



IV WORKSHOP DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA GADO DE LEITE

Juiz de Fora, Minas Gerais | 24 de Julho de 2009



Avaliação do número de estômatos foliares em duas populações hexaploides de Capim-elefante propagadas por sementes

Cristina Maria Pinto de Paula¹, Antônio Vander pereira², Pricila Palla Costa¹, Francisco José da Silva Lédo², Ana Luisa Sousa Azevedo², Juliane Dornellas Nunes³

¹Estagiárias da Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora, estudantes do curso de Ciências Biológicas do CES (Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora). Emails: cris0283@hotmail.com, pricilapalla@hotmail.com

²Pesquisadores da Embrapa Gado de Leite em Juiz de Fora. Emails: avanderp@cnppl.embrapa.br, led0@cnppl.embrapa.br, Azevedo@cnppl.embrapa.br

³Pós-Doutoranda da Embrapa Gado de Leite. E-mail: judornellas@gmail.com

Resumo: No melhoramento genético do capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach) a hibridação interespecífica com o milheto (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) tem sido amplamente realizada para obtenção de cultivares superiores. Para correlacionar a influência da anatomia foliar sobre o potencial produtivo de híbridos hexaploides foi realizada a análise do número de estômatos em duas populações hexaploides de capim-elefante x milheto propagadas por sementes através do método da impressão da epiderme foliar. Houve diferenças significativas para a densidade de estômatos entre os genótipos avaliados. Os genótipos 1, 4 e 18 da população CNPGL 07-1, e os genótipos 8, 18 e 19 da cultivar Paraíso destacaram-se pelo elevado número de estômatos, portanto representam os genótipos mais favoráveis a seleção. Em ambas as populações foram observados valores elevados dos coeficientes de determinação genotípico (H^2), 84,93 e 90,44 %, para CNPGL 07-1 e Paraíso, respectivamente, evidenciando que a maior parte da variabilidade existente é devido às diferenças genotípicas. Portanto, os valores de densidade estomática podem ser importantes no auxílio da identificação de genótipos com um maior potencial produtivo de sementes, massa verde e ainda tolerância a estresses abióticos.

Palavras-chave: Capim-elefante, estômatos, hibridação interespecífica, milheto.

Abstract: In genetic breeding of elephantgrass (*Pennisetum purpureum* Schumach) the interspecific hybridization with pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) it has been widely used to obtain superior cultivars. To correlate the influence of the leaf anatomy on the productive potential of hexaploid hybrids was performed the analysis of stomata density in two hexaploid populations of elephantgrass x milheto propagated by seeds through the leaf epidermis impression method. There were significant differences in stomata density among evaluated genotypes. The genotypes 1, 4 and 18 from CNPGL 07-1 population, and genotypes 8, 18 and 19 from Paradise cultivar were outstanding for the elevated number of stomatas, it represents the most favorable genotypes to selection. In both populations were observed elevated values of the genotypic determination coefficient (H^2), 84,93 and 90,44 %, for CNPGL 07-1 and Paradise, respectively, showing that most of the existent variability is due to the genotypic differences. Therefore, the stomata density values can still be important to support the genotypes identification with larger productive potential of seeds, green mass and tolerance to abiotics stresses.

Keywords: elephantgrass, stomata, interspecific hybridization, pearl millet.

Introdução

A atividade leiteira no Brasil é praticada por mais de um milhão de pessoas, em sua maioria pequenos produtores, que têm na pastagem e na capineira as mais importantes

fontes de alimentação para o rebanho, uma das alternativas para melhorar a nutrição do rebanho leiteiro é a utilização de forrageiras de melhor qualidade e mais produtivas.

O Capim-elefante, *Pennisetum purpureum* Schumach é uma gramínea forrageira que apresenta diversas características favoráveis, como boa qualidade, palatabilidade, vigor e persistência, e se destaca pelo seu alto potencial de produção de forragem, características estas que estimulam o cultivo e também o melhoramento genético. O milheto, *Pennisetum glaucum* (L.) R. Br. destaca-se pela qualidade da forragem, tolerância à seca, a solos com baixos níveis de fertilidade e apresenta resistência às doenças (SOUZA SOBRINHO *et al.*, 2005).

No melhoramento genético do capim-elefante a hibridação interespecífica com o milheto tem sido amplamente realizada para obtenção de cultivares melhoradas. De acordo com Hanna (1999), a proximidade genética entre o capim-elefante e o milheto possibilita à obtenção de híbridos interespecíficos triploides ($2n=3x=21$ cromossomos), que são estéreis, representando uma limitação à sua utilização em programas de melhoramento. A estratégia mais utilizada para restauração da fertilidade do híbrido tem sido a duplicação do conjunto cromossômico, através do uso de colchicina como agente antimitótico.

A qualidade da forrageira pode estar diretamente relacionada com sua capacidade fotossintética. Os estômatos são estruturas importantes para a produção vegetal, pois representam a porta de entrada e de escoamento dos gases para a fotossíntese, desse modo representam uma das mais importantes características foliares a serem estudadas. Segundo Steinglein *et al.* (2005), a densidade, o tamanho, e a posição dos estômatos na folha influenciam o processo de trocas gasosas e estão de acordo com a proporção de transpiração da planta. A densidade também é influenciada pelas condições ambientais de estresse.

Para correlacionar a influência da anatomia foliar sobre o potencial produtivo de híbridos hexaploides, o presente trabalho teve por objetivo verificar a existência de variação na densidade estomática, em genótipos de populações de híbridos interespecíficos de capim-elefante x milheto.

Material e Métodos

Os híbridos hexaploides foram obtidos a partir de duplicação cromossômica de material triploide oriundos do cruzamento de Capim-elefante X Milheto. Para este objetivo, *seedlings* triploides com 60 dias de cultivo *in vitro* foram expostos à soluções de colchicina 0,1% por 24 horas. As plantas sobreviventes foram aclimatadas, mantidas em vasos acondicionados em casa de vegetação e posteriormente plantadas no Campo experimental de Coronel Pacheco, localizado no município de Coronel Pacheco, MG.

A confirmação das quantidades de DNA dos materiais foi determinada pela citometria de fluxo. Aproximadamente 20 mg de tecido foliar jovem dos materiais de *Pennisetum* juntamente com a mesma quantidade de tecido foliar jovem de *Glycine max* (padrão de referência), foram triturados em placa de Petri com 1mL de tampão LB01. À suspensão nuclear obtida foram adicionados 25 μ L de iodeto de propídio e 2,5 μ L de RNase. Dez mil núcleos foram analisados por amostra, a análise foi realizada no citômetro Facscalibur (Becton Dickinson).

A análise do número de estômatos foi realizada em duas populações hexaploides de capim-elefante x milheto propagadas por sementes. Foram avaliadas a cultivar Paraíso e uma população hexaploide do programa de melhoramento genético de capim-elefante da Embrapa Gado de Leite (população "CNPGL 07-1"), ambas mantidas no campo experimental de Coronel Pacheco da Embrapa Gado de Leite, Em cada uma das populações foram retiradas amostras de folhas completamente expandidas, de 20 genótipos escolhidos aleatoriamente. Em seguida, foram confeccionadas lâminas pelo método de impressão da epiderme, que consiste em colocar na superfície da lâmina éster de cianocrilato (cola de secagem rápida) e pressionar o corte de tecido foliar por aproximadamente dez segundos. Realizaram-se contagens do número de estômatos por milímetro quadrado nas lâminas com a impressão da face abaxial da epiderme foliar, em 10 pontos escolhidos aleatoriamente. A contagem da densidade estomática foi realizada em microscópio ótico Zeiss modelo Axioplan, sob objetiva de 40x.

Os resultados obtidos em cada uma das populações (Paraíso e CNPGL 07-1), foram submetidos à análise de variância, considerando o delineamento inteiramente casualizado com dez repetições (pontos amostrados/lâmina). A comparação entre os genótipos foi feita utilizando-se o teste de médias de Scott-Knott. Também foram estimados: componente de variação fenotípico ($\bar{\sigma}_f^2$); componente quadrático que expressa a variabilidade genotípica entre as médias de genótipos ($\bar{\sigma}_g$); coeficiente de variação experimental (CV_e); coeficiente de variação genotípico (CV_g); razão CV_g/CV_e ; e coeficiente de determinação genotípico (H^2).

Resultados e Discussão

A análise de variância evidenciou diferenças significativas entre os genótipos das duas populações avaliadas (Tabela 1), o que indica que existe diferença para a densidade de estômatos entre os diferentes genótipos que compõe as populações hexaploides. Esse resultado já era esperado, uma vez que as populações hexaploides de capim-elefante x milho propagadas por sementes são alógamas, portanto, apresentam diferentes constituições gênicas entre os indivíduos que compõe a população (BOREM, 1997).

Os genótipos 6, 7, 8, 10 e 17 da população CNPGL 07-1 apresentaram as menores médias de densidade estomática com valor médio de 7,58 estômatos/mm². Na população da cultivar Paraíso os genótipos 2, 3, 4, 14 e 20 apresentaram as menores médias de densidade estomática, no entanto a média de estômatos/mm² foi de 7,62, ligeiramente superior à observada na população CNPGL 07-1.

Nas duas populações avaliadas três genótipos apresentaram as maiores densidades estomáticas, sendo que na população CNPGL 07-1 foram os genótipos 1, 4 e 18, com média de número de estômatos/mm² variando de 11 a 11,4. Na cultivar Paraíso as maiores densidades estomáticas foram observadas nos genótipos 8, 18 e 19 com a média de número de estômatos/mm² variando de 11,9 a 12,7. Rodella *et al.* (1982) relataram que um maior número de estômatos por área ajudam a explicar as maiores taxas de condutância estomática, transpiratória e fotossintética das plantas. Desse modo, os genótipos citados anteriormente, por apresentarem as maiores densidades estomáticas são os que possuem maior atividade transpiratória e fotossintética, portanto apresentam maior potencial para produção de sementes e de massa verde.

O valor médio de estômatos/mm² da população CNPGL 07-1 foi de 9,11, enquanto que a cultivar Paraíso obteve 9,20 estômatos/mm². Essa pequena diferença pode ter ocorrido em função da cultivar Paraíso ser composta por genótipos mais estáveis quando comparados aos genótipos da população CNPGL 07-1 que sofreram processo recente de hibridação. Diversos trabalhos têm relatado a ocorrência de rearranjos genômicos, após os eventos de hibridação. Tais rearranjos ocorreriam em resposta a conflitos genômicos disparados pela reunião de dois genomas distintos dentro do mesmo núcleo (GERMAND *et al.*, 2005).

Em ambas as populações (Tabela 2) foram observados valores elevados dos coeficientes de determinação genotípico (H^2), de 84,93 e 90,44 %, respectivamente para CNPGL 07-1 e Paraíso, o que evidencia que a maior parte da variabilidade existente é devido às diferenças genotípicas. Portanto, os valores de densidade estomática podem ser importantes no auxílio da identificação de genótipos com um maior potencial produtivo de sementes, massa verde e ainda tolerância a estresses abióticos, como deficiências hídricas, uma vez que tem sido reconhecida como uma característica xeromórfica (RODELLA *et al.*, 1982). A cultivar Paraíso apresentou coeficiente de variação genético (CV_g) de 15,96% e relação CV_g/CV_e de 0,97. Essas estimativas são superiores as obtidas pela população CNPGL 07-01 (12,97% e 0,75, respectivamente para CV_g e CV_g/CV_e), indicando que a cultivar Paraíso apresenta situação mais favorável a seleção.

Tabela 1. Densidade de estômatos em duas populações hexaplóides de capim-elefante x milheto.

Genótipos da população CNPGL 07-1	Número de estômatos/mm ²	Genótipos da cultivar Paraíso	Número de estômatos/mm ²
7	7,00 d	3	7,20 d
6	7,60 d	4	7,60 d
10	7,60 d	20	7,60 d
8	7,70 d	14	7,70 d
17	8,00 d	2	8,00 d
12	8,20 c	9	8,40 c
2	8,30 c	13	8,50 c
16	8,50 c	10	8,60 c
3	8,70 c	17	8,60 c
11	8,90 c	6	8,80 c
9	9,00 c	7	8,80 c
5	9,20 c	16	9,10 c
15	9,80 b	15	9,20 c
19	9,80 b	5	9,30 c
13	10,00 b	11	9,30 c
14	10,10 b	1	10,20 b
20	10,30 b	12	10,60 b
1	11,00 a	18	11,90 a
4	11,10 a	19	12,00 a
18	11,40 a	8	12,70 a

Médias seguidas de uma mesma letra na coluna não diferem entre si em nível de 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott (1974).

Tabela 2. Coeficiente de variação experimental (CVe), coeficiente de variação genético (CVg), relação CVg/CVe, e coeficiente de determinação genotípico (H²), da densidade de estômatos obtidos em duas populações hexaplóides de capim-elefante x milheto.

Estimativas	CNPGL 07-1	Paraíso
CVe (%)	17,28	16,41
CVg (%)	12,97	15,96
CVg/CVe	0,75	0,97
H ² (%)	84,93	90,44

Conclusões

Existe variabilidade genética entre os genótipos das populações hexaploides CNPGL 07-1 e Paraíso, para a densidade de estômatos.

Os genótipos 1, 4 e 18 da população CNPGL 07-1, e 8, 18 e 19 da cultivar Paraíso destacaram-se pelo elevado número de estômatos, portanto representam os genótipos mais favoráveis a seleção.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto.

Literatura citada

BOREM, A. . **Melhoramento de Plantas**. Viçosa, MG: Editora UFV, 1997. 547 p.

GERNAND D, RUTTEN T, VARSHNEY A, RUBTSOVA M, PRODANOVIC S, BRÜß C, KUMLEHN J, MATZK F, HOUBEN, A. Uniparental chromosome elimination at mitosis and interphase in wheat and pearl millet crosses involves micronucleus formation, progressive heterochromatinization, and DNA fragmentation. **Plant Cell**, v.17, p. 2431–2438, 2005.

HANNA, W.W. Melhoramento do capim-elefante. In: Passos, L.P.; Carvalho, L.A.; Martins, C.E.; Pereira, A.V. (Ed.). **Biologia e Manejo do Capim-elefante**. Juiz de Fora, Embrapa Gado de Leite, 1999. p. 17-28.

RODELLA, R. A.; ISHIY, C.M.; MAIMONI-RODELLA, R.C.S.; AMARAL-JUNIOR, A. Número e distribuição dos estômatos em folhas de duas espécies de Brachiaria. **Poliagro**, v. 4, n. 1/2, p. 1-10, 1982.

SOUZA SOBRINHO, F. de; PEREIRA, A.V.; LÉDO, F.J. da S.; BOTREL, M. de A.; OLIVEIRA, J.S.; XAVIER, D.F. Avaliação agrônômica de híbridos interespecíficos entre capim-elefante e milheto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 873-880, 2005.

STENGLEIN S.A.; ARAM BARRI A.M.; CARMEN M.D.; SEVILLANO M.; BALATTI P.A. Leaf epidermal characters related with plant's passive resistance to pathogens vary among accessions of wild beans *Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus* (Leguminosae-Phaseoleae). **Flora–Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 200, p. 285–295, 2005.