

Estabilidade Genômica Em Uma População Hexaploide De *Pennisetum purpureum* X *Pennisetum glaucum*

Ana Luisa Sousa Azevedo¹, Juliane Dornellas Nunes², Antônio Vander Pereira¹
Francisco José da Silva Léo¹, Tatiana Aparecida Silva³, Juarez Campolina Machado¹.

Resumo

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum*) se destaca entre as forrageiras devido à sua elevada produção de matéria seca, qualidade, palatabilidade, vigor e persistência, no entanto a ausência de sementes de qualidade tem limitado o uso do capim-elefante e dos híbridos com milheto (*Pennisetum glaucum*). O híbrido formado após o cruzamento entre *P. purpureum* X *P. glaucum* é triploide e conseqüentemente o mesmo é estéril. Uma forma de restituir a fertilidade é através do processo de duplicação do DNA, porém, na maioria das vezes esses indivíduos são instáveis tornando necessária a seleção dos melhores materiais. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência da seleção de indivíduos estáveis em relação ao conteúdo de DNA em dois ciclos de seleção em uma população hexaploide de *P. purpureum* X *P. glaucum*, obtida pelo programa de melhoramento genético de capim-elefante da Embrapa Gado de Leite. A média para o conteúdo de DNA da população no primeiro ciclo de seleção (PCM 0701) foi de 8,11pg, significativamente menor em relação ao segundo ciclo de seleção (PCM 0702) que apresentou conteúdo de DNA médio de 9,68pg. No primeiro ciclo de seleção houve maior amplitude na variação de conteúdo de DNA dos indivíduos analisados, enquanto no segundo ciclo de seleção a variação no conteúdo de DNA foi menor, com mais de 55% dos indivíduos com conteúdo de DNA entre 9,28-10,07pg. Os resultados evidenciaram que a seleção em função do conteúdo de DNA tem sido eficiente na estabilização genômica da população hexaploide.

Introdução

O capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.) é considerado uma das mais importantes forrageiras tropicais devido ao seu elevado potencial de produção de biomassa, adaptação aos diversos ecossistemas e boa aceitação pelos animais. É largamente utilizado na alimentação de rebanhos sob as formas de pastejo, feno e silagem além de ser a forrageira mais indicada para a formação de capineiras, para corte e fornecimento de forragem verde picada no cocho (LIRA et al., 2010). Além do potencial forrageiro, o capim-elefante tem sido considerado como uma nova alternativa para fornecer recursos abundantes e sustentáveis, em diferentes processos de produção de biomassa energética. (ANDERSON et al., 2008).

A proximidade genética entre o capim-elefante e o milheto possibilita a obtenção de híbridos entre essas duas espécies com relativa facilidade, porém, o híbrido produzido é triploide e conseqüentemente estéril (SOUZA SOBRINHO et al. 2005). Para reestabelecer a fertilidade, é necessária a duplicação da quantidade de DNA existente, formando um híbrido hexaploide. Essa estratégia tem sido amplamente recomendada para o melhoramento da qualidade forrageira e a propagação por meio de sementes (HANNA, 1999). O uso difundido de uma planta forrageira depende da facilidade do seu estabelecimento e um dos fatores limitantes à expansão no uso do capim-elefante e dos híbridos com milheto é a ausência de sementes de qualidade. Para Schanck (1999), a propagação do híbrido via semente viabilizaria a expansão das áreas cultivadas de capim-elefante, trazendo consideráveis contribuições para a pecuária leiteira. A hibridação interespecífica com o milheto tem sido amplamente utilizada no programa de melhoramento genético da Embrapa Gado de Leite, que possui uma população hexaploide resultante do processo de duplicação do material genético dos híbridos. Atualmente essa população encontra-se em processo de seleção visando melhorar a produção e a viabilidade das sementes além dos caracteres produtivos convencionais.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a eficiência da seleção de indivíduos estáveis em relação ao conteúdo de DNA em dois ciclos de seleção em uma população hexaploide de *P. purpureum* X *P. glaucum*, obtida pelo programa de melhoramento genético de capim-elefante da Embrapa Gado de Leite.

¹ Pesquisadores da Embrapa Gado de Leite. E-mails: azevedo@cnppl.embrapa.br, avanderp@cnppl.embrapa.br, ledo@cnppl.embrapa.br, juarez@cnppl.embrapa.br

² Pós-Doutoranda da Embrapa Gado de Leite, Rua Eugênio do Nascimento, 610, Bairro Dom Bosco, Juiz de Fora, MG. CEP 36038-330.

E-mail: judornellas@gmail.com

³ Estagiária da Embrapa Gado de Leite, estudantes do curso de Ciências Biológicas do Centro de Ensino Superior de Juiz de Fora. E-mail: tatibiosocial@yahoo.com.br

Apoio financeiro: CNPq, FAPEMIG e UNIPASTO.

Material e Métodos

A partir de uma população hexaploide de *P. purpureum* x *P. glaucum*, foi realizada a seleção de genótipos hexaploides geneticamente estáveis. No primeiro ciclo de seleção (PCM 0701) foram avaliadas aproximadamente 10 progênies de 21 indivíduos em relação ao potencial de germinação e conteúdo de DNA. Os indivíduos que apresentaram estimativas de conteúdo de DNA em concordância com o esperado para um híbrido hexaploide entre capim-elefante e milho foram recombinados (acasalamento ao acaso) para formação da população melhorada (PCM 0702). No segundo ciclo de seleção foram avaliados 32 indivíduos dessa população para confirmação da estabilidade genômica e do nível de ploidia hexaploide.

O preparo das amostras e as análises por citometria de fluxo para a determinação do conteúdo de DNA foram realizadas no Laboratório de Genética Vegetal da Embrapa Gado de Leite, localizado em Juiz de Fora, MG. Três amostras foliares constituídas por aproximadamente 20-30 mg de tecido foliar dos híbridos de capim-elefante hexaploide, juntamente com a mesma quantidade de tecido foliar jovem de *Glycine max* (padrão interno de referência), foram preparadas de acordo com Dolezel (1997). A análise foi realizada no citômetro FacsCalibur (Becton Dickinson), sendo os histogramas obtidos no software Cell Quest e analisados no software WinMDI 2.9.

Para as análises estatísticas foram obtidas as médias e o intervalo de confiança para o conteúdo de DNA em cada um dos ciclos e também a distribuição de frequência. Todas as análises foram realizadas com auxílio do aplicativo computacional Genes (Cruz, 2008).

Resultados e Discussão

A média para o conteúdo de DNA dos indivíduos no primeiro ciclo de seleção (PCM 0701) foi de 8,11pg, significativamente menor em relação aos indivíduos no segundo ciclo (PCM 0702). Os 32 indivíduos avaliados no PCM 0702 apresentaram conteúdo de DNA médio de 9,68pg, com intervalo de confiança (9,47-9,87). A figura 1 apresenta a distribuição de frequências no primeiro e segundo ciclo de seleção. No primeiro ciclo de seleção houve maior amplitude na variação de conteúdo de DNA dos indivíduos analisados, enquanto no segundo ciclo de seleção a variação no conteúdo de DNA foi menor, com mais de 55% dos indivíduos entre 9,28-10,07pg. Os resultados evidenciaram que a seleção em função do conteúdo de DNA tem sido eficiente na estabilização genômica da população hexaploide.

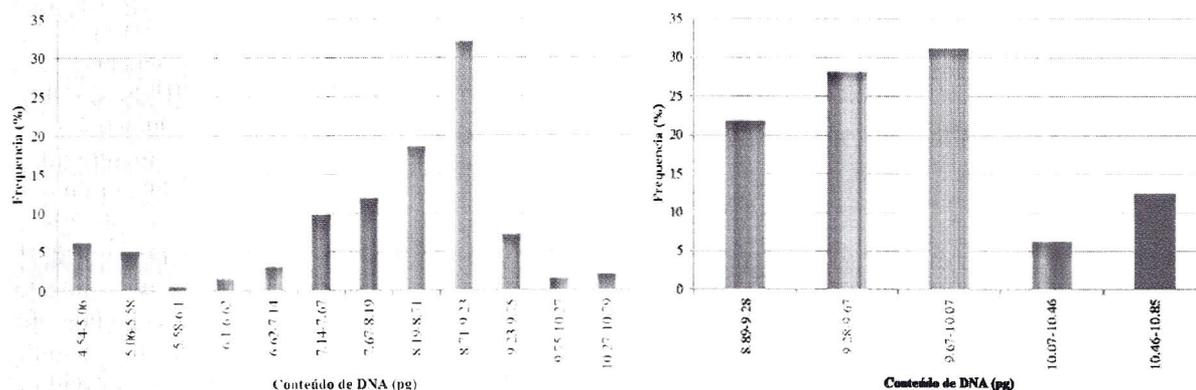


Figura 1 - Distribuição de frequências no primeiro (A) e segundo (B) ciclo de seleção na população hexaploide de *Pennisetum purpureum* x *Pennisetum glaucum*, respectivamente.

A citometria de fluxo tem se mostrado uma importante ferramenta para subsidiar as seleções no programa de melhoramento genético de capim-elefante da Embrapa Gado de Leite. A seleção de indivíduos com o nível de ploidia hexaploide confirmado no primeiro ciclo de seleção (NUNES et al., 2009) promoveu uma melhoria da estabilidade genômica da população. Vários trabalhos na família Poaceae tem descrito a eliminação somática parcial ou total de cromossomos de uma das espécies parentais, como em cruzamentos de *Avena sativa* x *Zea mays* (RIERA-LIZARAZU et. al, 1996) e *Triticum aestivum* x *Pennisetum glaucum* (GERMAND et. al., 2005). Recentemente Ishii et al. (2010) descreveram a atuação da proteína coesina na eliminação cromossômica em híbridos interespecíficos entre trigo e milho. Anormalidades cromossômicas como micronúcleos,

cromossomos atrasados, não disjunção cromossômica, pontes cromossômicas, quebra de braços cromossômicos e outras, são frequentes nos híbridos nos quais não ocorre a degradação da coesina durante o ciclo celular.

O histograma do indivíduo oito avaliado no segundo ciclo de seleção apresenta quantidade de DNA de 9,57pg (Figura 2). Neste ciclo houve maior frequência de indivíduos com conteúdo de DNA em torno de 9,30pg, que é o esperado para híbridos hexaploides de *P. purpureum* x *P. glaucum* (MARTEL et al., 1997). A presença de genótipos com grande variação na quantidade de DNA pode comprometer a formação de sementes viáveis, portanto a tendência de estabilização genômica da população no nível 6x de ploidia é favorável ao aumento da produção de sementes viáveis e conseqüente aumento do poder de germinação das mesmas. Hanna (1999) relatou que os híbridos interespecíficos de capim-elefante x milho representam uma boa alternativa para obtenção de cultivares superiores que se propagam por sementes.

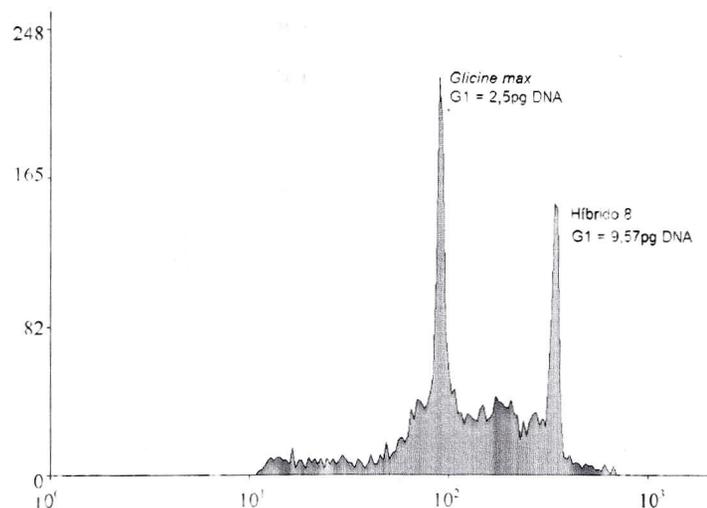


Figura 2 - Histograma de citometria de fluxo do indivíduo oito avaliado no segundo ciclo de seleção. O pico G1 (núcleos 6x) apresenta uma estimativa de quantidade de DNA de 9,57pg (coeficiente de variação = 0,46%). O padrão interno de referência foi a soja (*Glycine max*).

Conclusões

Os indivíduos do segundo ciclo de seleção apresentaram conteúdo de DNA esperado para serem considerados hexaploides.

A seleção de indivíduos com nível de ploidia 6x subsidiada pela citometria de fluxo foi eficiente em aumentar a estabilidade genômica da população hexaploide.

Agradecimentos

Ao CNPq, FAPEMIG e UNIPASTO pelo apoio financeiro.

Referências

Anderson, W.; Casler, M.; Baldwin, B. Improvement of Perennial Forage Species as Feedstock for Bioenergy. In: W. Vermerris (ed.). **Genetic Improvement of Bioenergy Crops**. Springer, p. 308-345, 2008.

Cruz CD (2008) Programa Genes - Diversidade Genética. 1. ed. Viçosa, MG: Editora UFV

Dolezel, J. Application of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal of Applied Genetics**, v. 38, p. 285-302, 1997.

Germand, D.; Rutten, T.; Varshney, A.; Rubtsova, M.; Prodanovic, S.; Brüb, C.; Kumlehn, J.; Matzk, F.; Houben, A. Uniparental chromosome elimination at mitosis and interphase in wheat and pearl millet crosses

involves micronucleous 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.

Ishii, T.; Ueda, T.; Tanaka, H.; Tsujimoto, H. Chromosome elimination by wide hybridization between Triticeae or oat plant and pearl millet: pearl millet chromosome dynamics in hybrid embryo cells. **Chromosome Research**, v. 18, p. 821-831, 2010.

Lira, M.A.; Santos, M.V.F.; Dubeux Júnior, J.C.B; Mello, A.C.L (Eds.). **Capim-elefante: Fundamentos e Perspectivas**. Recife IPA/UFRPE, 2010, 229p.

Martel, E.; De Nay, D.; Siljak-Yakovlev, S.; Brown, S.; Sarr, A. Genome size variation and basic chromosome number in pearl millet and fourteen related *Pennisetum* species. **Journal of Heredity**, v. 88, p. 139-143, 1997.

Nunes, J. D.; Pereira, A.V.; Azevedo, A.L.S.; Lédo, F.J.S.; Paula, C.M.P.; Costa, P.P. Couto, F.P.; Negrão, R.G. Potencial de propagação via sementes de híbridos hexaploides de *Pennisetum purpureum* X *Pennisetum glaucum*. In: 5^o Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas. Gurarapari, ES, 2009.

Riera Lizarazu, O.; Rines, H.W.; Phillips R.L. Cytological and molecular characterization of oat x maize partial hybrids. **Theoretical and Applied Genetics**, v. 93, p. 123-135, 1996.

Schanck, S.C. Propagação vegetativa e sexual do capim elefante. In: PASSOS, L.P.; Carvalho, L.A.; Martins, C.E.; Bressan, M.; Pereira, A.V. (Ed.). **Biologia e Manejo do Capim-elefante**. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1999, p. 1-16.

Souza Sobrinho, F. De; Pereira, A.V.; Lédo, F.J. Da S.; Botrel, M. De A.; Oliveira, J.S.; Xavier, D.F. Avaliação agronômica de híbridos interespecíficos entre capim-elefante e milheto. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 40, p. 873-880, 2005.