



# ASSINCRONIA DE GENOMAS E ELIMINAÇÃO DE CROMOSSOMOS EM HÍBRIDO INTRAESPECÍFICO POLIPLÓIDE DE *Urochloa decumbens*

Dionys Cabral Martins<sup>1</sup>; Maria Fernanda Rodrigues de Tomasi<sup>2</sup>, Bibiana Henkel Estivalet<sup>3</sup>; Julia Maia Nunes Tonietti Pedro<sup>4</sup>; Andréa Raposo<sup>5</sup>; Andréa Beatriz Diverio Mendes<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Pós-graduando em Genética e Melhoramento, Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. pg406849@uem.br

<sup>2</sup> Pós-graduanda em Genética e Melhoramento, Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. Bolsista Capes; ra122596@uem.br

<sup>3</sup> Graduanda em Agronomia, Departamento de Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. Bolsista PIBIC Fundação Araucária. ra132813@uem.br

<sup>4</sup> Graduanda em Ciências Biológicas, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. ra119905@uem.br

<sup>5</sup> Pesquisadora, Embrapa Gado de Corte, Campo Grande, MS. andrea.raposo@embrapa.br

<sup>6</sup> Docente, Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, PR. abdmendes@uem.br

## RESUMO

As espécies do gênero *Urochloa* são, predominantemente, poliploides e apomíticas. Essas características são a principal barreira para o programa de melhoramento desse gênero. Devido a poliploidia, anormalidades segregacionais e não segregacionais são observadas durante o processo de microsporogênese, resultando em baixa fertilidade de grãos de pólen e consequente baixa produção de sementes. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento meiótico em um híbrido apomítico intraespecífico de *U. decumbens* pertencentes ao programa de melhoramento da Embrapa Gado de Corte – MS. Os materiais foram conduzidos a campo até o momento da coleta da inflorescência ainda envolvida por folha bandeira. As análises meióticas foram realizadas por meio da técnica de esmagamento com carmin propiônico 1%. O comportamento cromossômico foi analisado da fase de metáfase I até a tétrade de micrósporos. O software utilizado para registro das imagens foi o *AnalySIS getIT*. No híbrido intraespecífico HD4 foi observada assincronia de ritmo meiótico caracterizada pela presença de alta porcentagem de anormalidades segregacionais. O comportamento segregacional irregular dos cromossomos durante a meiose é considerado comuns para os poliploides e culmina na produção, na grande maioria das vezes, em tétrades anormais e eliminação de cromossomos. A estabilidade meiótica de acessos e híbridos é importante no programa de melhoramento do gênero pois assegura o sucesso das hibridações e garante a produção de grãos de pólen viáveis e consequente boa produção de sementes requerida por uma cultivar.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cromossomos em ascensão precoce; Meiose; Micrócitos; Micronúcleos.

## 1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos a atividade pecuária no Brasil tem mostrado grande expressividade. O sucesso da atividade é atribuído ao sistema de criação de bovinos que consiste basicamente na criação a pasto. Números estimam que aproximadamente 90% do rebanho brasileiro se encontram em áreas de pastagem (Silva et al., 2016). As principais espécies usadas na pecuária brasileira são encontradas nos gêneros *Megathyrus* e *Urochloa* P. Beauv. [syn. *Brachiaria* (Trin.) Griseb.]. Estas duas espécies representam aproximadamente 80% das pastagens no Brasil (Fernandes et al., 1999).

O gênero *Urochloa* é composto por aproximadamente 135 espécies (POWO, 2021), pertencentes a família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Paniceae e subtribo Melinidinae. As espécies do gênero *Urochloa* são, predominantemente, poliploides e existe uma alta correlação entre o nível de ploidia e o modo de reprodução; plantas diploides apresentam a reprodução sexual, enquanto níveis maiores de ploidia se reproduzem por apomixia. Essas características são um entrave para os programas de melhoramento, uma vez que, indivíduos poliploides não realizam cruzamento com diploides. O comportamento cromossômico durante a meiose de acessos e híbridos poliploides de *Urochloa* é



caracterizado pelo pareamento preferencial e a presença de multivalentes e pela segregação cromossômica irregular (Mendes-Bonato et al., 2001 e Boldrini et al., 2006). Anormalidades não segregacionais também são observadas em *Urochloa*, como citocinese irregular e má formação de fuso (Risso-Pascotto et al., 2006ab).

Análises citogenéticas auxiliam na identificação de indivíduos poliploides, determinação do número base de cromossomos, estudos de associação e comportamento cromossômicos, compatibilidade de genomas, modo de reprodução e fertilidade de pólen. Tais informações suprem o melhorista no momento da seleção dos genótipos e na determinação dos melhores cruzamentos para a continuidade do programa de melhoramento (Pagliarini, 2001).

Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento meiótico do híbrido apomítico intraespecífico de *U. decumbens* HD4 pertencente ao programa de melhoramento da Embrapa Gado de Corte – MS.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foi feita a análise da microsporogênese do híbrido apomítico intraespecífico de *Urochloa decumbens* HD4. Esse genótipo faz parte do programa de melhoramento da Embrapa Gado de Corte, localizado em Campo Grande/MS. O híbrido foi mantido em campo experimental situado em um Latossolo Vermelho Álico (20°25'03" S, 54°42'20" O), a uma altitude de aproximadamente 530 metros. O clima predominante na área é tropical chuvoso de savana (Aw), com chuvas no verão e seca no inverno.

As inflorescências, ainda envolvidas pela folha bandeira, foram coletadas e fixadas em solução de etanol, clorofórmio e ácido propiônico, nas proporções 6:3:2 (v/v), por um período de 24 horas em temperatura ambiente. Após esse período, o material foi lavado e acondicionado em álcool 70% em ambiente refrigerado à -4°C até o momento de preparo das lâminas. Para realizar as análises meióticas, as lâminas foram preparadas utilizando a técnica de esmagamento e coradas com carmim propiônico 1%.

Para avaliar o comportamento meiótico, foram analisadas células desde a fase de metáfase I até a tétrade de micrósporos. As células foram contadas por fase da meiose e classificadas em normais e anormais. As células anormais foram categorizadas conforme o tipo de anormalidade. A documentação foi feita através de captura de imagens em microscópio óptico Olympus CX 31 com câmera SC 30 e utilização do software *AnalySIS getIT*.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise das diacineses revelou o número de cromossomos do híbrido intraespecífico HD4 de *Urochloa decumbens* analisado. O híbrido apresentou  $2n = 4x = 36$  cromossomos, derivado de  $x=9$  e, portanto, tetraploide. A poliploidia é frequente no gênero *Urochloa* e já foi confirmada tanto para acessos quanto para híbridos desse gênero (Mendes-Bonato et al., 2006; Pagliarini et al., 2012).

Durante a análise da meiose desse híbrido, foi observado falta de afinidade entre os genomas evidenciada pela assincronia de ritmo meiótico. De acordo com Risso-Pascotto et al. (2004) assincronia de ritmo meiótico é caracterizada pela presença de muitos cromossomos retardatários nas anáfases I e II, de micronúcleos na prófase II, metáfase II e telófases I e II.

Nas metáfases I observou-se migração precoce de cromossomos. Na maioria das células observadas foram observados cromossomos em ascensão precoce. Na grande maioria das células observadas (92,59%) os cromossomos em ascensão precoce observados apresentaram o padrão característico da migração precoce descrito para



acessos e híbridos de gênero *Urochloa*, ou seja, alguns cromossomos ascendendo precocemente, mas ainda muito perto da placa equatorial (Mendes-Bonato et al., 2006; Boldrini et al., 2011). Entretanto, em 7,41% das metáfases I foi observada a migração de vários cromossomos juntos imediatamente antes da segregação dos demais cromossomos, sugerindo que um dos genomas do híbrido estava migrando precocemente.

A segregação irregular dos cromossomos foi severa nas anáfases I, 97,62% das células apresentaram cromossomos retardatários. Destas, 53,65% apresentaram muitos cromossomos retardatários, 17,07% apresentaram poucos retardatários e em 29,27% dos meiócitos observou-se um genoma migrando de forma retardatária.

Apesar da alta porcentagem de células anormais em anáfase I, sugere-se que a grande maioria dos cromossomos retardatários tenha alcançado o polo da célula a tempo de ser incluído no núcleo principal. Isto se deve ao fato de terem sido observadas telófases I (39,36%) e prófases II (54,84%) sem micronúcleos. Entre as telófases I anormais, 82,45% tinham um ou poucos micronúcleos bem pequenos.

Na prófase II foram observados micronúcleos em 42,16% dos meiócitos, muitos desses micronúcleos persistiram na metáfase II. De acordo com Mendes-Bonato et al. (2001) os micronúcleos formados na telófase I podem persistir como tal durante as fases da meiose II.

Além da presença de micronúcleos na metáfase II, o comportamento segregacional dos cromossomos foi bastante semelhante ao observado na primeira divisão meiótica. Entre as tétrades, apenas 0,5% das células observadas eram normais. Nos meiócitos restantes foi observado a presença de micronúcleos em um, dois, três e nos quatro micrósporos da tétrade. Entre os produtos pós-meióticos também foram encontradas tétrades com micrócito e pêntrades.

A falta de afinidade entre os genomas também foi observada em híbridos intraespecíficos de *U. humidicola* por Ricci et al. (2011) e por Sales (2022) e em híbridos interespecíficos apomíticos tetraploides de *Urochloa* (Mendes-Bonato et al., 2006; Ragalzi et al., 2021). A combinação de dois genomas distintos em um híbrido interespecífico frequentemente resulta em divisões meióticas anormais. Entretanto, pelo menos teoricamente, as hibridações intraespecíficas, quando comparadas as interespecíficas, deveriam produzir uma baixa porcentagem de irregularidades na meiose, uma vez que não há incompatibilidade de genomas. Uma possível explicação é que a poliploidia afeta o processo meiótico e as altas frequências de anormalidades meióticas podem ocorrer, como foi observado na análise citogenética deste híbrido intraespecífico.

A assincronia de ritmo meiótico leva a eliminação de cromossomos através da formação de micronúcleos de diferentes tamanhos, micrócito e políades. A eliminação de cromossomos é descrita como uma consequência da falta de afinidade entre os genomas em acessos poliploides naturais (Mendes-Vieira et al., 2006); em híbridos intraespecíficos (Baldissera et al., 2020) e em híbridos interespecíficos de *Urochloa* (Mendes-Bonato et al., 2006).

#### 4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O comportamento segregacional irregular dos cromossomos durante a meiose, considerado comuns para os poliploides, como a presença de cromossomos precoces nas metáfases, retardatários nas anáfases e micronúcleos nas prófases II e telófases, afetam o produto final da meiose. Estas anormalidades culminam na produção, na grande maioria das vezes, de tétrades com micronúcleos nos micrósporos.

A falta de sincronia no ritmo meiótico dos cromossomos leva a eliminação de muitos cromossomos, prejudicando a fertilidade do híbrido.



## REFERÊNCIAS

- BALDISSERA, J. N. C.; MENDES, A. B. D.; COAN, M. M. D.; MANGOLIN, C. A.; VALLE, C. B.; PAGLIARINI, M. S. Selection based on meiotic behavior in *Urochloa decumbens* hybrids from non-shattered seed. **Tropical Grasslands-Forrajões Tropicais**, 8(2), 2020. 133–140.
- BOLDRINI, K. R.; ADAMOWSKI, E. V.; CALISTO, V.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Meiotic behavior as a selection tool in the breeding of *Brachiaria humidicola* (Poaceae). **Euphytica**, 182:317–324, 2011.
- BOLDRINI, K. R.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Abnormal timing of cytokinesis in microsporogenesis in *Brachiaria humidicola* (Poaceae: Paniceae). **Journal of Genetics**, 85:225-228, 2006.
- FERNANDES, C.; VALÉRIO, J.; FERNANDES, A. Ameaças apresentadas pelo atual sistema de produção de sementes à agropecuária na transmissão de doenças e pragas. **Workshop sobre semente de pragas forrageiras**. 1999. 55-68.
- MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; SILVA, N.; VALLE, C. B. Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumbens* Stapf (Gramineae). **Acta Scientiarum Biological Sciences** 23, 619–625. 2001.
- MENDES-BONATO, A. B.; RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Chromosome number and meiotic behaviour in *Brachiaria jubata* (Gramineae). **Journal of Genetics**, 85:83, 2006.
- PAGLIARINI, M. S. Citogenética aplicada ao melhoramento. In: **Recursos Genéticos & Melhoramento**. Rondonópolis: Fundação MT. p. 549-602. 2001.
- PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B.; SANTOS, E. M.; MENDES, D. V.; BERNARDO, Z. H.; MENDES-BONATO, A. B.; SILVA, N.; CALISTO, V. Microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Poaceae) as a selection tool for breeding. **Genetics and Molecular Research**, 11:1309-1318, 2012.
- POWO. **Plants of the world online**. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Disponível em: <http://www.plantsoftheworldonline.org>. Acesso em: 16 de junho de 2025.
- RAGALZI, C. M.; MENDES, A. B. D.; SIMEÃO, R. M.; VERZIGNASSI, J. R.; VALLE, C. B.; MACHADO, M. F. P. S. Microsporogenesis associated with seed yield in *Urochloa* sexual polyploid hybrids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** – 21(4): e37652148, 2021.
- RICCI, G. C. L.; SOUZA-KANESHIMA, A. M.; FELISMINO, M. F.; MENDES-BONATO, A. B.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Chromosome numbers and meiotic analysis in the pre-breeding of *Brachiaria decumbens* (Poaceae). **Journal of Genetics**, 90:289–294, 2011.
- RISSO-PASCOTTO, C.; MENDES, D.V., SILVA, N.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.D. Evidence of allopolyploidy in *Brachiaria brizantha* (Poaceae: Paniceae) through chromosome arrangement at metaphase plate during microsporogenesis. **Genetics and**



**Molecular Research**, 5:797–803, 2006a.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. do; JANK, L. Microsporogenesis in artificial induced tetraploid accession of *Brachiaria ruziziensis* (Gramineae) focusing multiple spindles and cellularization. **Plant Cell Reports**, 23: 522–527, 2004.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C. B. Microsporogenesis in *Brachiaria dictyoneura* (fig. & de not.) Stapf (Poaceae: Paniceae). **Genetics and Molecular Research**, 5:837–845, 2006b.

SALES, G. L. M. **Microsporogênese, viabilidade e produção de sementes puras em *Urochloa humidicola* (Rendle) Morrone & Zuloaga**. Universidade Estadual de Maringá, 2022. 64p. Dissertação (Mestrado em genética e melhoramento).