

NÚMERO DE CROMOSSOMOS, ASSOCIAÇÃO CROMOSSÔMICA E SEGREGAÇÃO MEIÓTICA EM ACESSOS DE *Urochloa brizantha* (HOCHST. EX. A. RICH.) R. D. WEBSTER [syn. *Brachiaria brizantha* (A. RICH.) STAPF] (POACEAE)

Bibiana Henkel Estivalet (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Andréa Beatriz Diverio Mendes (Orientador). E-mail: abdmendes@uem.br.

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

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

Palavras-chave: Citogenética; Viabilidade de pólen; Microsporogênese.

RESUMO

O gênero *Urochloa* reúne espécies importantes para a pecuária tropical, mas apresenta limitações para o melhoramento genético devido à poliploidia e à reprodução apomítica, fatores que contribuem para irregularidades meióticas e baixa formação de gametas viáveis. Neste trabalho, foram avaliados os acessos B55 e B176 de *Urochloa brizantha*, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Gado de Corte, com o objetivo de investigar a microsporogênese e identificar a ocorrência de anormalidades durante a meiose. Inflorescências coletadas foram submetidas à fixação, preparo de lâminas e observação em microscopia óptica, possibilitando a análise desde a diacinese até a formação das tétrades. Os acessos mostraram-se tetraploides com a presença de bivalentes e multivalentes. Os resultados revelaram elevada frequência de irregularidades em ambos os acessos, como ascensão precoce de cromossomos, cromossomos retardatários, formação de micronúcleos nas tétrades de micrósporos, tétrades com micrócitos e políades. A ocorrência de assincronia nas fases da meiose II pode ter levado a formação de tríades e díades. A presença dessas anormalidades meióticas evidencia a instabilidade cromossômica desses acessos e sugere que essas anormalidades podem comprometer a viabilidade polínica e a produção de sementes, constituindo uma barreira para programas de melhoramento genético da espécie.

INTRODUÇÃO

O gênero *Urochloa* [syn. *Brachiaria*] reúne aproximadamente 135 espécies e possui grande relevância na produção de forragem em regiões tropicais. No Brasil, essas gramíneas são amplamente utilizadas na formação de pastagens, constituindo a base da pecuária de corte e leite e contribuindo para a consolidação do país como um dos maiores produtores e exportadores de carne bovina do mundo (Ferraz & Felício, 2010).

O melhoramento genético em *U. brizantha* é limitado por sua condição poliplóide e pelo modo reprodutivo predominantemente apomítico, fatores que restringem o acesso à variabilidade genética necessária para liberar heterozigosidade e gerar novas combinações genômicas (Valle et al., 2009). A poliploidia está associada a irregularidades na meiose, comprometendo a formação de grãos de pólen viáveis e a produção de sementes (Boldrini et al., 2011). Assim, o presente trabalho teve como objetivo investigar o processo de microsporogênese em dois acessos de *Urochloa brizantha* (B55 e B176) pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Gado de Corte (MS), a fim de avaliar sua estabilidade meiótica e potencial reprodutivo no contexto dos programas de melhoramento genético.

MATERIAIS E MÉTODOS

Dois acessos de *Urochloa brizantha* (B55 e B176) pertencentes à Coleção de Germoplasma da Embrapa Gado de Corte (Campo Grande, MS) foram selecionados para análise citogenética. As inflorescências foram coletadas envoltas pela folha bandeira e fixadas por 24 horas em solução de etanol, clorofórmio e ácido propiônico (6:3:2). Após, foram lavadas e acondicionadas em álcool 70%, sob refrigeração.

As lâminas das três maiores anteras foram preparadas utilizando a técnica de esmagamento e coradas com carmim propiônico 1%. As lâminas, vedadas com esmalte incolor, foram refrigeradas por até sete dias para manter a coloração e a integridade celular. Analisou-se a meiose mediante observações em microscopia óptica, desde a diacinese até a formação das tétrades de micrósporos. As células foram classificadas conforme a anormalidade dos eventos meióticos e a frequência de anormalidades foi quantificada e expressa em porcentagem.

As imagens dos meiócitos foram obtidas com auxílio do microscópio Olympus CX31, com a câmera SC30, utilizando o software *AnalySIS getIT* para captura.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise citogenética das diacineses dos dois acessos de *Urochloa brizantha* demonstrou que estes acessos são tetraploides ($2n = 4x = 36$), derivados de $x=9$. O número básico de cromossomos $X=9$ é o prevalescente nas espécies de *Urochloa* (Boldrini et al., 2011). Em ambos os acessos foi verificado a presença de associações cromossômicas bivalentes e multivalentes.

O acesso B55 revelou uma alta ocorrência de irregularidades na segregação cromossômica. Durante a metáfase I, 76,80% das células ascensão precoce de cromossomos. Na anáfase I, 87,96% das células analisadas apresentaram cromossomos retardatários. Essas irregularidades levaram a presença de micronúcleo em 64,75% das telófases I.

Esse comportamento se manteve na prófase II, em que 62,24% das células foram classificadas como anormais, todas com presença de micronúcleos. Tal instabilidade continuou na metáfase II, com 83,33% de células com ascensão precoce de cromossomos. Na anáfase II, todas as células observadas foram

anormais (100%), com presença de cromossomos retardatários. Por fim, a telófase II apresentou 80,00% das células anormais com micronúcleos. As tétrades de micrósporos desse acesso mostraram elevada frequência de anormalidades (97,04%). Em 38,93% das tétrades os quatro micrósporos foram afetados, 29,01% em três, 15,27% em dois e 9,16% em um. A formação de micronúcleos nos micrósporos da tétrade promove a eliminação de cromossomos do núcleo principal, resultando em gametas aneuploides (Sales et al., 2021).

No acesso B55, também foram registradas tríades (6,87%). Essa anormalidade pode estar relacionada a presença de assincronias de fase II. A frequência total de assincronias observadas foi de 2,74%. A assincronia de fase mais recorrente foi entre metáfase II e anáfase II (2,08%).

Além das irregularidades segregacionais e das assincronias de fase II, este acesso apresentou aderência cromossômica com frequência de 21,91%. Sua ocorrência pode estar ligada a dificuldades na separação dos cromossomos homólogos e cromátides irmãs. Todavia, assim como para as assincronias, será necessário um aprofundamento nas análises para avaliar melhor seus impactos.

A avaliação do acesso B176 de *Urochloa brizantha*, também, apresentou alta frequência de irregularidades nas fases da meiose. Na metáfase I, observou-se 50% de ascensão precoce de cromossomos. Na anáfase I, 78,26% dos meiócitos anormais apresentaram cromossomos retardatários e, em 21,74% os cromossomos retardatários permaneciam na placa metafásica. A permanência desses cromossomos na placa metafásica durante a anáfase I sugere a migração retardatária de um complemento genômico. Na telófase I, 88,71% das células anormais mostraram formação de micronúcleos. Nos meiócitos anormais restantes (11,29%), os cromossomos mostraram migração retardatária. Segundo Sales (2022), a presença de cromossomos em ascensão precoce e de cromossomos retardatários pode estar relacionada a falhas na constituição e na terminalização dos quiasmas.

A prófase II apresentou 56,07% de células anômalas, com micronúcleos. Na metáfase II, a frequência de células anormais foi de 70,19%, predominando a ascensão precoce de cromossomos (87,67%). Nesta fase, foi observado uma das placas invertida em 12,33% dos meiócitos. Na anáfase II, 79,73% das células anormais continham cromossomos retardatários, 18,92% cromossomos retardatários na placa, e 1,35% micrócitos. A telófase II, por sua vez, apresentou 81,48% das células anormais. Destas, 54,55% com micronúcleos e 45,45% com cromossomos retardatários. Entre as tétrades de micrósporos a frequência de irregularidades observada foi: 11,11% das tétrades apresentaram micronúcleos em quatro micrósporos, 19,75% em três, 28,40% em dois e 32,10% em apenas um. Também, houve a formação de díades (1,23%) e tríades (4,94%) e a formação de micrócitos (2,47%). Conforme Baldissera et al (2020), a presença de micronúcleos em micrósporos é considerada menos danosa do que a formação de micrócitos, pois a formação de micrócitos implica na partição desigual do genoma.

Por fim, nesse acesso, também foi registrada a presença de assincronia de fases na meiose. A assincronia prevalente foi entre metáfase II e anáfase II, com uma frequência de 6,61% das células, incluindo um caso associado à formação de micrócitos.

CONCLUSÕES

As irregularidades meióticas identificadas nestes acessos de *Urochloa brizantha* indicam uma tendência à instabilidade da segregação cromossômica, o que pode inviabilizar a utilização desses acessos no programa de melhoramento do gênero *Urochloa*.

AGRADECIMENTOS

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

REFERÊNCIAS

BALDISSERA, J.N.C; MENDES, A.B.D; COAN, M.M.D; APARECIDA C; VALLE, C.B; PAGLIARINI, M.S. (2020). Selection based on meiotic behavior in *Urochloa decumbens* hybrids from non-shattered seed. **Tropical Grasslands - Forrajes Tropicales**, v. 8, p. 133-140.

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**, v. 10, n. 1, p. 169-176, 2011.

FERRAZ, J.B.S.; FELÍCIO, P.E.D. Production systems – An example from Brazil. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

SALES, G. L. M. **Microsporogênese, viabilidade e produção de sementes puras em *Urochloa 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.

VALLE, C.B.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, p. 460-472, 2009.