DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE CROMOSSOMOS E DO COMPORTAMENTO MEIÓTICO DE ACESSOS DE *Urochloa brizantha* (HOCHST. EX. A. RICH.) R. D. WEBSTER [SYN. *Brachiaria brizantha* (A. RICH.) STAPF] PARA SELEÇÃO DE PROGENITORES MASCULINOS PARA PROGRAMA DE MELHORAMENTO GENÉTICO DE *Urochloa* P. BEAUV. [SYN. Brachiaria (TRIN.) GRISEB.]

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.

Ciências Biológicas, Genética /Genética Vegetal.

Palavras-chave: Apomixia; Poliploidia; Viabilidade.

RESUMO

A braquiária é uma das principais forrageiras cultivadas por produtores de gado no Brasil, no entanto apomixia e a poliploidia são características reprodutivas do gênero *Urochloa* que influenciam a produção de sementes. O presente trabalho objetivou a caracterização citogenética de um acesso de *Urochloa brizantha* (B149), do Banco de Germoplasma da Embrapa Gado de Corte (Campo Grande- MS). Foi feita a análise da microsporogênese para subsidiar o programa de melhoramento genético do gênero. As inflorescências foram fixadas e as lâminas preparadas por esmagamento. Os resultados mostraram irregularidades meióticas, com destaque para segregação anormal de cromossomos, relacionadas a falhas na terminalização dos quiasmas e à possível origem híbrida do acesso. Também foram observados micronúcleos, micrócitos, assincronia de fase em meiose II, formação de tríades e aderência cromossômica. Todas essas anormalidades no procedimento meiótico comprometeram os produtos finais da meiose e, possivelmente, a viabilidade do pólen. Desta forma, o acesso B149 apresenta instabilidade meiótica, o que pode inviabilizar seu uso como progenitor masculino em programas de melhoramento do gênero *Urochloa*.

INTRODUÇÃO

A pecuária de corte nacional caracteriza-se pelo sistema de produção extensivo, em que a exploração de pastagens é a principal fonte de alimentação do rebanho bovino. Isso conferiu ao Brasil uma posição de destaque no cenário mundial da produção de carne bovina, devido ao baixo custo de produção associado ao uso de forrageiras tropicais. As gramíneas do gênero *Urochloa* são importantes, pois ocupam a maior parte da área de pastagens cultivadas no país. A ampla adaptabilidade dessas forrageiras a solos de baixa fertilidade, comuns em grande parte do território nacional, aliada à sua capacidade de produção de forragem

mesmo sob condições adversas, consolidou a braquiária como uma das principais forrageiras cultivadas no país.

A apomixia e a poliploidia são características importantes na reprodução do gênero e para a comercialização de sementes. A apomixia é uma forma de reprodução assexuada, na qual o embrião se desenvolve sem que ocorra fecundação, originando clones como descendentes, mesmo por sementes. A poliploidia refere-se à presença de mais de dois conjuntos completos de cromossomos em uma mesma célula.

A reprodução pela via apomítica pode ser vantajosa dada a fixação do vigor híbrido, pois há formação de clones com propagação de sementes que podem ser comercializadas e, também, não ocorre contaminação por cruzamento com outras plantas. Mas, esse modo de reprodução está associado com a poliploidia, anormalidades na meiose, reduzindo a fertilidade do pólen e, consequentemente, baixa formação de sementes viáveis. Nesse gênero, as plantas diploides se reproduzem de forma sexuada e aquelas com maior nível de ploidia estão associadas a apomixia (Valle e Savidan, 1996).

Apesar da relevância econômica do gênero, o número de cultivares comerciais disponíveis ainda é reduzido, restringindo-se, em sua maioria, às espécies *U. decumbens*, *U. brizantha*, *U. ruziziensis* e *U. humidicola*. Logo, há uma evidente limitação de diversidade disponível no mercado atual. Diante desse cenário, estudos citogenéticos tornam-se fundamentais para compreender o comportamento cromossômico desses materiais, contribuindo para seleções mais eficientes de progenitores masculinos dentro do programa de melhoramento, a fim de desenvolver novas cultivares. Logo, o presente trabalho objetivou a caracterização de um acesso de *Urochloa brizantha*, visando subsidiar avanços no melhoramento genético da espécie ao analisar anormalidades meióticas e formação de grãos de pólen viáveis.

MATERIAIS E MÉTODOS

O acesso B149 de *Urochloa brizantha*, pertencente ao Banco de Germoplasma da Embrapa Gado de Corte (Campo Grande, MS), foi selecionado para análise e caracterização citogenética. As inflorescências coletadas, envoltas pela folha bandeira, foram fixadas por 24 horas em solução de etanol, clorofórmio e ácido propiônico (6:3:2). Após, lavadas e acondicionadas em álcool 70%, sob refrigeração.

As lâminas das anteras hermafroditas foram preparadas utilizando a técnica de esmagamento e coradas com carmim propiônico 1%. Em seguida, vedadas com esmalte incolor e refrigeradas por até sete dias para manter a coloração e a integridade celular.

Analisou-se a meiose a partir de observações em microscopia óptica, desde a metáfase I até a formação das tétrades de micrósporos. As células foram analisadas 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

No acesso B149, observou-se a segregação irregular dos cromossomos, tanto na fase I quanto na fase II. Em metáfase I, 35,06% das células eram anormais, com cromossomos migrando precocemente para os polos. Em anáfase I e telófase I, 100% e 47,73%, respectivamente, das células anormais eram de cromossomos retardatários, isto é, atrasados na segregação meiótica. Essa sequência de anormalidades das primeiras fases da meiose I formaram micronúcleos em telófase I (8,33% das células anormais). Provavelmente, esses micronúcleos progrediram para prófase II, pois foram observadas 58,50% dos meiócitos com micronúcleos.

Ao longo da fase II, pode-se observar a repetição das anormalidades registradas para fase I. Em metáfase II, das 23,08% células anormais, 36,67% também eram de cromossomos precoces e 56,67% com micronúcleos. Estes, provavelmente, relacionados aos micronúcleos que começaram em telófase I, continuaram em prófase II e permanecem nesta fase. Em anáfase II também foram contadas 100% das células com cromossomos retardatários. Em telófase II 27,50% das células continham cromossomos retardatários e 57,50% micronúcleos.

As anormalidades meióticas encontradas nas fases I e II, de acordo com Sales (2022), podem resultar de falhas na constituição ou terminalização dos quiasmas, comprometendo a ancoragem dos cromossomos ao fuso e levando à segregação irregular, isto é, precoce ou retardatária. Somado a isso, a permanência de cromossomos na placa metafásica e sua migração tardia têm sido associadas à origem híbrida natural de acessos de *Urochloa*, decorrente da presença de genomas homeólogos, como descrito para *U. brizantha*, que apresenta constituição BBB□B□ (Paula et al., 2017). Essas anormalidades levaram a formação de micronúcleos nas tétrades de micrósporos, sendo que 6,12% das células apresentaram micronúcleos em três micrósporos, 14,29% micronúcleos em dois micrósporos e 53,06% em um micrósporo. A presença de micronúcleos nos micrósporos da tétrade pode indicar a formação de gametas aneuploides, dada a exclusão de cromossomos que não foram incorporados aos núcleos principais (Ragalzi et al., 2021).

Os micronúcleos ao final da telófase I sofreram um processo de citocinese anormal, formando um micrócito, o que levou a eliminação desses micronúcleos. Em telófase I, foram analisadas 43,94% das células anormais com formação de micrócitos, 41,50% em prófase II, 6,67% em metáfase II. O mesmo procedimento foi observado ao final da segunda fase da meiose, onde 15,00% das células em telófase II e 16,33% das tétrades de micrósporos apresentavam micrócitos. A formação de micrócitos parte de forma desigual o genoma e produzem produtos finais da meiose com conjuntos cromossômicos incompletos (Baldissera et al., 2020).

Também foram visualizadas células com assincronia do ritmo meiótico na fase II. Houve uma frequência total de 2,18% de assincronia. Deste total, em 0,58% a assincronia era prófase II e metáfase II, 1,16% metáfase II e anáfase II, 3,33%

anáfase II e telófase II e 0,36% metáfase II e telófase II. Esse tipo de anormalidade pode estar relacionado a formação de tríades. Foi observado 8,16% de tríades entre os produtos finais da meiose.

Por fim, constatou-se a ocorrência de aderência cromossômica, a qual pode ocorrer devido a fatores ambientais ou genéticos (Mendes-Bonato et al., 2001). Esta anormalidade pode refletir dificuldades no afastamento de cromossomos homólogos ou de cromátides irmãs. A aderência cromossômica foi identificada em 4,80% do conjunto celular analisado.

CONCLUSÕES

As irregularidades meióticas identificadas neste acesso de *Urochloa brizantha*, indicam uma tendência à instabilidade da segregação cromossômica, portanto, há a possibilidade de inviabilizar a utilização desse acesso como progenitor masculino no programa de melhoramento do gênero *Urochloa*.

AGRADECIMENTOS

À Fundação Araucária, à Embrapa Gado de Corte 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.

MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B.; PENTEADO, M. I. O. A severe case of chromosome stickiness in pollen mother cells of Brachiaria brizantha (Hochst.) Stapf (Gramineae). **Cytologia**, v. 66, p. 287-291, 2001.

PAULA, C. M. P.; SOUZA SOBRINHO, F.; TECHIO, V. H. Genomic constitution and relationship in Urochloa (Poaceae) species and hybrids. **Crop Science**, v. 57, p. 2605–2616, 2017.

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 Urochloa 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 Urochloa humidicola (Rendle) Morrone & Zuloag. 2022**. Dissertação

(Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Estadual de Maringá, Paraná, 2022.

VALLE, C. B.; SAVIDAN, Y. H. Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of Brachiaria. In: MILES, J. W. et al. Brachiaria: Biology, agronomy, and improvement. **Cali**: CIAT, 1996. P. 147-163.