



AVALIAÇÃO DA MICROSPOROGÊNESE DE ACESSO *UROCHLOA P. BEAUV.* [SYN. *BRACHIARIA* (TRIN.) GRISEB.] (POACEAE)

Bibiana Henkel Estivalet¹, Bruna Vitalino Cadete Cangussu², Maria Fernanda Rodrigues de Tomasi³, Andréa Raposo⁴ e Sanzio Carvalho Lima Barrios⁴, Andréa Beatriz Diverio Mendes⁵

¹Acadêmica do Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá- UEM. Maringá-PR Bolsista PIBIC/ Fundação Araucária. ra132813@uem.br

²Acadêmica do Curso de Agronomia, Universidade Estadual de Maringá- UEM. Maringá-PR. Programa de Iniciação Científica PIC- UEM. ra139021@uem.br

³Mestranda do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, Campus Maringá-PR, Universidade Estadual de Maringá- UEM. Bolsista Capes. ra122596@uem.br

⁴Pesquisador. Embrapa Gado de Corte. Campo Grande – MS. andrea.raposo@embrapa.br; sanzio.barrios@embrapa.br

⁵Docente. Departamento de Biotecnologia, Genética e Biologia Celular, Universidade Estadual de Maringá- UEM. Maringá-PR abdmendes@uem.br

RESUMO

O gênero *Urochloa* abrange espécies forrageiras amplamente utilizadas em regiões tropicais, sendo fundamentais na formação de pastagens cultivadas e no fortalecimento da pecuária brasileira. A importância dessas gramíneas reforça a necessidade de programas de melhoramento genético, os quais dependem da compreensão dos fatores que comprometem a fertilidade, especialmente em acessos poliploides e apomíticos. Assim, este trabalho teve como objetivo analisar a microsporogênese de um acesso de *Urochloa brizantha* da Coleção de Germoplasma da Embrapa Gado de Corte. As inflorescências foram coletadas em estágio adequado de desenvolvimento, fixadas, coradas com carmim propiônico e submetidas à técnica de esmagamento. A análise meiótica revelou frequência elevada de irregularidades, especialmente ascensão precoce de cromossomos, cromossomos retardatários e formação de micronúcleos. As tétrades de micrósporos também apresentaram alta taxa de anormalidades, com destaque para a presença de micronúcleos em múltiplos micrósporos, além de tríades e políade. Assincronias entre fases da meiose e aderência cromossômica também foram observadas, sugerindo distúrbios adicionais na dinâmica cromossômica. Tais alterações indicam comprometimento da viabilidade gamética e possível redução da fertilidade do acesso, o que pode representar limitação ao seu uso em programas de melhoramento. Os estudos citogenéticos são essenciais para avaliar com maior profundidade o impacto dessas irregularidades na reprodução e no potencial agrônomo do material.

PALAVRAS-CHAVE: Aderência cromossômica; Cromossomos precoces; Irregularidade segregacional; Meiose; Micronúcleo.

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Urochloa* [syn. *Brachiaria*] abrange cerca de 135 espécies (POWO, 2021), sendo de grande importância para a produção de forragem em regiões tropicais. No contexto brasileiro, essas espécies são amplamente adotadas na formação de pastagens cultivadas, constituindo a base da pecuária de corte e leite. Essa realidade posiciona o Brasil entre os principais produtores e exportadores de produtos originados de sistemas pastoris, evidenciando a necessidade de desenvolver tecnologias agrícolas que aumentem a sustentabilidade e a eficiência no uso dessas forrageiras (Ferraz & Felício, 2010; Dias-Filho, 2014).

A diversidade genética é um requisito fundamental para os programas de melhoramento. No caso do gênero *Urochloa*, o acesso à variabilidade genética exige a utilização da sexualidade, como forma de liberar a heterozigosidade retida pelo processo de apomixia (Valle et al., 2009).

A presença de poliploidia está frequentemente associada à ocorrência de irregularidades durante a meiose, as quais comprometem de forma significativa a formação de grãos de pólen viáveis e a produção de sementes. Enquanto plantas diploides costumam



apresentar meiose regular, indivíduos poliploides, independentemente do nível de ploidia, geralmente exibem meioses anômalas (Mendes-Bonato et al., 2002; 2007; Boldrini et al., 2011).

Dessa forma, a realização de análises citogenéticas em acessos específicos é essencial para identificar anormalidades meióticas que possam comprometer a fertilidade dos genótipos envolvidos (Felismino et al., 2010), além de contribuir para a compreensão das baixas taxas de sucesso em determinados cruzamentos. Assim, o presente estudo teve como objetivo investigar a microsporogênese de um acesso de *Urochloa brizantha* pertencente ao Banco de Germoplasma da Embrapa Gado de Corte-MS.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

Um acesso de *Urochloa brizantha* (B55) foi selecionado para análise citogenética. Esse acesso pertence à Coleção de Germoplasma da Embrapa Gado de Corte (Campo Grande, MS). As inflorescências foram coletadas em estágio adequado de desenvolvimento, ainda envoltas pela folha bandeira, e fixadas por 24 horas em uma solução composta por etanol, clorofórmio e ácido propiônico (6:3:2). Após o processo de fixação, as amostras foram lavadas e armazenadas em álcool 70%, sob refrigeração.

As lâminas foram preparadas utilizando a técnica de esmagamento, a partir da seleção das três maiores anteras e coradas com carmim propiônico a 1%. As lâminas, vedadas com esmalte incolor, foram mantidas refrigeradas por até sete dias, a fim de preservar a coloração e a integridade celular.

A análise meiótica foi conduzida por meio de observações em microscopia óptica, abrangendo desde a diacinese até a formação das tétrades de micrósporos. Assim, as células foram classificadas conforme a normalidade dos eventos meióticos e a frequência de anormalidades foi quantificada e expressa em porcentagem. Foram contadas 100 células por fase da meiose. Para a avaliação do comportamento meiótico, foram consideradas normais as células que apresentavam citoplasma intacto, formato normal e divisão meiótica regular e, anormais aquelas que apresentaram variações no comportamento meiótico. Nas tétrades de micrósporos, os micronúcleos foram discriminados quanto ao número de micrósporos afetados. A avaliação e contagem foi feita percorrendo toda a lâmina. Foram determinados o total de células analisadas e a porcentagem de anormalidades em cada fase.

As imagens dos meiócitos foram obtidas com auxílio do microscópio *Olympus CX31*, equipado com a câmera *SC30*, utilizando o software *AnalySIS getIT* para captura.

3 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A avaliação citogenética do acesso de *Urochloa brizantha* revelou uma considerável frequência de irregularidades meióticas. Durante a metáfase I, 76,80% das células apresentaram anormalidades, sendo a ascensão precoce de cromossomos a principal ocorrência (98,96%). Na anáfase I, 81,13% das células analisadas apresentaram cromossomos retardatários, marcando uma continuidade do padrão de instabilidade.

A telófase I também mostrou alta incidência de irregularidades (64,75%), com todas as células anormais apresentando micronúcleos. Esse padrão se manteve na prófase II, em que 62,24% das células foram classificadas como anormais, todas também com presença de micronúcleos. A instabilidade meiótica perdurou na metáfase II, com 83,95% de células anormais, todas associadas à ascensão precoce de cromossomos. Já na anáfase II, todas as células observadas foram consideradas anormais (100%), devido à presença de cromossomos retardatários. A telófase II, por sua vez, apresentou 84,21% das células com micronúcleos.



Na análise das tétrades de micrósporos, a taxa de anormalidade foi significativa e elevada, alcançando 97,04% das estruturas avaliadas. A presença de micronúcleos em micrósporos foi predominante, sendo observada em 38,93% das tétrades com quatro micrósporos afetados, 29,01% com três, 15,27% com dois e 9,16% com apenas um micrósporo. Isso pode ocorrer, em especial, por conta de cromossomos retardatários que, posteriormente, formam micronúcleos em fases anteriores e mantêm-se na tétrade. A formação de micronúcleos estimula a exclusão de cromossomos do núcleo principal, tendo como resultado gametas aneuploides (Ragalzi et al., 2021; Sales et al., 2021). Portanto, o possível desbalanço desses gametas pode comprometer a viabilidade do pólen e a produção de sementes. A produção de pólen fértil garante a produção de boa quantidade de sementes viáveis, o que é necessário para o acesso ser utilizado como progenitor masculino nos cruzamentos intra e interespecíficos do programa de melhoramento do gênero *Urochloa*.

Também foram registradas tríades (6,87%) e políades (0,76%), indicando distúrbios na meiose, os quais podem estar relacionados a assincronias de fases meióticas. Com relação às assincronias meióticas, a frequência total observada foi de 2,58%. A principal descoordenação de fase ocorreu entre metáfase II e anáfase II (2,05%), seguida por ocorrências pontuais entre prófase II e metáfase II (0,27%), metáfase II e telófase II (0,18%) e prófase II e anáfase II (0,09%). Observa-se que essas assincronias não demonstraram influência significativa sobre os produtos finais da meiose até o momento.

Além dessas alterações, este acesso apresentou aderência cromossômica com frequência de 21,91%. Embora os efeitos dessa aderência ainda não possam ser plenamente definidos, sua presença pode estar relacionada a dificuldades na separação dos cromossomos homólogos e cromátides irmãs, contribuindo para parte das irregularidades observadas. No entanto, assim como as assincronias, essa aderência não parece estar, até o momento, diretamente associada a alterações estruturais evidentes nas tétrades, sendo necessário um aprofundamento nas análises para avaliar melhor seus impactos.

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As irregularidades meióticas identificadas neste acesso de *Urochloa brizantha* reforçam a tendência à instabilidade cromossômica durante a gametogênese, com altas frequências de micronúcleos decorrentes de cromossomos retardatários e eventos de ascensão precoce. Esses resultados indicam um possível comprometimento na viabilidade dos micrósporos e na fertilidade do acesso, o que pode comprometer a utilização desse acesso como progenitor masculino nos programas de melhoramento do gênero, representar um entrave à sua utilização em programas de melhoramento genético, tendo em vista que comprometem a formação de gametas viáveis na seleção de genótipos superiores.

A ocorrência de aderência cromossômica e assincronias não permite, ainda, conclusões definitivas.

REFERÊNCIAS

BOLDRINI, K.R.; ADAMOWSKI, E.V.; SILVA, N.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Meiotic behavior in nonaploid accessions of *Brachiaria humidicola* (Poaceae) and implications for breeding. **Genetics and Molecular Research**, v. 10, n. 1, p. 169-176, 2011.



DIAS-FILHO, M.B. Diagnóstico das pastagens no Brasil. **Embrapa Amazônia Oriental**, v. documentos, p. 21-43, 2014.

FERRAZ, J.B.S.; FELÍCIO, P.E.D. Production systems – An example from Brazil. **Meat Science**, v. 84, n. 2, p. 238-243, 2010.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; FORLI, F.; VALLE, C.B.; PENTEADO, M.I.O. Chromosome number and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). **Euphytica**, v. 125, p. 419-425, 2002.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.D. Meiotic arrest compromises pollen fertility in an interspecific hybrid between *Brachiaria ruziziensis* × *Brachiaria decumbens* (Poaceae: Paniceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 50, n. 5, p. 831-837, set. 2007.

SALARIATO, D.L.; ZULOAGA, F.O.; MORRONE, O. Contribución al conocimiento de las especies del género *Axonopus* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae) para Sudamérica Austral. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 98, p. 228–271, 2011.

VALLE, C.B.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S. O melhoramento de forrageiras tropicais no Brasil. **Revista Ceres**, p. 460-472, 2009.