam apresentar baixas taxas de anormalidades meióticas, uma vez que eles compartilham o mesmo genoma. Entretanto, como a poliploidia afeta o processo meiótico, altas frequências de anormalidades meióticas são observadas na análise de híbridos intraespecíficos de *U. humidicola* (Sales et al., 2021).

Nas metáfases I e II foram encontrados cromossomos em ascensão precoce para os polos da célula e nas anáfases I e II foram observados cromossomos retardatários. De acordo com Sales (2022) cromossomos em ascensão precoce são cromossomos que migram antecipadamente para os polos da célula em relação ao conjunto cromossômico principal e os cromossomos retardatários são aqueles que permanecem por mais tempo na placa metafásica, enquanto o restante do conjunto cromossômico já está sendo tracionado em direção aos polos.

Os cromossomos em ascensão precoce ou retardatária resultam na formação de micronúcleos nas fases de prófase II, telófases I e II, assim como nas tétrades. Micronúcleos são formados por um ou poucos cromossomos que ficam isolados do núcleo principal. Em prófase II, os micronúcleos podem ou não ser incluídos no núcleo principal. Quando são incluídos, voltam ao núcleo principal, restaurando a normalidade do processo. Quando não incluídos no núcleo principal, eles vão persistir como micronúcleos durante a segunda divisão meiótica.

Os micronúcleos formados ao final da telófase II podem permanecer nas tétrades como micronúcleos nos micrósporos. Dependendo da quantidade e da sua posição no citosol podem ser formadas tétrades com micronúcleos em um, dois, três ou nos quatro micrósporos (Ragalzi et al., 2021; Sales et al., 2021). A formação de micronúcleos leva a eliminação de cromossomos do núcleo principal levando a formação de gametas aneuploides. O desbalanço gênico dos gametas aneuploides compromete a viabilidade do pólen e a produção de sementes.

CONCLUSÃO

O híbrido analisado é hexaploide, derivado de $x = 6$, e apresenta alta frequência de anormalidades segregacionais, o que inviabiliza a utilização do híbrido no programa de melhoramento devido a sua alta instabilidade meiótica.

AGRADECIMENTOS

À Embrapa Gado de Corte-MS e a UNIPASTO (Associação para o Fomento à Pesquisa de Melhoramento de Forrageiras Tropicais).

REFERÊNCIAS

BOLDRINI, K. R.; ADAMOWSKI, E. V.; MESSAGE, H.; CALISTO, V.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Meiotic behavior as a selection tool in the breeding of *Brachiaria humidicola* (Poaceae). **Euphytica**. v. 182, p.317-324, 2011.

PAGLIARINI, M. S.; RISSO- PASCOTTO, C.; SOUZA-KANESHIMA, A. M.; VALLE, C. B. Analysis of meiotic behavior in potential genitors among diploid and artificially induced tetraploid accessions of *Brachiaria ruziziensis* (Poaceae). **Euphytica**. v. 164, p.181-187, 2008.

RAGALZI, C. M.; MENDES, A. B. D.; SIMEÃO, R. M.; VERZIGNASSI, J. R.; VALLE, C. B.; MACHADO, M. F. S. P. Microsporogenesis associated with yield in *Uroclhoa* sexual polyploid hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 21. P. e37652148, 2021.

SALES, G. L. M. **Microsporogênese, viabilidade e produção de sementes puras em *Uroclhoa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloag**. 2022. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Maringá, Paraná, 2022.

SALES, G. L. M.; VIDAL, I. J. A.; RAGALZI, C. M.; VOLPATO, N. S.; SILVA, J. L.; VALLE, C. B.; MENDES, A. B. D. Microsporogênese em híbridos intraespecíficos sexuais de *U. Humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga [Syn. *Brachiaria Humidicola* (Rendle) Schweick. **Brazilian Journal of Development**. v.7, p. 37565-37575. 2021.