

Determinação da herança da apomixia em *Brachiaria decumbens*

Daniela Barbosa Falcão¹, Simony Alves Mendonça², Sanzio Carvalho Lima Barrios², Cacilda Borges do Valle^{3*}

Introdução

As pastagens de gramíneas forrageiras nos trópicos constituem-se na base de alimentação dos rebanhos de corte e leiteiros (BOTREL et al., 1998). Dentre as espécies de maior importância estão as cultivares do gênero *Brachiaria*.

O gênero *Brachiaria* compreende cerca de 100 espécies de origem essencialmente africana, e lá ocupa habitats muito diversificados desde matas tropicais a áreas semi-desérticas. Algumas espécies deste gênero foram introduzidas no Brasil, nas décadas de 50 e 60 e devido à facilidade de adaptação a solos pobres e ácidos além da boa qualidade forrageira acabaram por difundir-se a milhões de hectares, constituindo um monocultivo. As espécies de maior importância econômica são *B. decumbens*, *B. brizantha*, *B. humidicola*, *B. ruziziensis* (VALLE; SAVIDAN, 1996), porém são ainda poucas as cultivares comerciais disponíveis, colocando em risco a produção pecuária tropical (VALLE, 2001).

No Brasil todo ano se produz aproximadamente 100 mil toneladas de sementes de *Brachiaria*, principalmente de *B. decumbens* (VALLE; SAVIDAN, 1996) tanto para a formação de pastagens no Brasil como também para exportação, sendo o Brasil o maior exportador de sementes forrageiras tropicais do mundo (VALLE, 2001).

Esse gênero abrange espécies que têm modo de reprodução sexual e apomítico. Na reprodução sexual, o embrião é formado pela união dos gametas feminino e masculino durante a meiose. Dessa forma produz plantas com novas combinações genéticas (PINHEIRO, 1996). Na apomixia o embrião é produzido sem que haja a fusão dos gametas masculino e feminino, e frequentemente é associada à poliploidia (VALLE; SAVIDAN, 1996), ou seja gera embriões sem fertilização e geneticamente idênticos à planta mãe (DALL'AGNOL; SCHIFINO-WITTMANN, 2005). Nas plantas apomíticas apospóricas como as braquiárias, a meiose ocorre, mas as quatro células resultantes se degeneram e o saco embrionário se desenvolve a partir de células do nucelo, portanto não reduzidas (VALLE; SAVIDAN, 1996). A apomixia, associada à sexualidade em um programa de

melhoramento, permite combinar características desejáveis de progenitores através de cruzamentos sexuais e depois fixá-las permanentemente pelo cruzamento com apomítico elite e seleção de híbridos apomíticos (VALLE; PAGLIARINI, 2009).

O programa de melhoramento de *B. decumbens* na Embrapa Gado de Corte baseia-se em hibridações intra-específicas, em que acessos diplóides sexuais duplicados por colchicina (SIMIONI et al., 2009), foram utilizados como fonte de sexualidade para realização das hibridações. Híbridos promissores foram obtidos (MENDONÇA et al., 2011) e para fins de seleção o modo de reprodução deve ser determinado. Híbridos sexuais promissores voltam ao programa de melhoramento para novos ciclos de cruzamentos enquanto os apomíticos já são candidatos a cultivares e podem entrar em testes regionais de produtividade e adaptação.

A identificação do modo de reprodução pode ser feita por teste de progênie, onde sementes de cada planta são germinadas e plantadas em linhas. Uniformidade fenotípica da progênie indica a presença de apomixia – famílias clonais, enquanto segregação fenotípica denota sexualidade da planta-mãe. Outra forma é por meio de análises cito-embriológica como foi feito neste trabalho. O exame de ovários permite identificar plantas apomíticas e plantas sexuais. A fenotipagem de uma população permite ainda identificar marcadores moleculares associados à apomixia e assim determinar de forma mais rápida e segura, o modo de reprodução de cada planta na progênie, como foi feito para híbridos de *B. humidicola* (ZORZATTO et al., 2009).

Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o modo de reprodução de irmãos completos oriundos dos cruzamentos entre *B. decumbens* com vistas a determinar a herança dessa característica nessa espécie de grande importância para a pecuária nacional. Essa fenotipagem servirá também de base para a busca de marcadores moleculares para a apomixia usando-se as técnicas de RAPD e microssatélites, a fim de detectar bandas informativas do genitor apomítico nos híbridos da progênie.

Material e métodos

Este estudo foi conduzido na Embrapa Gado de Corte,

1. Aluno de Agronomia, Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal UNIDERP/Anhangüera, Campo Grande, MS, CEP E-mail: danielabfalcao@gmail.com

2. Mestranda em Zootecnia, Produção Animal em Pastagens, UNESP/Botucatu, SP CEP E-mail: simonymend@hotmail.com

3. Pesquisadores da Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS, CEP 79080-907. E-mail: sanzio@cnpqg.embrapa.br; cacilda@cnpqg.embrapa.br

* Bolsista do CNPq.

Apoio financeiro: CAPES, UNIPASTO e CNPq.



em Campo Grande – MS, durante o período de janeiro a novembro de 2011.

Foi analisado o modo de reprodução de 106 híbridos da progênie de *Brachiaria decumbens*, oriundos do cruzamento da cultivar Basilisk, apomítica e D-24/27, genótipo duplicado por colchinha a partir de um acesso do germoplasma.

Para a análise do modo de reprodução, foram coletadas pela manhã, no mínimo cerca de 50 flores de cada um dos indivíduos, com auxílio de pinça e encaminhadas ao laboratório onde foram fixadas em FAA (Formalina: ácido acético: álcool na proporção 3:3:54) por 24 horas em temperatura ambiente, transferidas para o álcool 70% e estocadas em refrigerador até o uso. Os ovários foram extraídos com auxílio de lupa e pinça, desidratados e clarificados com salicilato de metila, seguindo a técnica de YOUNG et al. (1979). As lâminas foram montadas com trinta ovários e as análises realizadas ao microscópio óptico com contraste de interferência (DIC). A proporção de indivíduos sexuais e apomíticos foi calculada e a hipótese de herança monogênica foi determinada pelo teste do qui-quadrado

Resultados e Discussão

A análise do modo de reprodução de híbridos de *Brachiaria decumbens* consistiu da observação e interpretação dos sacos embrionários de 106 plantas da progênie de irmãos germanos de um total de 457 indivíduos, que estão distribuídos em um campo experimental. Das plantas já analisadas 28 apresentaram ovários de origem meiótica e total ausência de sacos apospóricos, o que indica reprodução sexual. Os outros híbridos apresentaram ovários contendo sacos embrionários apospóricos únicos e/ou múltiplos, indicando claramente reprodução por apomixia.

Os dados individuais de cada uma das plantas encontra-se na Tabela 1.

A herança da apomixia em *Brachiaria* tem demonstrado ser monogênica com apomixia dominante sobre a sexualidade (VALLE; SAVIDAN, 1996; MILES et al., 2004; VALLE; PAGLIARINI, 2009). A hipótese de herança monogênica (ligada a um único gene) prevê uma proporção esperada de 1:1 de plantas apomíticas e sexuais na progênie F1 em cruzamentos entre planta apomítica e planta sexual. Neste trabalho, num total de 106 híbridos analisados obteve-se uma proporção significativamente diferente da esperada, conforme demonstrado abaixo pelo teste do Chi-quadrado χ^2 :

$$\chi^2 = (O-E)^2 / E$$

Total de híbridos: APO + SEX = 101

Proporção observada: 73 : 28

Proporção esperada: 53 : 53

$$\chi^2 = (73 - 53)^2 / 53 + (28 - 53)^2 / 53 = 20 **$$

Altamente significativo, portanto rejeita-se a hipótese de herança monogênica.

Nessa população os resultados observados até aqui não permitem confirmar a hipótese de herança monogênica, com um excedente de plantas apomíticas; Temos que considerar que se trata de uma amostra da população total: 106 híbridos de um total de 457, portanto não se pode ainda descartar a hipótese proposta.

Híbridos apomíticos tendem a ser mais vigorosos e podem ter florescido preferencialmente mais do que os sexuais, portanto facilitando a coleta de flores e a determinação do modo de reprodução. Com uma análise completa da população a herança da apomixia poderá ser confirmada para *B. decumbens* com maior segurança.

Agradecimentos

Ao CNPq e UNIPASTO pelo apoio ao projeto. À equipe de melhoramento de forrageiras pelo auxílio na condução dos trabalhos.

Referências

- BOTREL, M DE A.; NOVAES, L. P.; ALVIM, M. J. **Características forrageiras de algumas gramíneas tropicais**. Juiz de Fora: Embrapa – CNPGL, 1998. 35p. (EMBRAPA-CNPGL. Documentos, 66).
- DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Apomixia, genética e melhoramento de plantas. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 11, n. 2, p. 127-133, 2005.
- MENDONÇA, S. A., BARRIOS, S. C. L., ALVES, G. F., VALLE, C. B. DO, MEIRELES, P. Avaliação agronômica de híbridos intraespecíficos de *Brachiaria decumbens*. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO DE FORRAGEIRAS, Bonito, 2011.
- MILES, J W, VALLE, C. B. DO, RAO, I M, EUCLIDES, V P B. *Brachiariagrasses* In: Warm Season (C4) Grasses ed. Madison: ASA, CSSA and SSSA Publishers, 2004, p. 745-783.
- PINHEIRO, A. A. Relação entre o nível de ploidia e a estrutura do saco embrionário de plantas de *Brachiaria brizantha* (Gramineae), duplicadas por colchicina: UNB, 1996. 40 f. (Graduação em Agronomia. Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária – UNB).
- SIMIONI, C.; VALLE, C. B. DO. Chromosome duplication in *Brachiaria* (A.Rich.) Stapf allows intraspecific crosses. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v.9, p.328 - 334, 2009.
- VALLE, C. B. DO, PAGLIARINI, M. S. Biology,



Cytogenetics and Breeding of *Brachiaria* (Chapter 5)
In: **Genetic Resources, Chromosome Engineering and Crop Improvement: Forage Crops.** ed. Boca Raton : CRC Press, 2009, p. 103-152.

VALLE, C.B. do; SAVIDAN, Y.H. Genetics, Cytogenetics, and Reproductive Biology of *Brachiaria*. In: MILES, J. W; MAASS, B.L; VALLE, C. B. do (eds) *Brachiaria: Biology, Agronomy, and Improvement*. Cali, Colômbia: p-147-163. 1996. (Centro Internacional de Agricultura Tropical - CIAT/Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - EMBRAPA. CIAT Publication N° 259).

VALLE, C.B. DO. Genetic Resources for Tropical Areas: Achievements and Perspectives. In: INTERNATIONAL GRASSSLAND CONGRESS, 19. São Pedro, São Paulo, **Anais...**, FELQ. 2001. 1CD-ROM. Theme – Forage Breeding and Genetics. Plenary paper.

YOUNG, B. A.; SHERWOOD, R. T.; BASHAW, E. C. Cleared-pistil and thick-sectioning techniques for detecting aposporous apomixis in grasses. **Canadian Journal of Botany**, 57: 1668-1672. 1979.

ZORZATTO, C.; CHIARI, L.; DE ARAÚJO BITENCOURT, G.; DO VALLE, C. B.; DE CAMPOS LEGUIZAMÓN, G. O.; SCHUSTER, I.; PAGLIARINI, M. S. Identification of a molecular marker linked to apomixis in (Poaceae). **Plant Breeding**, v.129, n.6, p. 734–736 2010.



Tabela 1: Modo de reprodução em híbridos de *B. decumbens*, analisados por microscopia com contraste de interferência.

Híbrido	Modo de Reprodução	Híbrido	Modo de Reprodução	Híbrido	Modo de Reprodução	Híbrido	Modo de Reprodução
R2	ESTERIL	R36	SEX	R72	SEX	R124	APO
R3	APO	R37	APO	R74	APO	R126	SEX
R4	APO	R39	SEX	R76	SEX	R127	APO
R6	SEX	R40	SEX	R77	APO	R128	APO
R7	APO	R41	APO	R78	SEX	R129	APO
R8	SEX	R42	APO	R81	SEX	R130	APO
R9	ESTERIL	R43	SEX	R83	APO	R131	APO
R10	APO	R44	APO	R84	APO	R132	APO
R12	APO	R45	APO	R85	APO	R134	SEX
R14	SEX	R46	APO	R86	APO	R135	APO
R16	SEX	R47	APO	R87	APO	R136	APO
R17	APO	R48	APO	R88	APO	R138	APO
R18	APO	R49	APO	R89	APO	R139	APO
R19	ESTERIL	R50	SEX	R90	APO	R149	APO
R20	APO	R51	SEX	R91	SEX	R142	APO
R21	APO	R52	SEX	R92	APO	R143	APO
R23	APO	R53	APO	R93	APO	R144	APO
R24	SEX	R54	APO	R96	APO	R145	APO
R25	APO	R56	ESTERIL	R97	APO	R146	APO
R26	APO	R57	APO	R99	APO	R147	APO
R27	APO	R58	APO	R101	APO	R149	APO
R29	APO	R60	APO	R106	APO	R150	APO
R30	SEX	R63	SEX	R107	SEX	R151	APO
R31	SEX	R65	SEX	R113	APO	R153	APO
R32	APO	R69	SEX	R114	APO	R154	APO
R34	SEX	R70	SEX	R117	APO		
R35	APO	R71	ESTERIL	R121	SEX		

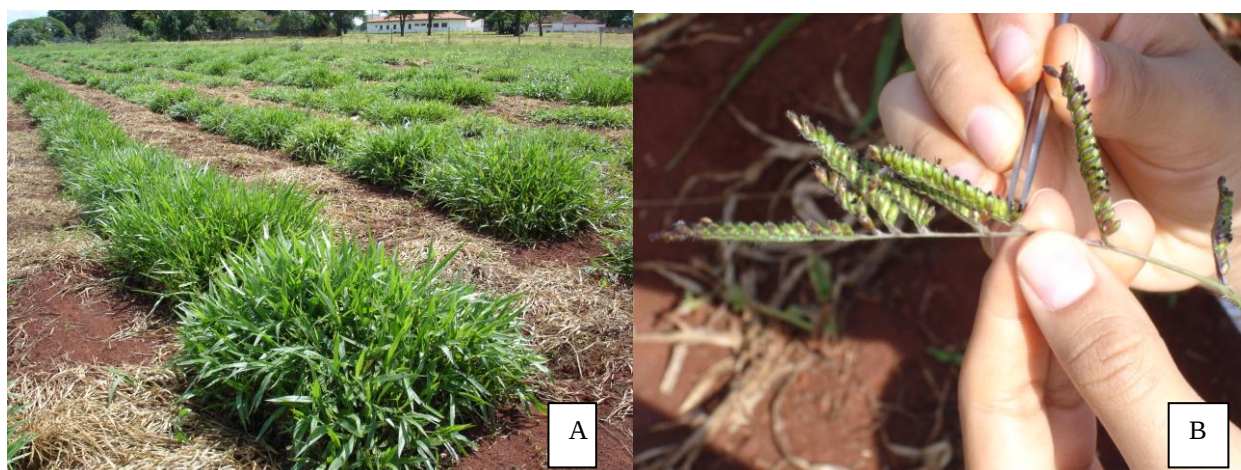


Figure 1. A- Campo de híbridos de *B. decumbens* com plantas vegetativas; B - colhendo flores para determinar modo de reprodução.