

Avaliação da microsporogênese em híbridos sexuais de *Brachiaria* (Poaceae)

Maria Suely Pagliarini¹, Veridiana Aparecida Fuzinato² e Cacilda Borges do Valle³

Introdução

O gênero *Brachiaria* cobre cerca de 70 milhões de hectares das pastagens nacionais. Em sua grande maioria, *Brachiaria decumbens* cv Basilisk e *Brachiaria brizantha* cv Marandu são as mais utilizadas pelos pecuaristas. Este gênero contribuiu para que o Brasil passasse a ser o segundo maior produtor e o maior exportador de carne do mundo.

No gênero *Brachiaria*, a maioria das espécies é poliplóide, principalmente tetraplóide, e apomítica. Tal fato dificulta a formação de híbridos e a introgressão de características desejáveis entre eles [1]. A formação de híbridos só tem sido possível através do cruzamento de plantas sexuais tetraploidizadas artificialmente como genitores femininos com plantas tetraplóides apomíticas como doadoras de pólen. Hibridizações artificiais desenvolvidas pela Embrapa Gado de Corte em 1988 levaram a cabo cruzamentos de tetraplóides artificiais de *B. ruziziensis* com tetraplóides naturais de *B. decumbens* e *B. brizantha*. Poliplóides, em geral, apresentam alta frequência de irregularidades meióticas que comprometem a viabilidade do pólen e, por conseguinte, a formação de sementes. O presente estudo teve como objetivo auxiliar o programa de melhoramento genético de *Brachiaria* realizado pela Embrapa Gado de Corte através da análise citogenética de três híbridos sexuais entre *B. ruziziensis* x *B. brizantha* e *B. ruziziensis* x *B. decumbens* a fim de identificar aqueles meioticamente mais estáveis e que possam produzir sementes viáveis para a seleção de variabilidade genética.

Material e métodos

Foram analisados três híbridos sexuais do gênero *Brachiaria* ($2n = 4x = 36$), denominados BS13, BS17 e BS18, sintetizados em 1988 pela Embrapa Gado de Corte, situada em Campo Grande, MS.

Inflorescências jovens foram colhidas e fixadas em 6 partes de etanol : 3 partes clorofórmio: 2 partes de ácido propiônico por 24 horas. A seguir o material foi transferido para álcool 70% e acondicionado sob refrigeração até o momento de se iniciar as análises meióticas. Os microsporócitos foram preparados pela

técnica de esmagamento e corados com carmim propiônico a 0,5%.

Resultados

A análise de células em diacinese revelou pareamento cromossômico multivalente. O número de quadrivalentes variou de 1 a 4, sendo mais frequentes os primeiros. A análise citogenética da microsporogênese revelou a ocorrência de anormalidades meióticas comuns a todos os híbridos. As anormalidades meióticas mais frequentes foram aquelas relacionadas à segregação irregular de cromossomos em decorrência da poliploidia, como ascensão precoce de cromossomos para os pólos nas metáfases, cromossomos retardatários nas anáfases, levando à formação de micronúcleos nas telófases e tétrade. Outras anormalidades, como aderência cromossômica, citocinese irregular, ausência de citocinese, fusos múltiplos e multipolares, desorganização anormal do nucléolo também foram observadas nos híbridos, enquanto degeneração cromossômica ocorreu apenas em um deles. A quantidade de anormalidades também variou entre os híbridos. A quantidade de anormalidades meióticas não diferiu drasticamente entre os híbridos (BS13 = 53,3%; BS17 = 50,9%; BS18 = 46,6%)

Discussão

Dentre as anormalidades encontradas durante as análises citológicas, destacaram-se aquelas relacionadas à segregação irregular de cromossomos tanto na primeira quanto na segunda divisão, caracterizadas pela ascensão precoce de cromossomos para os pólos em metáfases, ocorrência de cromossomos retardatários em anáfases, levando à formação de micronúcleos em telófases. Segregação irregular de cromossomos é uma anormalidade típica de poliplóides [2] e compromete a viabilidade gamética. A ocorrência de associações cromossômicas em prófase I, devido à presença de vários genomas dentro de um mesmo núcleo, predispõe o indivíduo à segregação irregular de cromossomos. Segregação irregular de cromossomos em ambas as divisões meióticas têm sido

1. Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá PR, Brasil. E-mail: mspagliarini@uem.br

2. Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá, 87020-900 Maringá PR, Brasil. E-mail: diana.fuzinato@ig.com.br

3. Embrapa Gado de Corte. 79002-970, Campo Grande MS, Brasil. E-mail: cacilda@cnpqc.embrapa.br

Apoio financeiro: Unipasto.

amplamente descritas em diferentes acessos e espécies de *Brachiaria* [3, 4, 5].

Fusos múltiplos e multipolares, levando à formação de várias placas metafásicas na meiose II, foram observados nos híbridos analisados. Espécies poliplóides exibem mais chances de apresentar fusos múltiplos. Plantas com meiose irregular devido à poliploidia ou hibridização parecem ser especialmente suscetíveis a divisões multipolares. A citocinese pode falhar em sua ocorrência após a primeira e/ou segunda divisão meiótica. Quando ocorre ausência de ambas as citocineses, o produto final da meiose é uma mônade que dará origem a um micrósporo tetranucleado, como observado no híbrido BS13. A ausência de uma das citocineses leva a formação de díades, que originarão micrósporos binucleados ou com núcleo de restituição (2n). Ausência de uma ou de ambas as citocineses foi encontrada em algumas células no híbrido BS18, levando à formação de díades binucleadas, tríades e mônades.

A aderência cromossômica é caracterizada pelo intenso agrupamento de cromossomos durante alguma fase do ciclo celular. A manifestação fenotípica da aderência cromossômica é altamente variável, podendo envolver poucos cromossomos ou até mesmo o genoma todo. Aderências cromossômicas têm sido descritas em vários acessos de *Brachiaria* [5, 4 e híbridos interespecíficos [7]. Nos híbridos em análise, a aderência variou de leve a severa. A análise citogenética da microsporogênese dos híbridos interespecíficos em estudo revelou um comportamento anormal no ciclo nucleolar. Esta anormalidade foi detectada em maior frequência no híbrido BS13.

A transferência de genes entre espécies do mesmo gênero teve um papel fundamental no progresso do melhoramento de plantas. O conhecimento da afinidade genômica permite prever a introgressão gênica em programas de melhoramento. A transferência de genes é facilitada por recombinação homóloga ou homeóloga na meiose. Assim, a análise do pareamento cromossômico na prófase I permite estimar a frequência de recombinação que irá ocorrer no híbrido [8]. Nos híbridos tetraplóides ($2n = 4x = 36$) em análise, o pareamento cromossômico na diacinese ocorreu predominantemente na forma de bivalentes. Um número variável de 1 a 4 quadrivalentes foi observado por célula, havendo uma predominância de um quadrivalente. Este resultado revela que há possibilidade de transferência de genes de *B. ruziziensis* para *B. decumbens* e *B. brizantha*. Resultados semelhantes foram descritos na análise de dois híbridos interespecíficos entre *B. ruziziensis* e *B. brizantha* por [7].

Para a utilização de um híbrido como cultivar não basta assegurar a introdução de genes de interesse. Híbridos de *Brachiaria* têm sido almejados não apenas pelo seu potencial como bons produtores de matéria verde para a alimentação do animal a pasto, mas também como produtor de sementes para comercialização. Assim, uma meiose regular que garanta

a formação de gametas viáveis é indispensável para o perfeito desenvolvimento do endosperma da semente, uma vez que a apomixia no gênero *Brachiaria* é do tipo pseudogâmica.

Comparativamente, os híbridos em análise demonstram maior chance de serem selecionados no programa de melhoramento que aqueles estudados por [7, 9] pois apresentam menor quantidade de anormalidades meióticas. Todavia, uma boa produção de sementes e caracteres agronômicos de interesse não são os únicos requisitos para se transformar um híbrido em cultivar. Reprodução por apomixia tem sido considerada outro requisito importante para a seleção de um híbrido em cultivar, pois se almeja a obtenção de uma cultivar que fixe o genótipo heterozigoto através de gerações para evitar a segregação gênica característica de indivíduos de reprodução sexuada. Considerando-se que os híbridos BS13, BS17 e BS18 são sexuais, e assim não serão alvos de seleção para cultivares, os mesmos, pela razoável estabilidade meiótica que apresentam, devem continuar no bloco de policruzamentos na Embrapa Gados de Corte, fornecendo sementes segregantes para a seleção de novos híbridos apomíticos para a formação de futuras cultivares.

Agradecimentos

Os autores agradecem a UNIPASTO pelo apoio financeiro para a realização desta pesquisa.

Referências

- [1] VALLE, C. B. do; SAVIDAN, Y. H. 1996. Genetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. In: MILES, J. W.; MASS, B. L.; VALLE, c. b. do. (Eds.). *Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement*. Colombia: CIAT. p.147-163.
- [2] SINGH, R. J. *Plant Cytogenetics*. CRC Press, Boca Raton. 1993.
- [3] MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. do; PENTEADO, M. I. O. 2002. Chromosome number and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). *Euphytica*, 125: 419-425.
- [4] MENDES-BONATO, A. B.; RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. do. 2006. Chromosome number and meiotic behaviour in *Brachiaria jubata* (Gramineae). *J. Genet.*, 85: 83-87.
- [5] UTSUNOMYIA, S. K.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. do. 2005. Microsporogenesis in tetraploid accessions of *Brachiaria nigropedata* (Ficalho & Hiern) Stapf (Gramineae). *Biocell*, 29: 295-301.
- [6] MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. do; PENTEADO, M. I. O. 2001. A severe case of chromosome stickiness in pollen mother cells of *Brachiaria brizantha* (Hochst.) Stapf (Gramineae). *Cytologia*, 66: 287-291.
- [7] RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. do. 2005a. Meiotic behavior in interspecific hybrids between *Brachiaria ruziziensis* and *Brachiaria brizantha* (Poaceae). *Euphytica*, 145: 155-159.
- [8] KING, I. P.; MORGAN, W. G.; HARPER, J. A.; THOMAS, H. M. 1998. Introgression mapping in the grasses. II. Meiotic analysis of the *Lolium perenne*/*Festuca pratensis* triploid hybrid. *Heredity*, 82: 107-112.

- [9] RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. do. 2005b. Multiple spindle and cellularization during microsporogenesis in an artificially induced tetraploid accession of *Brachiaria ruziziensis* (Gramineae). Plant Cell Rep., 23: 522-527.

