

ESTRUTURA E VOLUME NUCLEAR DE *Pennisetum* spp.

Cristiane Gouvêa Fajardo¹, Lisete Chamma Davide² e Antônio Vander Pereira³

Resumo

O volume nuclear dos núcleos interfásicos dos genótipos de capim-elefante (*Pennisetum purpureum*), milheto (*Pennisetum glaucum*) e dos híbridos triplóides resultantes desse cruzamento foram analisados e caracterizados. As maiores dimensões nucleares foram encontradas no milheto, e as menores, no capim elefante. Não houve variação intraespecífica para o tipo de estrutura nuclear indicando que esta característica tem relevância para estudos citotaxonômicos no gênero *Pennisetum*. Constataram-se núcleos arreticulados no capim-elefante, núcleos semirreticulados em híbridos triplóides e milheto. Além disso, foi possível verificar uma pequena proporção (6%) de núcleos arreticulados nos híbridos. Os resultados demonstraram que a organização da cromatina em tais núcleos foram influenciados pelo número e tamanho dos cromossomos e esta afetou o volume nuclear dos táxons analisados.

Introdução

Dentre as espécies que se destacam do gênero *Pennisetum* Rich. encontram-se o milheto (*Pennisetum glaucum* L. ($2n=2x=14$), e o capim-elefante *Pennisetum purpureum* Schumack ($2n=4x=28$), pela grande importância como forrageiras.

Os programas de melhoramento do capim-elefante utilizam rotineiramente a estratégia de obtenção de híbridos entre essas duas espécies com intuito de originar progênies mais produtivas e de melhor qualidade nutricional. Essa hibridação produz consequentemente um híbrido triplóide estéril ($2n=3x=21$), tornando imprescindível a duplicação cromossômica para a restauração da fertilidade e para a viabilização do uso da combinação híbrida em programas de melhoramento.

Reorganizações genéticas e epigenéticas devem ocorrer devido aos conflitos intergenômicos gerados pela combinação dos dois genomas parentais no núcleo dos híbridos interespecíficos, (Riddle e Birchler, 2003), como enfatizado em híbridos de capim-elefante e milheto (Campos, 2007).

Considerando as alterações que podem ocorrer no núcleo híbrido e com intuito de preservar a diversidade existente no gênero, análises citogenéticas têm sido realizadas, contribuindo para a identificação dos genomas e de interações das espécies, é de grande importância para os programas de melhoramento de plantas, visto que auxilia na identificação de raças e de variedades presentes nos seus bancos de germoplasmas. O presente estudo teve como objetivo caracterizar o volume e a estrutura dos núcleos interfásicos de genótipos de capim elefante, milheto e dos híbridos resultantes desse cruzamento.

Material e Métodos

Foram avaliados dois híbridos triplóides resultantes do cruzamento entre capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) e milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.], bem como seus respectivos genitores, oriundos do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Gado de Leite - Juiz de Fora-MG.

¹ Bióloga, Mestre em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade Federal de Lavras/UFLA Cx. P. 3037 37.200-000 Lavras, MG genegoista@yahoo.com.br

² Bióloga, Doutora em Ciências Florestais Professor Titular, Departamento de Biologia, Universidade Federal de Lavras/UFLA Cx. P. 3037 37200-000 Lavras, MG ldavide@ufla.br

³ Agrônomo, Doutor em Genética e Melhoramento de Plantas Pesquisador Embrapa Gado de Leite- Rua Eugênio do Nascimento, 610. Dom Bosco - 36038-330. Juiz de Fora, MG, avanderp@cnpgl.embrapa.br. Apoio financeiro: CNPq.

As análises dos núcleos interfásicos foram realizadas em lâminas confeccionadas com meristemas extraídos a partir do enraizamento de estacas ou de sementes germinadas. As raízes foram fixadas em metanol:ácido acético 3:1 e submetidas à maceração enzimática com solução de Pectinase / Celulase. A montagem das lâminas foi realizada por meio da técnica de dissociação celular, com secagem ao ar (Carvalho, 1995).

Para a classificação dos núcleos interfásicos e avaliação do volume nuclear (VNI) foram analisadas dez lâminas por genótipo e, para cada lâmina, dez núcleos foram avaliados em campos aleatórios, totalizando 100 núcleos interfásicos por táxon estudado e por característica avaliada. A classificação dos núcleos interfásicos foi realizada utilizando-se a nomenclatura proposta por Guerra (1987). Para a avaliação do volume nuclear (VNI) tomaram-se as duas medidas maiores, sendo que a média dessas foi considerada como diâmetro médio do núcleo interfásico. A partir desse diâmetro retirou-se o raio final. Para o cálculo do volume nuclear, utilizou-se a seguinte fórmula: $4/3\pi r^3$, sendo o 'r' o raio do núcleo para o cálculo do volume (Das & Mallick, 1993).

Os dados originais para raio, diâmetro e volume nuclear foram transformados para logaritmos, visando obter distribuição normal e possibilitar a realização das análises estatísticas. As médias foram agrupadas pelo teste de Scott Knott (1974), a 5% de significância.

Resultados e Discussão

De acordo com a proposta de Guerra (1987), os núcleos interfásicos do capim-elefante são arreticulados, com cromocentros fundidos e com forma irregular (Figura 1A). Os núcleos do milheto foram classificados como semirreticulados, com retículo cromatínico fortemente corado e levemente polarizado e cromocentros com forma irregular (Figura 1B). Núcleos interfásicos semelhantes ao do parental milheto foram constatados no híbrido interespecífico triplóide. Contudo, observaram-se raros núcleos similares aos do capim elefante, em uma proporção de 6% dos núcleos (Figuras 1C e D).

Os resultados encontrados neste trabalho estão em consenso com Guerra (1987 e 2000), no que se refere ao tamanho dos cromossomos. Segundo o autor, em espécies com cromossomos pequenos, com o comprimento inferior a $3\mu\text{m}$, como os do capim-elefante (Barbosa et al., 2003), observam-se geralmente núcleos arreticulados, com presença de cromatina condensada. Em espécies com cromossomos medianos, em torno de $3\mu\text{m}$ a $5\mu\text{m}$, como os do milheto (Barbosa et al., 2003), visualizam-se irregularidades na distribuição da heterocromatina e núcleos semirreticulados. Análises por citometria de fluxo, todavia, mostraram que o capim-elefante e o milheto apresentam valores semelhantes de conteúdo de DNA (Martel et al., 1997 e Campos, 2007) e que o híbrido interespecífico triplóide, devido à ocorrência de eliminações de seqüências, apresenta menor conteúdo de DNA que seus parentais (Campos, 2007).

Outros fatores, além do tamanho dos cromossomos, podem interferir na organização da cromatina do núcleo interfásico, como o padrão de condensação na prófase e a quantidade de DNA nuclear, a distribuição de seqüências repetitivas, a quantidade e a distribuição da heterocromatina (Guerra, 1984, 1987).

Diferenças no número cromossômico também poderiam constituir outro fator que promove a distinção estrutural entre os núcleos, além das características já citadas, para o capim-elefante e o milheto, visto que o capim-elefante é tetraplóide ($2n=4x=28$) e o milheto é diplóide apresentando $2n=2x=14$ cromossomos.

A variação intragenérica no tipo de núcleo é pouco freqüente, contudo já foi observada em outros gêneros como *Tillandsias*, alguns gêneros da família Pittosporaceae, e *Nicotina* (citados por Guerra, 1987). Essa modificação na classificação dos núcleos do capim-elefante e do milheto ressalta a

relevância da característica como parâmetro a ser utilizado para fins citotaxonômicos para espécies de *Pennisetum*, uma vez que nenhuma variação intraespecífica no tipo nuclear foi observada. Estudos envolvendo outras espécies do gênero poderão confirmar o valor da estrutura do núcleo interfásico para a distinção entre espécies, o que poderia contribuir para a identificação de acessos em bancos de germoplasma, porque é comum a classificação incorreta do material coletado no campo.

Com relação às medições dos núcleos, observou-se que o teste F da análise de variância foi significativo ($P \leq 0,01$) para todos os caracteres avaliados, indicando que há diferenças entre os genótipos de *Pennisetum* sp. estudados (Tabela 1). De acordo com o teste Scott-Knott, os maiores valores médios para raio, diâmetro e volume nuclear foram encontrados para o milho, seguidos pelo híbrido triplóide e, finalmente, pelo capim-elefante (Tabela 2).

Esses resultados não se correlacionam com o conteúdo de DNA desses táxons. Como citado anteriormente, o capim-elefante e o milho apresentam quantidades de DNA semelhantes, e o híbrido interespecífico triplóide possui valor inferior ao dos parentais (Martel et al., 1997 e Campos, 2007). O que poderia explicar esses valores seria o arranjo da cromatina no núcleo interfásico, no caso dos parentais, e a presença de tipos de núcleos diferentes no meristema do híbrido.

Para os táxons de *Pennisetum* estudados, portanto, o número e o tamanho dos cromossomos são fatores que influenciam a estrutura do núcleo interfásico que, provavelmente, afetam o volume nuclear.

Conclusões

A estrutura dos núcleos interfásicos do capim elefante difere daquela observada no milho e híbrido interespecífico. As medições dos núcleos interfásicos mostraram que no milho eles são maiores e no capim elefante menores, enquanto o híbrido triplóide apresenta núcleos de tamanho intermediário. Esses valores do volume nuclear relacionam-se positivamente com o conteúdo de DNA desses táxons.

Referências

- BARBOSA, S.; DAVIDE, L. C.; PEREIRA, A. V. Cytogenetic of *Pennisetum purpureum* Schumach. x *Pennisetum glaucum* L. hybrids and their parents. *Ciência e Agrotecnologia*, Lavras, v.27, n.1, p. 26-35. 2003.
- CAMPOS, J. M. S. *Análise Genômica por citometria de fluxo no melhoramento de plantas Pennisetum sp.* 2007. 136f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2007.
- CARVALHO, C.R. *Desenvolvimento de tecnologia citogenética em milho (Zea mays L.)*. 1995. 127f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 1995.
- DAS, A. B.; MALLICK, R. Karyotype diversity and interspecific 4C DNA variation in *Bupleurum*. *Biologia Plantarum*, Calcutta, v. 35, p. 355-363. 1993.
- GUERRA, M. Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes. *Genetics and Molecular Biology*, Ribeirão Preto, v. 23, n. 4, p. 1029-1041. 2000.
- GUERRA, M.S. Cytogenetics of Rutaceae IV. Structure and systematic significance of interphase nuclei. *Cytologia*, Tokyo, v. 52, p. 213-222. 1987.
- GUERRA, M. S. New chromosome number in Rutaceae. *Plant Systematics and Evolution*, Viena, v. 146, n. 1-2, p. 13-30. 1984.

MARTEL, E.; DE NAY, D.; SILJAK-YAKOVIEV, S.; BROWN, S.; SARR, A. Genome size variation and basic chromosome number in Pearl millet and fourteen related *Pennisetum* species. *The Journal of Heredity*, Washington, v. 88, n. 2, p. 139-143. 1997.

SCOTT, A. J.; KNOTT, M. A cluster-analysis method for grouping means in the analysis of variance. *Biometrics*, Washington, v. 30, p. 507-512. 1974.

RIDDLE, N. C.; BIRCHLER, J. A. Effects of reunited diverged regulatory hierarchies in allopolyploids and species hybrids. *Trends in Genetics*, London, v. 19, n. 11, p. 597-600. 2003.

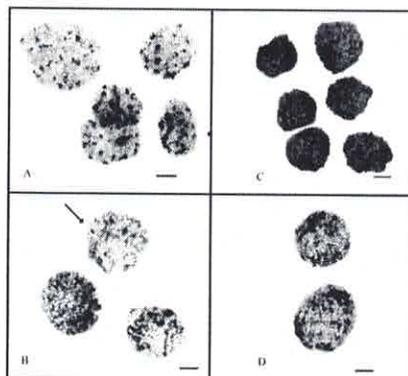


FIGURA 1 Núcleos interfásicos. A - núcleos arreticulados do capim elefante; B - núcleos semi-reticulados do milho; C - núcleos semi-reticulados e arreticulados (seta) do híbrido interespecífico; D - núcleos semi-reticulados do híbrido interespecífico. Barra= 10 μ m.

Tabela 1 Análise de variância para raio, diâmetro e volume dos núcleos interfásicos de milho, capim-elefante e híbrido triplóide.

FV	Quadrados Médios			
	GL	Raio(μ m)	Diâmetro(μ m)	Volume(μ m ³)
Tratamento	2	0,286318**	0,291985**	2,576080**
Erro	297	0,008669	0,008537	0,078078
Total	299			
CV		10,19	7,60	8,31

** : Teste de F significativo a 1% de probabilidade

Tabela 2 Valores médios para os parâmetros raio, diâmetro e volume nuclear de milho, capim-elefante e híbrido triplóide.

GENÓTIPOS	Raio (μ m)	Diâmetro (μ m)	Volume (μ m ³)
Capim elefante	7.33 c	14.64 c	1863.11 c
Híbrido triplóide	8.53 b	17.07 b	2926.11 b
Milho	9.38 a	18.77 a	3930.89 a

*Médias seguidas de mesmas letras na coluna não diferem entre si a um nível de 5% de probabilidade

ANAIS do 5º Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas



5º CBMP

10 a 13 de agosto de 2009
SESC - GUARAPARI-ES

*© melhoramento e os novos
cenários da agricultura.*

Documentos nº 011
ISSN 1518-4854