

**VIVIANE FERNANDES DE SOUZA**

**MICROSPOROGÊNESE EM MILHO FORRAGEIRO (*Zea mays L.*)**

**MARINGÁ**

**PARANÁ – BRASIL**

**FEVEREIRO - 2010**

# **Livros Grátis**

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

**VIVIANE FERNANDES DE SOUZA**

**MICROSPOROGÊNESE EM MILHO FORRAGEIRO (*Zea mays L.*)**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual de Maringá, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, para obtenção do título de Mestre.

**MARINGÁ**

**PARANÁ – BRASIL**

**FEVEREIRO - 2010**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)  
(Biblioteca Central - UEM, Maringá – PR., Brasil)

S729m Souza, Viviane Fernandes de  
Microsporogênese em milho forrageiro (Zea mays L)  
/ Viviane Fernandes de Souza. -- Maringá : [s.n.],  
2010.  
41 f. : il. figs., tabs.

Orientador : Prof. Dra. Maria Suely Pagliarini.  
Co-orientador: Dr. Carlos Alberto Scapim  
Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de  
Maringá, Programa de Pós-graduação em Genética e  
Melhoramento, 2010.

1.Citogenética vegetal. 2. Microsporogênese-  
Anormalidade meiótica. 3.Milho forrageiro -  
Comportamento meiótico. 4.Híbridos comerciais.I.  
Pagliarini, Maria Suely.II. Scapim, Carlos Alberto.  
III. Universidade Estadual de Maringá, Programa de  
Pós-graduação em Genética e Melhoramento.  
IV.Microsporogênese em milho forrageiro.

CDD 21.ed. 571.845  
633.15

Permitida a cópia total ou parcial deste documento, desde que citada a fonte  
(A autora);

*“E quão preciosos me são, ó Deus,  
os teus pensamentos!”*

*Salmo 139:17a*

**Dedico...**

a **Deus**, pela oportunidade

aos **meus pais e irmãos**, pelo apoio.

## AGRADECIMENTOS

A *Deus*, não tenho palavras para expressar minha gratidão.

Aos *meus pais*, pelo carinho e apoio demonstrado em todo o tempo.

Aos *meus irmãos e tia Ivone*, pelo incentivo e contribuições que a mim dedicaram.

Aos *amigos* que, de diferentes maneiras, colaboraram para a conclusão desse trabalho.

Ao *Prof. Dr. Nilton César Pires Bione*, pelo apoio e incentivo do meu ingresso na pesquisa científica.

Em especial, a *Prof.<sup>a</sup>. Dra. Maria Suely Pagliarini*, pela confiança, estímulo, paciência e dedicação durante o desenvolvimento desse trabalho.

Ao *Prof. Dr. Carlos Alberto Scapim*, pelo plantio, acompanhamento em campo do material e pela co-orientação.

Ao *Prof. Dr. Marcos Ventura Faria*, pela concessão do material analisado.

À *Neide da Silva*, técnica do laboratório, pela dedicação e preparação dos materiais utilizados nas análises meióticas.

À *Universidade Estadual de Maringá*, por possibilitar meus estudos e desenvolvimento da pesquisa científica através do curso de pós-graduação.

À *Fundação Araucária* e ao *PRONEX* que por meio dos recursos financeiros possibilitaram o desenvolvimento da pesquisa.

## **BIOGRAFIA**

VIVIANE FERNANDES DE SOUZA, filha de Ralpho Mayer Fernandes de Souza e Irene Luisa Fernandes de Souza, nascida em 16 de novembro de 1974, na cidade de Irati, Paraná.

Graduada em Ciências – Licenciatura, com complementação em Biologia em 1999, pela Universidade Estadual do Centro-Oeste, campus de Irati, Paraná. Neste mesmo ano e Universidade cursou Especialização em Educação Ambiental.

Durante os anos de 1998 a 2008, atuou como professora das disciplinas de Ciências e Biologia, no Ensino Fundamental e Médio, respectivamente. Em 2007, atuou como Tutora no Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas à Distância, pela Universidade Estadual do Centro-Oeste, campus de Irati, Paraná.

Em março de 2008 iniciou o curso de Mestrado em Genética e Melhoramento, na Universidade Estadual de Maringá.

## ÍNDICE

RESUMO .....	viii
ABSTRACT .....	x
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DE LITERATURA .....	3
2.1. Origem e domesticação do milho .....	3
2.2. Importância do milho forrageiro .....	4
2.3. Melhoramento do milho forrageiro .....	6
2.4. Controle genético da meiose e produção de gametas viáveis .....	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS .....	11
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	12
4.1. Tipos e frequências das anormalidades meióticas .....	12
4.1.1. Segregação irregular dos cromossomos .....	14
4.1.2. Ausência de citocinese .....	15
4.1.3. Núcleos de restituição .....	19
4.1.4. Fuso tripolar .....	19
4.1.5. Segregação irregular decorrente de dessinapse .....	22
4.1.6. Citomixia .....	23
4.2. Avaliação geral dos resultados .....	25
5. CONCLUSÃO .....	29
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	31

## RESUMO

SOUZA, Viviane Fernandes de. M. Sc. Universidade Estadual de Maringá. Fevereiro de 2010. MICROSPOROGENESE EM MILHO FORRAGEIRO (*Zea mays* L.). Orientadora: Professora Dra. Maria Suely Pagliarini; Co-orientador: Professor Dr. Carlos Alberto Scapim.

Dentre as plantas cultivadas, o milho, por apresentar grande versatilidade de uso é, sem dúvida, a mais estudada. A utilização do milho na forma de silagem é relevante no desenvolvimento do rebanho bovino e na redução de custos da produção agropecuária. Informações relacionadas a aspectos citogenéticos são inexistentes para milho forrageiro. Em programas de melhoramento, híbridos comerciais são muito utilizados como populações-mães na obtenção de linhagens endogâmicas para a formação de novos híbridos. Como o cultivo de milho é dependente de sementes, a qual está diretamente ligada a gametas viáveis, a seleção de populações-mães para a extração de linhagens endogâmicas de alta qualidade a partir da estabilidade meiótica poderá contribuir sobremaneira para o programa de formação de novos híbridos de milho forrageiro. Neste trabalho foi avaliada a estabilidade meiótica de seis híbridos comerciais de milho forrageiro cultivados no Estado do Paraná, obtidos por quatro diferentes empresas de melhoramento. Todos apresentaram anormalidades meióticas, porém em diferentes frequências. Algumas anormalidades foram comuns a todos os genótipos, enquanto outras afetaram apenas alguns genótipos ou algumas plantas dentro de genótipo. Anormalidades relacionadas à segregação irregular de cromossomos e ausência de citocinese foram observadas em todos os híbridos, enquanto citomixia e anormalidades na formação de fuso foram observadas em apenas algumas plantas de alguns genótipos. O híbrido SG 6010 foi o que apresentou a menor frequência média de células anormais (21,27%), enquanto a maior frequência foi observada no híbrido P 30K64 (44,43%). Todavia, quando se compara apenas a frequência de produtos meióticos anormais, esta cai drasticamente para a maioria dos genótipos analisados, passando a variar 7,36% no híbrido CD 304 a 43,86% no híbrido Garra. Levando-se em

consideração a percentagem de produtos meióticos anormais e, por conseguinte, a estabilidade meiótica, recomenda-se que apenas os híbridos CD 304, P 30K64, SG 6010 e P 30F53 permaneçam no programa de melhoramento para obtenção de linhagens endogâmicas.

Palavras-chave: milho forrageiro, microsporogênese, anormalidades meióticas.

## ABSTRACT

SOUZA, Viviane Fernandes de. M. Sc. State University of Maringá. February, 2010. Microsporogenesis in corn silage (*Zea mays* L.). Adviser: Dr. Maria Suely Pagliarini; Co-adviser: Dr. Carlos Alberto Scapim.

Among cultivated plants, the maize is the most studied one because its versatility of use. The utilization of maize as silage drastically reduces the costs of cattle production. Data related to cytogenetics aspects were not found for this culture. In breeding programs, commercial hybrids are frequently used as the source of inbred lines to obtain new hybrids. Considering that the maize cultivation is dependent on healthy seeds that, in turn, are dependent on viable gametes, the selection of populations to obtain inbred lines with high meiotic stability could contribute to the formation of new corn silage hybrids adapted to the South Region of Brazil. The meiotic stability of six commercial hybrids of corn silage was evaluated by conventional methods. All of them presented meiotic abnormalities, however in different amounts. Some abnormalities, such as abnormal chromosome segregation and absence of cytokinesis, occurred in all the genotypes, while others, including cytomixis and abnormal spindle orientation or absence of spindles, were found only in some genotypes. The hybrid SG 6010 presented the lower mean frequency of abnormal cells (21.27%), however the higher frequency was found in the hybrid P 30K64 (44.43%). But, when only the frequency of abnormal meiotic products was compared, it drastically decreased for the majority of genotypes, ranging from 7,36% in the hybrid CD 304 to 43,86% in GARRA. Taking into account the percentagem of abnormal meiotic products and, hence, the meiotic stability, only the hybrids CD 304, P 30K64, SG 6010, and P30F53 are recommended to remain in the breeding program to obtain inbred lines to create new hybrids.

Key-words: corn silage, microsporogenesis, meiotic abnormalities.

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre as espécies cultivadas, o milho apresenta grande versatilidade de uso. O milho forrageiro, em especial, tem contribuído de forma relevante no desenvolvimento do rebanho bovino e na redução de custos de produção agropecuária por sua facilidade de cultivo, altos rendimentos e, principalmente, pela qualidade da silagem produzida (Zago, 1991). A silagem é usada como alternativa na manutenção e incremento da produção animal, principalmente em períodos de menor produção de pastagem natural (McDonald, 1981).

As cultivares de milho encontradas no mercado possuem características diferenciadas de adaptação ao ambiente e podem mostrar qualidades variáveis quando empregadas na produção de silagem. Este é um fator que oportuniza o melhoramento e permite a exploração do seu potencial genético.

Nos programas de melhoramento é comum a utilização de híbridos, quer seja para a obtenção de linhagens ou para formação de novas populações. Os híbridos, por serem heterozigóticos, apresentam alta estabilidade meiótica (Rees e Thompson, 1956; Pagliarini, 1983; Pagliarini et al., 2002; Defani-Scoarize et al., 1995). Todavia, quando plantas alógamas são autofecundadas sucessivamente, colocam em homozigose os genes que controlam o processo meiótico e uma série de anormalidades surgem nas plantas endogâmicas (Rees e Thompson, 1956; Pagliarini, 1980; Pagliarini et al., 2002; Defani-Scoarize et al., 1995, 1996). Estas anormalidades comprometem a produção de grãos de pólen viáveis.

Como o cultivo de milho é dependente de sementes e a produção de sementes está diretamente ligada a gametas viáveis, a seleção de populações-mães para a extração de linhagens endogâmicas de alta qualidade a partir da estabilidade meiótica poderá contribuir sobremaneira para o programa de formação de novos híbridos de milho forrageiro. Assim, a regularidade da meiose é imprescindível para a obtenção de sementes.

Informações diretamente relacionadas com aspectos citogenéticos e fertilidade do pólen são inexistentes para esta cultura. Neste sentido, o presente

estudo teve o objetivo de analisar a microsporogênese de híbridos simples e triplos de milho forrageiro disponíveis no mercado de sementes. Os híbridos selecionados foram obtidos por diferentes empresas de melhoramento e estão sendo avaliados como populações-mães para a obtenção de linhagens endogâmicas e formação de novos híbridos adaptados às condições edafoclimáticas do Estado do Paraná.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Origem e domesticação do milho

O milho é um cereal essencialmente americano, pois é nesse continente que se encontram os seus parentes selvagens mais próximos: o teosinto e o *Tripsacum*. Fora das Américas, não existem fósseis nem evidências linguísticas, históricas ou pictóricas de milho. Desde o início da agricultura nas Américas, o milho tem sido submetido à pressão seletiva pelo homem. É a planta cultivada que atingiu o mais elevado estágio de domesticação, uma vez que perdeu a característica de sobrevivência sem a intervenção do homem.

Paterniani e Goodman (1977) salientam que a grande diversidade genética encontrada na espécie *Zea mays* L., sem dúvida, pode ser considerada um exemplo de evolução que corresponde a mudanças nas frequências gênicas ao longo das gerações. Os fatores que contribuem para essas mudanças são seleção, mutação, oscilação genética, migração e hibridação. Provavelmente, todos esses fatores desempenharam papel maior ou menor no desenvolvimento das raças de milho. Entretanto, os dois fatores de maior importância são hibridação e seleção (Borém, 2005).

O milho, dentre as espécies originárias das Américas é, certamente, o de maior importância econômica e social em nível mundial, em termos de área semeada e de produção de grãos. No Brasil, o milho é cultivado em todos os estados da Federação e na maioria das propriedades agrícolas (Vilarinho, 2006). Desde as viagens de Colombo ao Novo Mundo, em 1492, já havia interesse por essa espécie. Embora possam ter ocorrido contatos anteriores de europeus com as Américas e provavelmente o milho tenha alcançado o Velho Mundo em época anterior, foi Colombo que, possivelmente, levou grãos de milho ao regressar à Espanha (Goodman, 1987).

Atualmente, a agricultura levou os pesquisadores a criar cultivares mais produtivas com características específicas para atendimento do mercado consumidor, da colheita mecânica, resistência a pragas e doenças, ciclo vegetativo, etc. A seleção intensiva por meio dos processos de melhoramento conduz invariavelmente ao estreitamento da variabilidade genética adequada para ser usada nos programas de melhoramento. No Brasil, o Banco Ativo de Germoplasma de milho (BAG milho) foi criado com a finalidade de suprir os programas de melhoramento com germoplasma que apresenta uma adequada diversidade e variabilidade genética da cultura. Tem como atividades principais a conservação da coleção a curto e médio prazo, além da caracterização, avaliação, coleta, intercâmbio e documentação do germoplasma. O BAG milho conta com 3767 acessos de *Zea mays* L. e sete acessos dos parentes próximos do milho (*Z. diploperennis*, *Z. mexicana* e *Tripsacum dactyloides*) (Andrade et al., 2010).

## **2.2. Importância do milho forrageiro**

O sucesso dos sistemas de produção da pecuária bovina está relacionado ao bom desempenho do potencial genético dos animais. Assim, para que ocorra o aproveitamento desse potencial genético há necessidade de se utilizar alimentos de elevada qualidade. A utilização de silagem na dieta é uma tecnologia que tem contribuído significativamente para incrementos nos índices produtivos do rebanho bovino e na redução dos custos operacionais do setor agropecuário. A silagem, no Brasil, é utilizada tanto para fazer a suplementação das pastagens na estação seca, bem como para ser o principal volumoso disponibilizado durante todo o ano para animais criados em sistemas intensivos (Correa, 2001; Gomes et al., 2004; Oliveira et al., 2004).

No sul do Brasil, durante os meses de abril a setembro, uma das maiores dificuldades da produção de leite é a escassez de alimentos. Neste período, as

pastagens reduzem seu crescimento devido às baixas temperaturas. Da mesma forma, nas áreas onde isso não ocorre, as pastagens são prejudicadas pela falta de chuvas. Neste ínterim, a quantidade e a qualidade das pastagens diminuem acentuadamente, reduzindo ou inviabilizando a produção de leite em escala comercial. Para amenizar esse problema, uma das alternativas apontadas para suprir o *deficit* alimentar, nos rebanhos mantidos em campo, é a utilização de silagem. Em meio às opções de forrageiras para ensilagem, o milho é cada vez mais recomendado (Oliveira, 2007), por apresentar grande produtividade de matéria seca, alto rendimento de massa verde por hectare, boa qualidade, relativa facilidade de fermentação no silo, além de bom valor nutritivo, boa aceitação por parte dos bovinos devido à boa digestibilidade e ganhos de pesos satisfatórios em confinamento (Gomes et al., 2002).

Em geral, a escolha de cultivares de milho para produção de silagem é feita observando as características agronômicas, como boa arquitetura foliar, alta produtividade de grãos, alta produção de matéria seca por hectare, alta relação grãos/massa seca, resistência a pragas e doenças, adaptação a condições edafoclimáticas, resistência ao acamamento, quebramento do colmo e ciclo vegetativo (Gomes, 2003).

De acordo com o último levantamento sobre a safra de grãos realizado (setembro/2008), a produção nacional de milho na safra 2008/09, foi estimada em 33,65 milhões de toneladas. As condições climáticas favoráveis durante o ciclo da cultura, aliadas à maior utilização de tecnologias, sementes selecionadas, melhor nível de adubação, entre outros fatores, levaram a esse quadro positivo. Do total produzido, a Região Sul participou com 47,90% (19,12 milhões de toneladas) (Ferreira, et al., 2010).

Estima-se que a área semeada com milho no Brasil, visando à produção de silagem é de aproximadamente de 1,3 milhões de hectares, o que equivale a aproximadamente 10% da área total (Silva, 2002). Todavia, os rendimentos nem sempre são satisfatórios, devido à escassez de cultivares específicas para essa finalidade. Contudo, além de conhecer as características agronômicas para se obter

melhor produtividade e extrair por meio da silagem à maximização da expressão do potencial genético dos animais, é de suma importância o conhecimento dos fatores intrínsecos da espécie.

### **2.3. Melhoramento do milho forrageiro**

Na safra 2009/10, foram disponibilizadas no mercado 325 cultivares de milhos convencionais e transgênicos. Entre elas, 49 novas cultivares, entre variedades e híbridos, substituíram 26 cultivares que deixaram de ser comercializadas, confirmando a dinâmica dos programas de melhoramento, a confiança do setor na evolução da cultura e a importância do uso da semente no aumento da produtividade. Uma análise crítica mostrou que, como nas últimas safras, verificou-se uma consolidação da predominância no número de híbridos simples, que representam hoje 54,26% das opções de mercado. Os híbridos simples e os triplos representam, atualmente, 78,74% das opções para os produtores, mostrando uma tendência na agricultura para melhor explorar o potencial genético desses milhos (Cruz e Pereira-Filho, 2010).

A eficiência do uso da silagem de milho na nutrição de ruminantes depende diretamente da qualidade da silagem, e esta, por sua vez, depende diretamente de atributos como qualidade da planta de milho, da contribuição das porções vegetativas e de grãos, do estágio de maturidade na colheita, da altura de colheita e principalmente das cultivares usadas (Deminicis et al., 2009).

Durante muito tempo, melhoristas e agricultores, com o objetivo de produzir silagem de qualidade, consideraram que uma boa cultivar de milho para produção de grãos era também adequada para a produção de silagem, devido a maior degradabilidade do grão em relação ao restante da planta. Entretanto, Coors et al. (1994) e Oliveira (1997) mostraram não haver correlação entre a porcentagem de grãos e a degradabilidade da parte vegetativa (haste com mais folhas) da silagem de milho. Para uma produção adequada de silagem é fundamental a recomendação de

cultivares com melhor qualidade e potencial produtivo para determinada região. Deve-se considerar, para produção de silagem de milho de boa qualidade, não somente o percentual de grãos na massa ensilada, mas também os demais componentes da planta como um todo. A seleção de híbridos para produção de silagem de milho vinha sendo baseada na produção de grãos, sendo que outros componentes importantes da planta como sabugo, colmo, folhas e palhas, não eram devidamente avaliados (Beleze et al, 2003).

Nos programas que visam à obtenção de milho forrageiro, a ênfase está no desenvolvimento de cultivares com maior produtividade de matéria seca e digestibilidade da silagem. Um dos métodos utilizados na avaliação da digestibilidade da silagem é a degradabilidade *in situ* da matéria seca, que avalia a degradação potencial e efetiva da forragem (Oliveira et al., 1999). Aplicações das informações diretamente relacionadas com o genótipo da cultivar são, atualmente, pouco utilizadas em relação à escolha do híbrido a ser empregado no processo de silagem. Porém, ressaltar essas informações no momento da seleção do milho a ser plantado poderá render maior produtividade do produto de ensilamento e melhor aproveitamento nutricional pelo rebanho.

Um objetivo importante nos programas de melhoramento de milho está no desenvolvimento de novas linhagens com alta capacidade de combinação para excelente rendimento dos grãos e um superior desempenho agrônomico na produção de híbridos. Assim, nestes programas, a escolha dos parentais é crucial, pois é a origem quem determina a constituição genética da população e possibilita a seleção de uma nova linhagem superior (Silva et al., 2007). Entretanto, a seleção de características agrônomicas superiores para o cruzamento, não deve ser o único atributo observado. A fertilidade do vegetal também deve ser levada em consideração, pois a produção de sementes está diretamente ligada aos gametas viáveis produzidos a partir de meiose regular.

Nos programas de melhoramento do milho é comum a utilização de híbridos comerciais, quer seja para a obtenção direta de linhagens ou para a formação de novas populações, devido ao fato desses materiais e suas linhagens parentais já terem sido amplamente avaliados e selecionados (Souza Sobrinho, 2001). A

produção de híbridos depende de linhagens endogâmicas estáveis e com boa viabilidade de pólen. A endogamia, por sua vez, coloca em homozigose genes que controlam o processo meiótico e anormalidades cromossômicas tendem a aparecer nas plantas autofecundadas.

Para o cultivo de milho é indispensável o uso de sementes e a produção destas está diretamente ligada à formação de gametas viáveis. A seleção de populações-mães para a extração de linhagens endogâmicas de alta qualidade a partir da estabilidade meiótica poderá influenciar sobremaneira um programa de formação de novos híbridos. Avaliações citogenéticas contribuem com subsídios sobre a divisão meiótica, fenômeno altamente integrado caracterizado pela ocorrência de acontecimentos peculiares, tais como a duplicação de cromossomos, pareamento de cromossomos homólogos, permuta genética, formação de quiasmas e disjunção cromossômica na primeira e segunda divisão meiótica, que precisam acontecer de forma precisa a fim de originar produto meiótico viável (Pagliarini, 1989). A regularidade de todos estes eventos é de suma importância, pois a viabilidade dos gametas e a fertilidade do indivíduo dependem da eficiência deste processo.

#### **2.4. Controle genético da meiose e produção de gametas viáveis**

A meiose, tipo de divisão celular que leva à redução do número de cromossomos durante o ciclo de vida de uma espécie, é controlada por um grande número de genes, geralmente dominantes, que se expressam em estágio, local e tempo específicos (Gottschalk e Kaul, 1974, 1980a, b; Baker et al., 1976; Golubovskaya, 1979, 1989).

Em milho são conhecidos inúmeros genes que afetam o curso normal da meiose (Golubovskaya, 1979, 1989; Golubovskaya et al., 1993). A ação de cada mutante ocorre sobre um ponto específico podendo envolver desde os estágios da

pré-meiose até a formação de grãos de pólen, causando muitos tipos de anormalidades meióticas. Muitos mutantes causam redução da fertilidade ou total esterilidade nas plantas afetadas. Todavia, certos mutantes meióticos apresentam características que podem ser usadas com sucesso em programas de melhoramento. Com particular importância, estão aqueles que induzem a formação de gametas não reduzidos, gametas aneuplóides, gametas sem recombinação genética, entre outros caracteres.

Muitas irregularidades meióticas têm sido observadas em milho, principalmente em linhagens autofecundadas. Cromossomos univalentes, por exemplo, são oriundos de segregação gênica para a frequência de quiasmas (Pagliarini, 1980, 1983; Pagliarini et al., 1986a, b; Pagliarini, 1989). Estudos demonstraram que a frequência de quiasmas está sob ação de um controle poligênico (Rees e Thompson, 1958; Pagliarini, 1980; Lein e Lelley, 1987). Assim, a autofecundação em plantas alógamas conduziria à segregação de genes e diferentes frequências de quiasmas poderiam aparecer em linhagens de mesma origem. A correlação entre a baixa frequência de quiasmas e a alta frequência de cromossomos univalentes foi descrita em linhagens de milho (Pagliarini, 1980, 1983; Pagliarini et al., 1986a, b; Pagliarini, 1989). A segregação irregular de cromossomos univalentes pode levar à formação de micrósporos aneuplóides.

Correlação negativa entre alta frequência de anormalidades meióticas e baixa capacidade de combinação foi observada em linhagens endogâmicas de milho (Pagliarini, 1989). Embora o milho forrageiro não seja selecionado para alta produção de grãos, é desejável que os grãos formados na polinização gerem plantas saudáveis.

Apesar dos inúmeros estudos citogenéticos já realizados em milho, informações diretamente relacionadas aos aspectos citogenéticos e fertilidade do pólen são inexistentes para milho forrageiro. Inúmeros híbridos desta cultura estão sendo avaliados em programa de melhoramento para a produção de linhagens endogâmicas para a formação de novos híbridos adaptados às condições edafoclimáticas do Estado do Paraná. Neste sentido, o presente estudo teve o

objetivo de analisar a microsporogênese de híbridos simples e triplos de milho forrageiro disponíveis no mercado de sementes, obtidos por diferentes empresas de melhoramento a fim de selecionar aqueles com maior estabilidade meiótica para comporem populações-mães como fonte de linhagens endogâmicas.

### 3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados seis híbridos comerciais de milho forrageiro sintetizados por diferentes empresas de melhoramento e comercialização de sementes. São eles: Garra (híbrido triplo - Syngenta Seeds Ltda); CD 304 (híbrido triplo – Coodetec, PR); SG 6010 (híbrido simples modificado - Sementes Guerra); P 30K64 (híbrido simples – DuPont do Brasil S.A.); P 30F53 (híbrido simples – DuPont do Brasil S.A.) e P 30R50 (híbrido simples – DuPont do Brasil S.A.). Estes híbridos vêm sendo empregados em programas de avaliação de cultivares de milho para silagem na região sul do Brasil e apresentam um bom desempenho para produção de grãos. Todos os genótipos estão disponíveis na coleção de germoplasma da Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Agronomia, Maringá, Paraná.

O material para análise meiótica foi plantado em dezembro de 2008 na Fazenda Experimental da Universidade Estadual de Maringá, localizada no distrito de Iguatemi, Maringá/PR.

As inflorescências masculinas foram coletadas na fase de embuchamento, ainda envolvidas pela folha bandeira, e fixadas em Carnoy (3 álcool etílico : 1 ácido acético) por 24 horas. Após esse período, o material foi lavado com álcool 70% e transferido para novo álcool 70%, sendo, em seguida, acondicionado sob refrigeração até o momento de se iniciar as análises meióticas. Os microsporócitos foram preparados pela técnica de esmagamento e corados com carmim propiônico a 1,0%.

Os dados foram analisados por meio da Estatística Descritiva. Para cada planta, foi analisado um número superior a 50 células para cada fase meiótica, compreendidas entre a prófase I e tétrade de micrósporos, amostradas em diferentes pontos da inflorescência. O número de células avaliadas entre os genótipos variou de 4.631 a 12.418. Todas as irregularidades foram consideradas. As anormalidades mais representativas foram fotografadas em filme branco e preto Kodak Imagelink, ASA 50.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise da microsporogênese dos seis híbridos de milho forrageiro, dentre eles quatro híbridos simples e dois híbridos triplos, mostrou algumas anormalidades cromossômicas durante a divisão. Algumas das anormalidades encontradas foram comuns a todos os genótipos, enquanto outras afetaram apenas alguns genótipos ou algumas plantas dentro de genótipo.

A meiose consiste em um conjunto de processos nucleares e citoplasmáticos que resultam na formação de gametas geneticamente viáveis. Todos os processos são diretamente controlados por um sistema de controle genético. Este sistema reduz a margem de erros durante a segregação meiótica de cromossomos por volta de  $10^{-3}$  a cada geração (Hawley, 1988). Porém, fatores ambientais e/ou genéticos podem determinar anormalidades que afetam a viabilidade do produto meiótico, resultando em baixa produtividade (Foy, 1974; Bodanese-Zanettini et al., 1983; Golubovskaya, 1989; Pagliarini et al., 2002).

### 4.1. Tipos e frequências das anormalidades meióticas

Durante a análise da microsporogênese de milho forrageiro foram encontradas anormalidades relacionadas à segregação irregular de cromossomos e ausência de citocinese em todos os híbridos. Citomixia e anormalidades na formação de fuso foram observadas em apenas algumas plantas de alguns genótipos. A Tabela 1 mostra o número de meiócitos analisados e afetados por anormalidades em cada genótipo. A Tabela também apresenta os tipos de anormalidades e a frequência em que ocorreram em cada genótipo analisado. O híbrido SG 6010 foi o que apresentou a menor frequência média de células anormais (21,27%), enquanto a maior frequência foi observada no híbrido P 30K64 (44,43%).

Tabela1: Número de células analisadas, número e percentagem de células anormais e tipos de anormalidades observadas em cada híbrido de milho forrageiro.

FASES	ANORMALIDADES	Garra			CD 304			SG 6010			P 30K64			P 30F53			P 30R50		
		Nº de PMCs* Analisadas	No de PMCs* anormais	%	No de PMCs* analisadas	No de PMCs* anormais	%	No de PMCs* analisadas	No de PMCs* anormais	%	No de PMCs* analisadas	No de PMCs* anormais	%	No de PMCs* analisadas	No de PMCs* anormais	%	No de PMCs* analisadas	No de PMCs* anormais	%
PI	univalentes	685	62	9,05	450	-	-	527	40	7,59	848	19	2,24	497	-	-	1171	273	23,31
	citomixia	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	27	3,18	-	-	-	-	-	-
MI	ascensão precoce	604	54	8,94	1117	276	24,71	501	-	-	622	-	-	1028	72	7,00	751	16	2,13
	bivalentes não orientados	-	-	-	-	-	-	-	16	3,19	-	26	4,18	-	-	-	-	-	-
	ausência de fuso	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	296	39,41
AI	cromossomos retardatários	425	-	-	740	29	3,92	420	-	-	469	-	-	503	-	-	341	-	-
TI	micronúcleos	1022	-	-	535	-	-	438	-	-	504	-	-	570	56	9,82	498	158	31,73
PII	ausência de citocinese	2553	1540	60,32	2765	1917	69,33	554	310	55,96	2443	1747	71,51	2946	1395	47,35	1279	408	31,90
MII	ascensão precoce	1434	37	2,58	1715	182	10,61	590	14	2,37	1601	28	1,75	1046	67	6,41	776	27	3,48
	ausência de citocinese	-	473	32,98	-	638	37,20	-	238	40,34	-	862	53,84	-	-	-	-	55	7,09
	fuso tripolar	-	29	2,02	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	núcleo de restituição	-	34	2,37	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AII	cromossomos retardatários	408	33	8,09	716	30	4,19	388	-	-	710	-	-	288	-	-	277	-	-
	ausência de citocinese	-	44	10,78	-	326	45,53	-	73	18,81	-	314	44,23	-	-	-	-	6	2,17
	fuso tripolar	-	19	4,66	-	10	1,40	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	fusos irregulares	-	29	7,11	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	núcleo de restituição	-	11	2,70	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TII	micronúcleos	2944	33	1,12	2479	285	11,50	663	-	-	4686	60	1,28	692	47	6,79	764	453	59,29
	ausência de citocinese	-	513	17,43	-	606	24,45	-	148	22,32	-	1525	32,54	-	36	5,20	-	10	1,31
	citocineses simultâneas	-	-	-	-	-	-	-	77	11,61	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	núcleo de restituição	-	1189	40,39	-	312	12,59	-	-	-	-	859	18,33	-	-	-	-	-	-
PM	mônades	839	18	2,15	760	-	-	550	-	-	535	-	-	600	-	-	733	-	-
	diádes binucleadas	-	119	14,18	-	22	2,89	-	69	12,55	-	13	2,43	-	41	6,83	-	-	-
	diádes não reduzidas (2n)	-	23	2,74	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	tétrades	-	153	18,24	-	36	4,74	-	-	-	-	37	6,92	-	-	-	-	-	-
	tétrades com micronúcleos políades	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	68	11,33	-	240	32,74
-	-	55	6,56	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
<b>Média de PM anormal</b>		839	368	43,86	760	58	7,63	550	69	12,55	535	50	9,35	600	109	18,17	733	240	32,74
<b>Média geral de anormalidades</b>		<b>10914</b>	<b>4468</b>	<b>40,94</b>	<b>11277</b>	<b>4669</b>	<b>41,40</b>	<b>4631</b>	<b>985</b>	<b>21,27</b>	<b>12418</b>	<b>5517</b>	<b>44,43</b>	<b>8170</b>	<b>1782</b>	<b>21,81</b>	<b>6590</b>	<b>1942</b>	<b>29,47</b>

\*PMCs: *pollen mother cells*; PI: Prófase I; MI: Metáfase I; AI: Anáfase I; TI: Telófase I; PII: Prófase II; MII: Metáfase II; AII: Anáfase II; TII: Telófase II; PM: Produto meiótico

#### 4.1.1. Segregação irregular dos cromossomos

Nos híbridos analisados foram observados alguns aspectos da segregação irregular de cromossomos decorrentes da ausência da formação de quiasmas, levando à formação de cromossomos univalentes (Figura 1). Um (Fig. 1 a) ou dois pares de cromossomos univalentes (Fig. 1 b) foram encontrados em algumas células de quatro dos híbridos analisados, com frequência variando entre 2,24% a 23,31%. A formação de quiasmas é uma característica submetida à ação de um controle poligênico (Rees e Thompson, 1957; Pagliarini, 1980; Lein e Lelley, 1987). Segundo Gottschalk (1987), outras duas categorias de genes podem causar falhas na sinapse permitindo a ocorrência de segregação irregular. Os genes *as* (assinápticos) causam assinapse ou falha no pareamento, enquanto os genes *ds* (dessinápticos) causam dessinapse, ou seja, separaram cromossomos homólogos já pareados. Estes genes, quando presentes, afetam todos os bivalentes e não apenas alguns pares, como observado nos híbridos em estudo. Assim, sugere-se que os cromossomos univalentes observados nos híbridos em análise resultaram da falta da formação de quiasmas decorrente da ausência de permuta genética entre cromossomos homólogos.

Os quiasmas, além de representarem eventos de recombinação genética entre os cromossomos parentais, são fundamentais para garantir a estabilidade meiótica, pois mantêm os cromossomos homólogos unidos até o início da anáfase I para que haja uma perfeita segregação para pólos opostos. Cromossomos univalentes tendem a apresentar ascensão precoce para os pólos (Fig. 1c). Cromossomos retardatários em anáfase I, também observados entre os híbridos analisados (Fig. 1 f), em geral resultam de quiasmas intersticiais ou quiasmas que estiveram impedidos de terminalização por efeito, por exemplo, de blocos heterocromáticos. A frequência, a localização e a terminalização de quiasmas são determinados por controles genéticos distintos (Rees e Thompson, 1957; Pagliarini, 1989).

Outra forma de segregação irregular foi representada pela presença de bivalentes não orientados na placa metafásica (Fig. 1 d, e) em uma frequência inferior a 5% afetando apenas os híbridos SG 6010 e P 30K64. No início de ambas

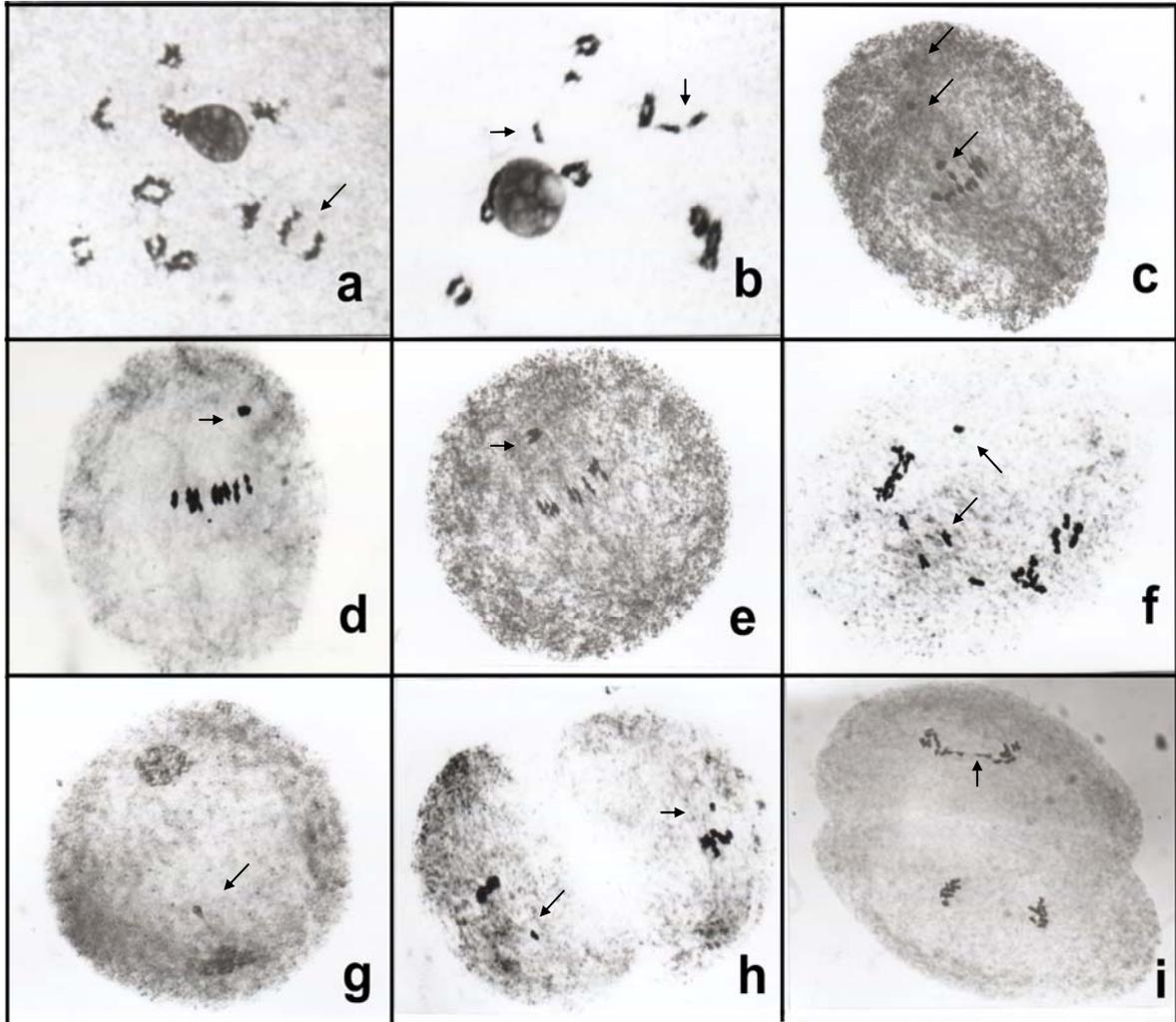
as divisões da meiose, um complexo especializado de proteínas em cada cromátide, conhecido como cinetócoro, captura microtúbulos vindos dos dois pólos. Para que a segregação seja regular, cada cromossomo homólogo na meiose I e cada cromátide irmã na meiose II devem ligar-se aos microtúbulos dos pólos opostos (Sluder e McCollum, 2000). Segundo Nicklas (1997), bivalentes não orientados resultam de cinetócoros parceiros que arrastam os cromossomos ao mesmo pólo.

Quando não incluídos nos núcleos telofásicos, os bivalentes não orientados e os cromossomos em ascensão precoce podem formar micronúcleos na telófase I (Fig. 1g), os quais podem permanecer na segunda divisão. Cromossomos em ascensão precoce (Fig. 1h) ou retardatários (Fig. 1i) foram observados também na segunda divisão meiótica. Apenas os híbridos P 30F53 e P 30R50 apresentaram tétrades com micronúcleos, mostrando que nos demais híbridos os cromossomos com segregação irregular foram incluídos nos núcleos telofásicos, tornando o produto meiótico normal.

#### **4.1.2. Ausência de citocinese**

Ausência da primeira citocinese após a telófase I (Figura 2), uma anormalidade decorrente de falha na formação do fragmoplasto durante a divisão, foi observada em diferentes frequências entre os híbridos analisados (Tabela 1). No processo normal da meiose, depois das duas segregações dos cromossomos (cariocinese) e duas divisões do citoplasma (citocinese), aparecem as tétrades de micrósporos, células haplóides revestidas pela parede de calose. O tempo da citocinese varia entre as angiospermas. Na maioria das plantas monocotiledôneas, a citocinese é sucessiva, ou seja, a primeira divisão do citoplasma ocorre após a telófase I e a segunda após a telófase II, enquanto nas dicotiledôneas, é simultânea e ocorre após a telófase II (Peirson et al., 1996).

A ausência de citocinese é geneticamente controlada. O gene *va* (*variable sterile*), descrito por Beadle (1932), provoca citocinese parcial ou ausente. Na



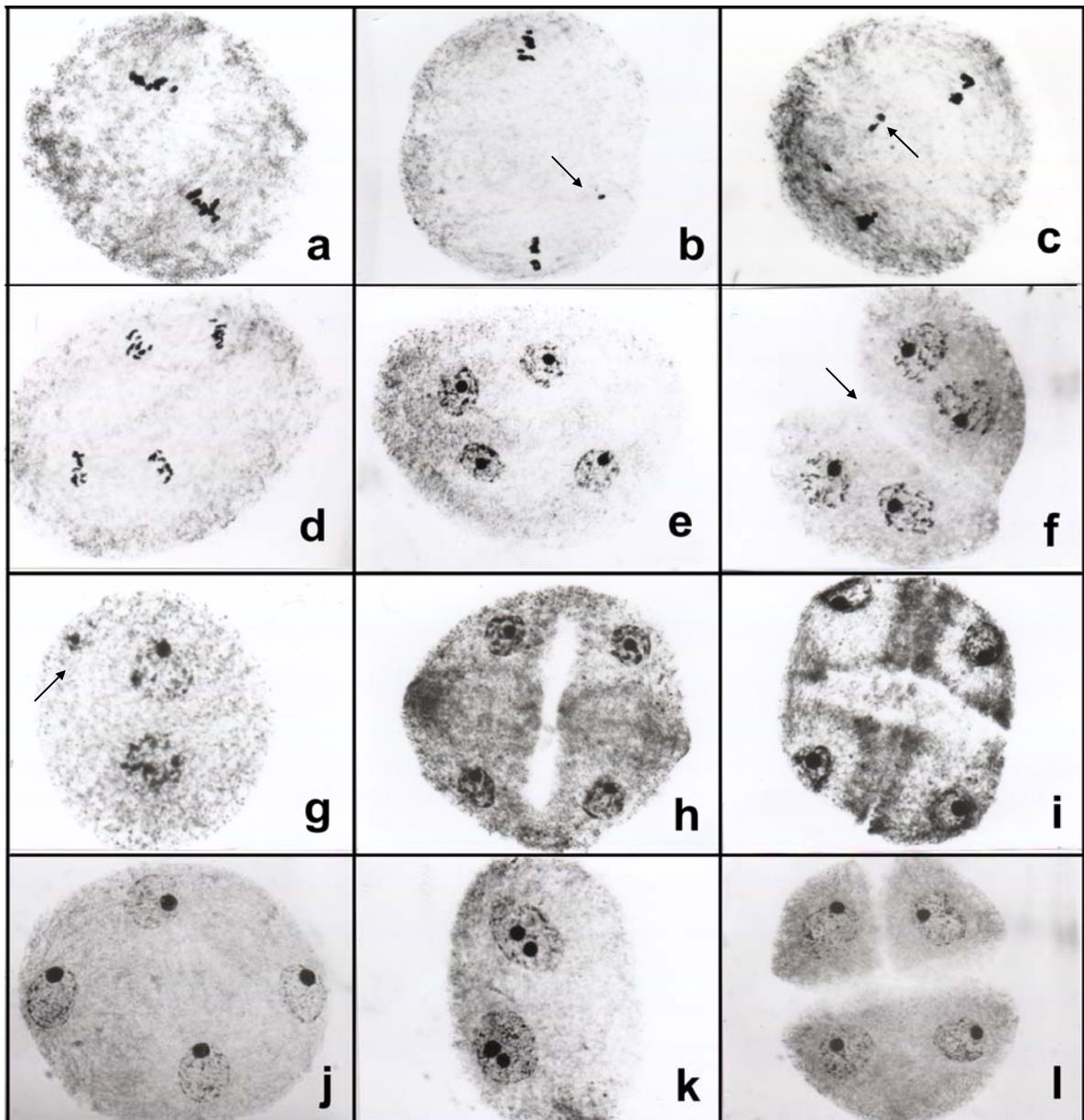
**Figura 1.** Aspectos da segregação irregular de cromossomos nos híbridos analisados. a, b) Microsporócitos com um (a) e dois (b) pares de cromossomos univalentes. c) Metáfase I com cromossomos em ascensão precoce. d, e) Metáfases I com bivalentes não orientados. f) Anáfase I com cromossomos retardatários. g) Telófase I com micronúcleo. h) Metáfase II com cromossomos em ascensão precoce. i) Anáfase II com cromossomos retardatários.

presença do alelo *va1*, ocorre distúrbio da primeira e segunda citocinese, resultando em quatro núcleos *n* em um único citoplasma, enquanto o alelo *va2* promove citocinese anormal somente durante a meiose I. O gene *el* (*elongate*), descrito por Rhoades e Dempsey (1966), por outro lado, induz a desespiralização cromossômica, provoca citocinese imperfeita, interrompendo a segunda divisão. Ausência de citocinese total ou parcial em milho foi também descrita por Miller (1963).

Nos híbridos em estudo, embora a ausência de citocinese tenha sido mais frequente após a primeira divisão (Fig. 2 a-e), houve falha também após a segunda divisão (Fig. 2 j-l). Quando há falha apenas da primeira citocinese, e a segunda ocorre normalmente (Fig. 2 f), há formação de micrósporo binucleados (Fig. 2 g), que darão origem a grãos de pólen binucleados. Entretanto, quando há ausência de ambas as citocineses, mônades tetranucleadas são formadas (Fig. 2 j). Tríades com um micrósporo binucleado também foram observadas (Fig. 2 l) e são decorrentes da ausência da segunda citocinese em apenas um dos micrósporos.

A frequência de produtos meióticos anormais derivados de ausência de citocinese foi bem inferior àquela esperada, pois um grande número de meiócitos sofreu citocinese simultânea após a telófase II (Fig. 2 h, i), gerando tétrades normais. Especialmente no híbrido SG 6010, este fenômeno ocorreu em 11,61% das células. As análises citogenéticas realizadas nos seis híbridos comerciais de milho forrageiro mostraram que a ausência da primeira citocinese, se corrigida durante as fases posteriores, não interfere no produto final e as anormalidades decorrentes da divisão irregular não causariam prejuízo na fertilidade da planta.

Ausência de citocinese e citocinese anormal têm sido amplamente descritas em gramíneas dos gêneros *Brachiaria* (Risso-Pascotto et al., 2003; Utsunomiya et al., 2005, Boldrini et al., 2006, Adamowski et al., 2007; Calisto et al., 2008) e *Paspalum* (Pagliarini et al., 1999) e responsabilizadas pela alta frequência de indivíduos poliplóides.



**Figura 2.** Aspectos da ausência de citocinese nos híbridos analisados. a, b, c) Metáfases II com ausência de citocinese e segregação irregular de cromossomos (b, c). d, e) Anáfase II (d) e telófase II (e) com ausência de citocinese. f) Telófase II exibindo apenas uma citocinese. g) Micrósporo binucleado com micronúcleo. h, i) Telófase II exibindo citocinese simultânea. j) Mônade resultante de ausência total de citocinese. k) Micrósporo binucleado resultante de ausência de uma citocinese e formação de núcleo de restituição. l) Tríade resultante da ausência de citocinese em uma das células em telófase II.

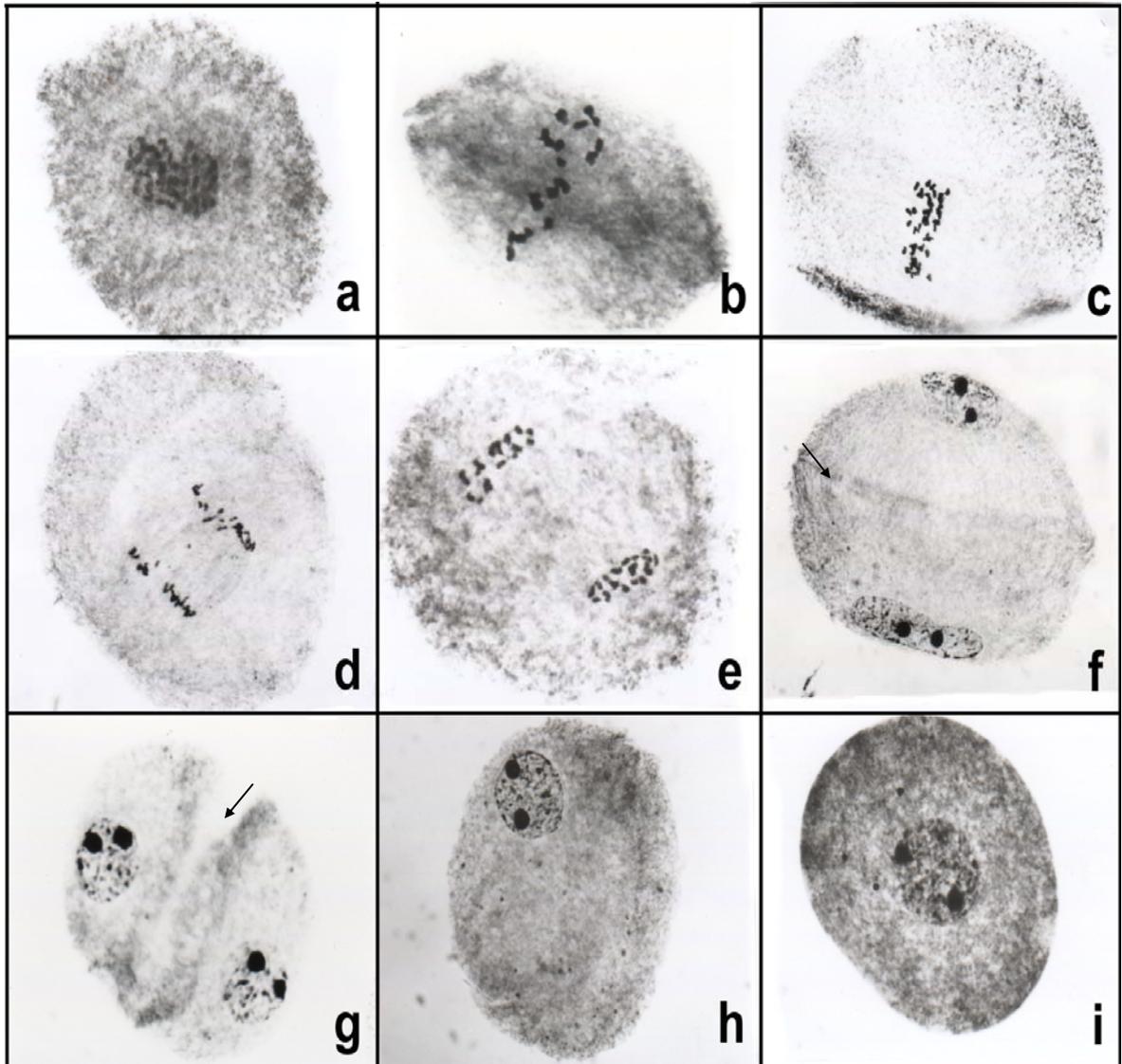
### **4.1.3. Núcleos de restituição**

A ausência da primeira citocinese pode facilitar o aparecimento de outras anormalidades durante a segunda divisão. No híbrido Garra, a ausência da primeira citocinese predispôs a formação de núcleos de restituição na segunda divisão, causada pela reunião dos dois conjuntos cromossômicos já segregados (Figura 3). Metáfases II com 20 cromossomos na placa metafásica (Fig. 3 b, c), anáfases II (Fig. 3 d) e telófases II (Fig. 3 e) com 20 cromátides segregadas foram observadas. Outra comprovação de que houve formação de núcleos de restituição foi dada pela presença de dois nucléolos nos núcleos de telófase II (Fig. 3 f, g). Estes meiócitos, após sofrerem citocinese ao término da telófase II, deram origem a dois micrósporos não reduzidos (Fig. 3h), que se transformaram em grãos de pólen  $2n$  (Fig. 3 i), facilmente visualizados pela presença de dois nucléolos.

A ausência de citocinese levando à formação de gametas  $2n$  tem sido descrita em inúmeras espécies vegetais (Veillux, 1985; Ferris et al., 1992; Bretagnolle e Thompson, 1995; Pagliarini et al, 1999). Gametas não reduzidos têm sido descritos como os principais responsáveis pelos eventos de poliploidização amplamente observados em plantas superiores.

### **4.1.4 . Fuso tripolar**

Como visto anteriormente, a ausência da primeira citocinese pode facilitar o aparecimento de outras anormalidades durante a segunda divisão. Nos híbridos Garra e CD 304, a ausência da primeira citocinese predispôs meiócitos à formação de fuso tripolar na metáfase II (Fig. 4 a). A convergência de fusos para um único pólo reúne cromossomos já segregados na primeira divisão, formando núcleos de restituição ( $2n$ ). Telófases trinucleadas (Fig. 4 b, c) e tríades com um núcleo de restituição foram observadas. A comprovação de que houve formação de núcleos de restituição foi dada pela presença de dois nucléolos nestes núcleos de telófase II (Fig. 4 c). Estes meiócitos, após sofrerem citocinese ao término da telófase II,



**Figura 3.** Aspectos da formação de núcleos de restituição no híbrido Garra. a) Prófase II com núcleo de restituição. b) Metáfase II com 20 cromossomos na placa metafásica. c) Anáfase II inicial. d) Anáfase II com 20 cromátides. e) Telófase II com 20 cromossomos em cada pólo. f) Telófase II com núcleo de restituição (observe a presença de dois nucléolos em cada núcleo) e início de citocinese. g) Telófase II com núcleo de restituição e uma citocinese completa. h) Micrósporo  $2n$  resultante da formação de núcleo de restituição. i) Grão de pólen  $2n$ .

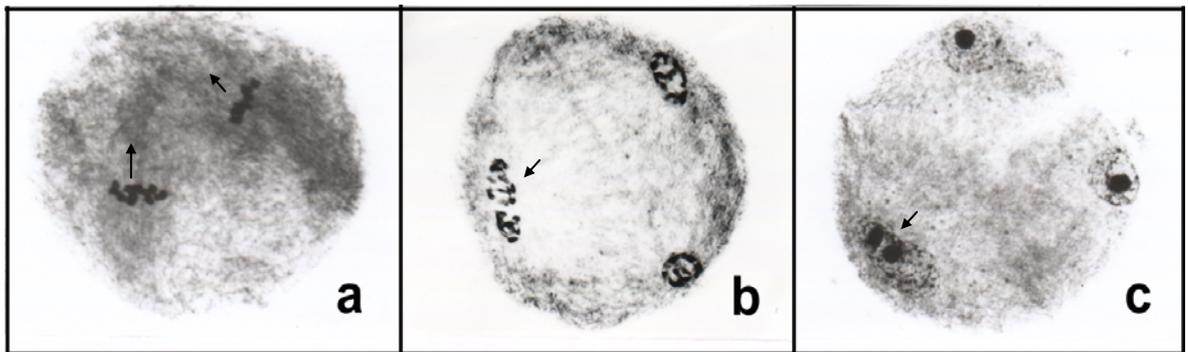
deram origem a três micrósporos, sendo um não reduzido ( $2n$ ) e dois reduzidos ( $n$ ), que se transformaram em grãos de pólen  $2n$  e  $n$ , respectivamente, facilmente diferenciados pela presença de dois ou um nucléolo. Um total de 18,24% dos produtos meióticos foi caracterizado pelas tríades no híbrido Garra.

Fusos tripolares durante a segunda divisão meiótica da microsporogênese têm sido descritos em inúmeras espécies e são responsáveis pela formação de gametas  $2n$  (Tavoletti et al., 1991; Caetano-Pereira et al., 1998; Utsunomiya et al., 2005; Gallo et al., 2007). Gametas não reduzidos ( $2n$ ) têm papel importante em programas de melhoramento quando indivíduos poliplóides são desejados.

#### **4.1.5. Segregação irregular decorrente de dessinapse**

Uma forma especial de anormalidade meiótica foi observada em três plantas no híbrido P 30R50. Neste híbrido, a meiose foi normal até a diacinese, apresentando quiasmas terminais e intersticiais. Entretanto, em muitas células foi encontrado a presença de inúmeros cromossomos univalentes (Fig. 5 a). Após esta fase, os cromossomos homólogos se separaram e 20 cromossomos podiam ser contados dispersos pelo citoplasma, totalmente isolados ou formando grupos (Fig. 5 b, c). Estes cromossomos não demonstraram habilidade para se ligar às fibras do fuso, de modo que cada um, isoladamente (Fig. 5 d), ou em grupos (Fig. 5e, f, g), formou diferentes números de núcleos telofásicos com diferentes tamanhos. Após esta fase, os meiócitos multinucleados iniciaram o processo de citocinese única (Fig. 5 i, j), a qual os dividiu em políades com inúmeros micrócitos de diferentes tamanhos e número de micronúcleos (Fig. 5 k), gerando grãos de pólen anormais com inúmeros micronúcleos (Fig. 5 l).

Além do controle poligênico que opera sobre a frequência de quiasmas, outras duas categorias de genes podem causar falhas na sinapse permitindo a ocorrência de segregação irregular (Gottschalk, 1987). Os genes *as* (assinápticos) causam assinapse ou falha no pareamento, enquanto os genes *ds* (dessinápticos) causam dessinapse, ou seja, separaram cromossomos homólogos já pareados.



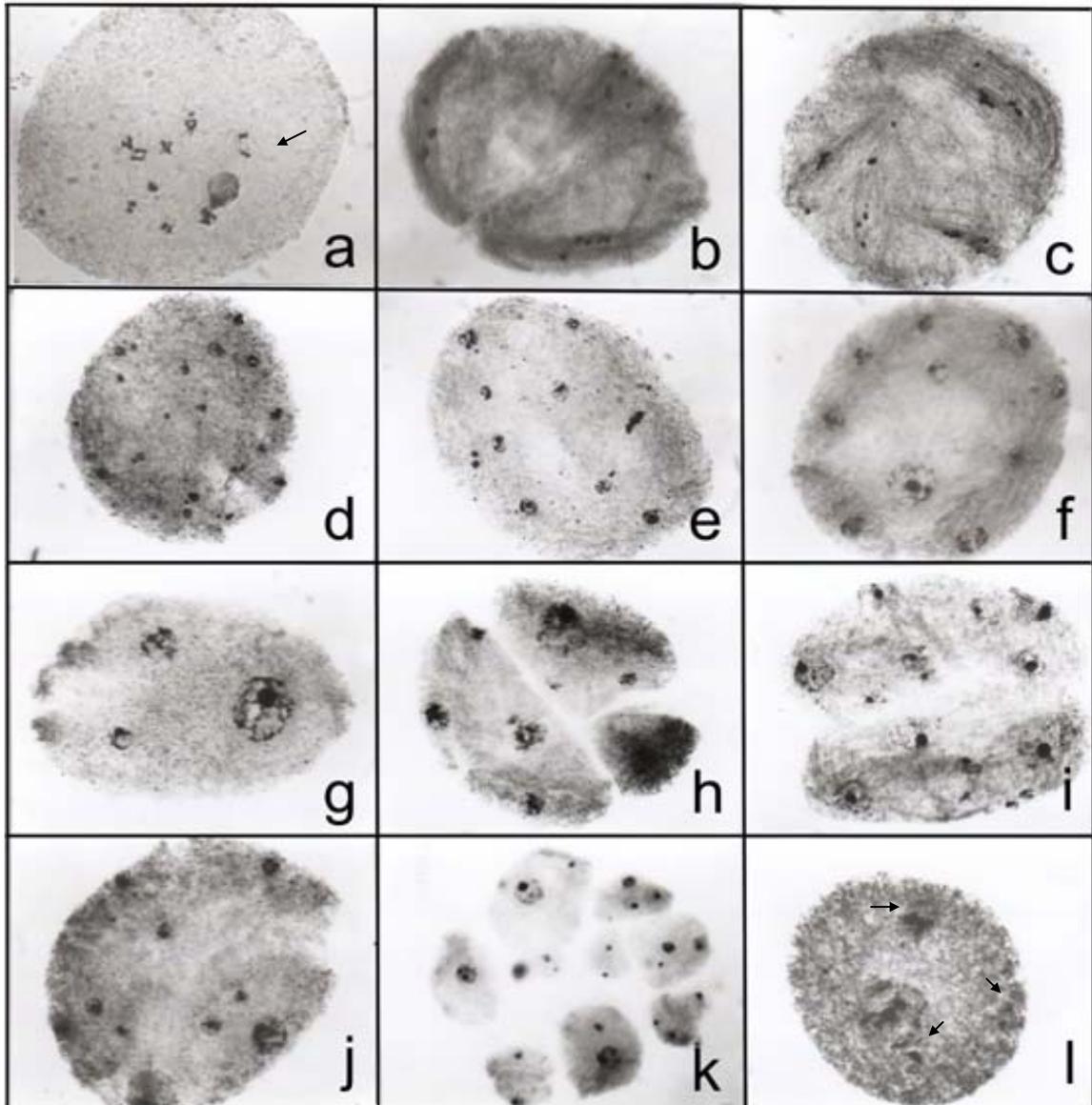
**Figura 4.** Aspectos da formação de fuso tripolar no híbrido Garra. a) Metáfase II com fuso tripolar. b) Telófase II trinucleada, sendo um dos núcleos restituído (2n). c) Telófase II trinucleada com início de citocinese. Observe a presença de dois nucléolos no núcleo restituído.

Em mutantes dessinápticos, a meiose geralmente é anormal pela falta de quiasmas para assegurar a perfeita disjunção dos cromossomos, mas, em geral, estes têm capacidade de ligar-se às fibras do fuso.

Relatos sobre distúrbios nos fusos durante a meiose são apresentados por vários pesquisadores (Baker et al., 1976; Golubovskaya, 1979, 1989; Gottschalk e Kaul, 1980a, b; Koduru e Rao, 1981; Pagliarini, 1990; Pagliarini et al., 1992; Taschetto e Pagliarini, 1993). A maior frequência de fusos anormais está relacionada a fusos múltiplos. Outros genes, como o *dv* (*divergent spindle*) (Clark, 1940; Golubovskaya e Mashnenkov, 1981; Pagliarini, 1989), o gene *ms28*, que causa a despolimerização das fibras do fuso (Golubovskaya e Distanova, 1986) e o gene *ms43* que promove distúrbios no funcionamento e estrutura do fuso (Golubovskaya e Sitnikova, 1980) têm sido descritos em milho. Uma mutação muito semelhante à observada nestes híbridos foi descrita também em um híbrido duplo de milho por Taschetto e Pagliarini (1993). Neste híbrido, a meiose também foi normal até a diacinese, porém os cromossomos homólogos permaneceram pareados, ou seja, não houve dessinapse. Os bivalentes dispersaram-se pelo citoplasma e não houve ligação dos mesmos com as fibras do fuso. Isolados ou em grupos, os bivalentes formaram núcleos de diferentes tamanhos espalhados pelo citoplasma. Em seguida, uma citocinese dividiu o meiócito em políades com micrócitos de diferentes tamanhos.

#### **4.1.6. Citomixia**

Meiócitos com cromossomos adicionais (Fig. 6 a, b) ou com perda parcial (Fig. 6 c, d) ou total de cromossomos (Fig. 6 f), resultantes de transferência de cromossomos entre células vizinhas na meiose ou nas mitoses pré-meióticas foram encontrados em poucas células (3,18%) de uma planta do híbrido P 30K64. A



**Figura 5.** Aspectos da segregação irregular decorrente de dessinapse. a) Diacinese normal com quismas terminais e intersticiais e presença de um par de cromossomos univalentes. b, c) Microsporócitos com 20 cromossomos alocados aleatoriamente no citoplasma. Observe a intensa rede citoplasmática de microfilamentos. d, e, f, g) Telófases I com diferentes números de núcleos. Em d, 20 núcleos podem ser visualizados. h, i, j) Telófase I com citocinese completa (h, i) e inicial (j). k) Produto final da meiose. l) Grão de pólen com micronúcleos.

transferência de cromossomos entre células vizinhas é conhecida como citomixia. Embora a citomixia não tenha sido observada diretamente no presente híbrido, as células com cromossomos extras ou perda de cromossomos deixam clara a sua existência em alguma fase não identificada. Para que ocorra a passagem do material genético entre as células adjacentes deve haver a formação de um canal visível em células em estágios da meiose. Este canal provavelmente é originado em forma de pequenas projeções que se alongam até entrar em contato com a célula vizinha. A parede da célula permite dissolver alguns pontos de contato formando uma passagem para a cromatina ou transferência de cromossomos (Caetano-Pereira e Pagliarini, 1997).

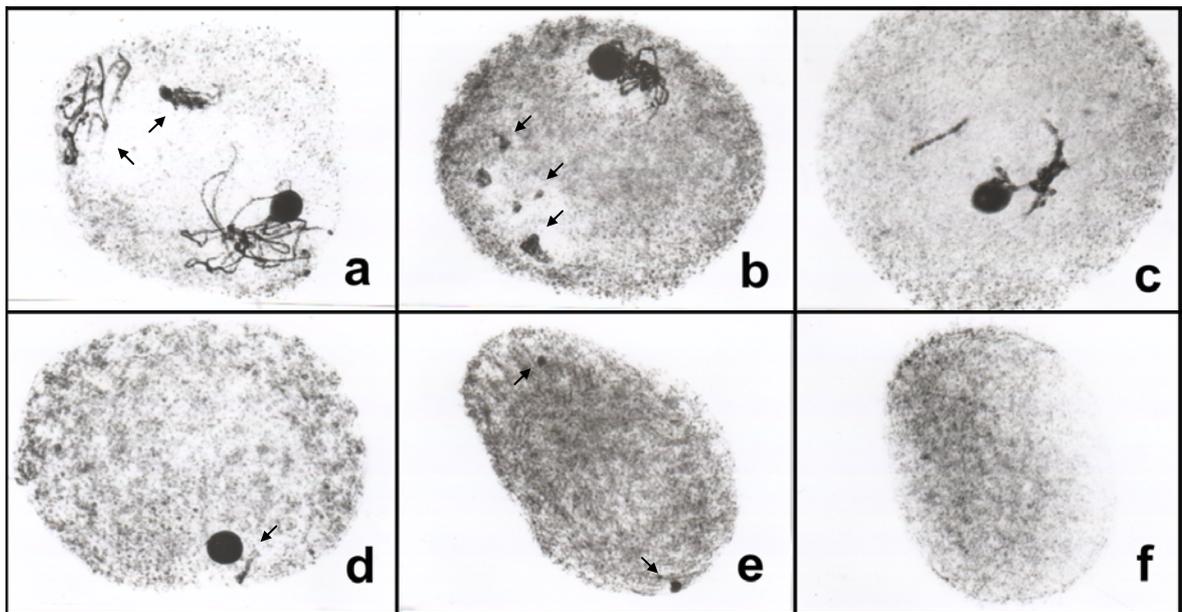
Esse fenômeno pode ocorrer devido a diferentes fatores (Nirmala e Kaul, 1994). Sarvella (1958) expõe que a migração do complemento genômico através da citomixia causa a variação no número de cromossomos originando plantas aneuplóides ou poliplóides. A mixoploidia pode interferir negativamente no potencial reprodutivo do vegetal e contribuir para redução da viabilidade através da indução de outras anormalidades, como degeneração dos meiócitos ou variação no número de cromossomos. Em microsporócitos de milho o fenômeno foi descrito por McClintock (1929) e Caetano-Pereira et al. (1997).

#### **4.2. Avaliação geral dos resultados**

Os processos de divisão celular obedecem a uma série de fatores intrínsecos capazes de garantir sua normalidade. O curso normal e harmônico da meiose, controlado geneticamente, assegura a formação de gametas viáveis. Muitos mutantes meióticos já são conhecidos em diferentes espécies de plantas (Gottschalk e Kaul, 1974, 1980a, b; Baker et al. 1976; Golubovskaya, 1979, 1989, 1993).

Em milho são conhecidos inúmeros genes que afetam o curso normal da meiose (Golubovskaya, 1979, 1989, 1993), sendo que a maioria deles pode afetar a viabilidade do produto final da meiose, podendo, inclusive, causar total esterilidade.

Pesquisas realizadas em diferentes espécies vegetais têm demonstrado que a



**Figura 6.** Microsporócitos resultantes de citomixia. a, b) Microsporócito em paquíteno com cromossomos extras. c, d) Diplótenos com perda de cromossomos. Observe a presença de apenas um cromossomo e nucléolo em d. e) Microsporócito com dois micronúcleos. f) Microsporócito anucleado.

produção de sementes está diretamente relacionada à regularidade meiótica (Moraes-Fernandes et al., 1982; Bodanese-Zanettini et al., 1983; Pagliarini, 2002).

Love (1949, 1951), sugeriu que um programa de melhoramento em cereais deveria sempre vir acompanhado de uma análise citogenética contínua, a fim de se eliminar plantas com meiose instável e que pudessem comprometer a estabilidade da futura cultivar.

Plantas alógamas ou híbridos, por serem heterozigóticas, em geral, apresentam meiose estável (Pagliarini, 1983, 1989; Pagliarini et al., 2002; Defani-Scoarize et al., 1995, 1996). Quando autofecundadas, a homozigose gênica tanto de genes maiores como de poligenes, leva ao aparecimento de inúmeras características que estavam ocultas, inclusive aquelas relacionadas ao comportamento meiótico, e inúmeras anormalidades começam a aparecer, comprometendo o produto final da meiose. Alta frequência de anormalidades meióticas tem sido descrita em linhagens endogâmicas de milho (Pagliarini, 1983, 1986 a, b; Pagliarini et al., 1989 e 2002; Defani-Scoarize, 1995, 1996). Em milho, Pagliarini (1989) demonstrou que a frequência de quiasmas é menor e a frequência de vários tipos de anormalidades meióticas é maior nas linhagens com baixa capacidade de combinação.

Nos híbridos em estudo, a alta frequência de anormalidades meióticas foi, a princípio, surpreendente, pois em se tratando de genótipos heterozigóticos, anormalidades não eram esperadas. Ausência de citocinese é uma anormalidade, de longa data, já descrita em milho (Beadle, 1932; Miller, 1963; Rhoades e Dempsey, 1966). É surpreendente que todos os híbridos tenham apresentado esta anormalidade, porém em diferentes frequências. Este fato nos leva a sugerir que estes híbridos, embora obtidos por diferentes empresas de melhoramento, tenham algum parental comum.

Embora a ausência de citocinese tenha ocorrido em todos os híbridos, podendo levar à formação de díades binucleadas, e comprometendo o produto final da meiose, este comprometimento foi amenizado pelo fato de uma segunda citocinese tardia acontecer na maioria delas, levando à formação de tétrades normais.

Segregação irregular de cromossomos, caracterizada pela presença de

cromossomos em ascensão precoce nas metáfases e retardatários nas anáfases, também pode se constituir em uma anormalidade sem muito comprometimento para o produto meiótico se, nas telófases, os cromossomos forem incluídos nos núcleos.

Citomixia, uma anormalidade que compromete sobremaneira o produto final da meiose por formar gametas aneuplóides, hiperplóides ou poliplóides, ocorreu em apenas uma planta do híbrido P 30K64 em baixa frequência. Por outro lado, as anormalidades encontradas nos híbridos P 30R50, relacionada à dessinapse, CD 304 e Garra, ligada a falha de ligação dos cromossomos às fibras do fuso, pode ser muito mais comprometedora por ter características de ser geneticamente controlada e afetar um grande número de células.

O híbrido SG 6010 foi o que apresentou a menor frequência média de células anormais (21,27%), enquanto a maior frequência foi observada no híbrido P 30K64 (44,43%). Todavia, quando se compara apenas a frequência de produtos meióticos anormais, esta cai drasticamente para a maioria dos genótipos analisados, passando a variar de 7,36% no híbrido CD 304 a 43,86% no híbrido Garra. Levando-se em consideração a percentagem de produtos meióticos anormais e, por conseguinte, a estabilidade meiótica, recomenda-se que apenas os híbridos CD 304, P 30K64, SG 6010 e P 30F53 permaneçam no programa de melhoramento para obtenção de linhagens endogâmicas.

## 5. CONCLUSÃO

- . A análise da microsporogênese dos seis híbridos comerciais de milho forrageiro, obtidos por quatro empresas de melhoramento, revelou a presença de diversos tipos de anormalidades meióticas, porém em frequências variadas entre eles;
- . segregação irregular em ambas as divisões, caracterizada pela migração precoce ou tardia de cromossomos para os pólos, levando à formação de micronúcleos, foi observada em todos os híbridos;
- . ausência da primeira citocinese após a telófase I também ocorreu em todos os híbridos;
- . núcleos de restituição na metáfase II em meiócitos que não sofreram a primeira citocinese, reunindo cromossomos segregados e levando à formação de díades não reduzidas ( $2n$ ), foram observados no híbrido Garra;
- . fusos tripolares na segunda divisão de meiócitos que não sofreram a primeira citocinese, reunindo dois conjuntos cromossômicos segregados e levando à formação de um núcleo de restituição ( $2n$ ), levando à formação de tríades, também foram observados no híbrido Garra.
- . na maioria dos meiócitos, as díades resultantes da ausência da primeira citocinese sofreram uma segunda citocinese tardia levando à formação de tétrades normais;
- . segregação irregular de cromossomos decorrente de dessinapse e falta de ligação às fibras do fuso levando à formação de políades;
- . presença de material genético adicional ou perda total ou parcial do material genético, resultante de citomixia, foi observada em poucos meiócitos de apenas uma planta do híbrido P 30K64;

. a percentagem média de meiócitos anormais entre os híbridos analisados variou de 21,27% no híbrido SG 6010 a 44, 43% no híbrido P 30K64. Todavia, quando se comparou apenas a percentagem de produtos meióticos anormais, esta caiu drasticamente para a maioria dos genótipos analisados, passando de 7,63% no híbrido CD 304 a 43,86% no híbrido Garra.

. a taxa de anormalidades encontrada foi muito superior à esperada para genótipos heterozigotos quando comparada a dados da literatura.

. algumas anormalidades, como ausência de citocinese, raramente descritas em milho, foram observadas em todos os híbridos, sugerindo que os mesmos possam ter algum parental comum.

Levando-se em consideração a percentagem de produtos meióticos anormais e, por conseguinte, a estabilidade meiótica, para fins de início de obtenção de endogamia, os híbridos poderiam ficar assim escalonados: CD 304 (7,63%); P 30K64 (9,35%); SG 6010 (12,55%) e P 30F53(18,17%). Os híbridos P 30R50 (32,74%) e Garra (43,86%) devem ser descartados do programa de melhoramento para obtenção de linhagens por apresentarem alta instabilidade meiótica.

## 6. REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

ADAMOWSKI, E.V.; BOLDRINI, K.R.; PAGLIARINI, M.S.; VALE, C.B. Abnormal cytokinesis in microsporogenesis of *Brachiaria humidicola* (Poaceae: Paniceae). **Genet. Mol. Res.**, 6: 616-621, 2007.

ANDRADE, R.V.; MARTINS-NETTO, D.A.; SOUZA, F.R.S.; LEITE, C.E.P. **Recursos genéticos de milho: BAG milho.** Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/milho/bagmilho.php> Acesso em: 05, janeiro, 2010.

BAKER, B.S.; CARPENTER, A.T.C.; ESPOSITO, M.S.; ESPOSITO, R.E.; SANDLER, L. The genetic control of meiosis. **Annu. Rev. Genet.**, 10:53-134, 1976.

BEADLE, G.W. A gene in *Zea mays* for failure of cytokinesis during meiosis. **Cytologia**, 3:112-133, 1932.

BELEZE, J.R.F., ZEOULA, L.M.I., CECATO, U. Avaliação de cinco híbridos de milho (*Zea mays*, L.) em diferentes estádios de maturação, produtividade, características morfológicas e correlações. **Rev. Bras. Zoot.**, 32: 529-537, 2003.

BODANESE-ZANETTINI, M.H.; MORAES-FERNANDES, M.I.B.; SALZANO F.M. Genetic and environmental effects on the frequency of meiotic disturbances in wheat. **Rev. Bras. Genet.**, 6:43-57, 1983.

BOLDRINI, K.R.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Abnormal timing of cytokinesis in microsporogenesis in *Brachiaria humidicola* (Poaceae: Paniceae). **J. Genet.**, 85: 225-228, 2006.

BORÉM, A. **Melhoramento de Espécies Cultivadas**. 2. ed. Viçosa: Editora UFV, 2005. v. 1. 969 p.

BRETAGNOLLE, F.; THOMPSON, J.D. Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants. **New Phytol.**, 129:1-22, 1995.

CAETANO-PEREIRA, C.M.; PAGLIARINI, M.S. Cytomixis in maize microsporocytes. **Cytologia**, 62:351-355, 1997.

CAETANO-PEREIRA, C.M.; DEFANI-SOARIZE, M.A.; PAGLIARINI, M.S.; BRASIL, M.E. Syncytes, abnormal cytokinesis and spindle irregularities in maize microsporogenesis. **Maydica**, 43:235-242, 1998.

CALISTO, V.; FUZINATTO, V.A.; MESSAGE, H.J.O.; MENDES-BONATO, A. B.; BOLDRINI, K. R.; PAGLIARINI, M. S.; VALLE, C.B. Desynapsis and precocious cytokinesis in *Brachiaria humidicola* (Poaceae) compromise meiotic division. **J. Genet.**, 87: 27-31, 2008.

CLARK, F.J. Cytological and genetic studies of sterility in inbred and hybrid maize. **Conn. Agric. Exp. Station.**, 465:704-726, 1940.

COORS, J.G.; CARTER, P.R.; HUNTER, R.B. Silage corn. In: HALLAUER, A.R. **Specialty corns**. Boca Raton: CRC Press. 1994. p.305-340.

CORREA, C.E.S. **Silagem de milho ou de cana-de-açúcar e o efeito da textura do grão de milho no desempenho de vacas holandesas**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. 102. Tese (Doutorado em Nutrição de Ruminantes).

CRUZ, J.C.; PEREIRA-FILHO, I. A. **Milho – Cultivares para 2009/2010**  
Disponível em: <http://www.cnpms.embrapa.br/milho/cultivares/index.php> Acesso em: 18, janeiro, 2010.

DEFANI-SCOARIZE, M.A.; PAGLIARINI, M.S.; AGUIAR, C.G. Causes of partial male sterility in an inbred maize line. **Cytologia**, 60: 311-318, 1995.

DEFANI-SCOARIZE, M.A.; PAGLIARINI, M.S.; AGUIAR, C.G. Meiotic behavior of inbred lines of maize (*Zea mays L.*). **The Nucleus**, 39: 10-18, 1996.

DEMINICIS, B.B.; VIEIRA, H.D.; JARDIM, J.G.; ARAÚJO, S.A. do C.; CHAMBELA-NETO, A.; OLIVEIRA, V.C.; LIMA, E.S. **Silagem de milho - Características agronômicas e considerações**. Disponível em: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n070709/070903.pdf>. Acesso em: 01, julho, 2009.

FERREIRA, A.S.; MELHORANÇA, A.L.; COELHO, A.M.; ANDRADE, C.L.T. de; CASELA, C.R.; GUIMARÃES, D.P. KARAM, D.; SANTANA, D.P. KONZEN, E.A.; LANDAU, E.C.; OLIVEIRA, E.; MANTOVANI, E.C.; FERNANDES, F.T.; PEREIRA, F.T.F.; FREIRE, F.M.; DURÃES, F.O.M.; MELO-FILHO, G.A. de; PITTA, G.V.E.; PEREIRA-FILHO, I.A.; CRUZ, I.; SANTOS, J.P. dos; DUARTE, J.O.; GARCIA, J.C.; VIANA, J.H.M.; WALQUIL, J.M.; MAGALHÃES, J.V. de; HERNANI, L.C.; SANS, L.M.A.; MATTOSO M.J.; FONSECA, M.J.O.; OLIVEIRA, M.F.; GONTIJI-NETO, M.M.; RESENDE, M.; ALMEIDA-PINTO, N.F.J.; VIANA, P.A.; MAGALHÃES, P.C.; ALBUQUERQUE, P.E.P. de; ALVARENGA, R.C.; BRITO, R.A.L.; MATRANGOLO, W.J.R.; ALVES, V.M.C. **Cultivo do milho**. <http://www.cnpms.embrapa.br/publicacoes/milho/index.htm>. Acesso em: 18, janeiro, 2010.

FERRIS, C.; CALLOW, R.S.; GRAY, A.J. Mixed first and second division restitution in male meiosis of *Hierochloe odorata* (L.) **Heredity**, 69:21-31, 1992.

FOY, C.D. Effects of aluminium on plant growth. In: Carson E.W. **The Plant Root and its Environment**. Univ. Press Virginia, Charlottesville, 1974. p. 601-642.

GALLO, P.H. MICHELETTI, P.L.; BOLDRINI, K.R.; RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. 2n gamete formation in *Brachiaria* (Poaceae: Paniceae). **Euphytica**, 154: 255-260, 2007.

GOLUBOVSKAYA, I.N. Genetic control of meiosis. **Int. Rev. Cytol**, 58: 247-290, 1979.

GOLUBOVSKAYA, I.N.; SITNIKOVA, D.V. Three *mei*-mutation in maize impairing the segregation of homologous chromosomes. **Genetika**, 656-665, 1980.

GOLUBOVSKAYA, I.N.; MASHENKOV, A.S. Genetic control of chromosome segregation during the first meiotic division. **Maize Genet. Coop. News Letter**, 58: 78-81, 1981.

GOLUBOVSKAYA, I.N.; DISTANOVA, E.E. Mapping *mei*-gene ms 43 by B-A translocation stocks. **Genetika**, 1986. p. 1173-1180.

GOLUBOVSKAYA, I.N. Meiosis in maize: *mei* genes and conception of genetic control of meiosis. **Adv. Genet.**, 26: 149-192. 1989.

GOLUBOVSKAYA, I.N.; GREBENNIKOVA, Z.K., AVALKINA, N.A., SHERIDAN, W.F. The role of the ameiotic 1 gene in the initiation of meiosis and in subsequent meiotic events in maize. **Genetics**, 135:1151–1166 1993.

GOMES, M.S.; VON PINHO, R.G.; OLIVEIRA, J.S.; VIANA, A.C. Avaliação de cultivares de milho para a produção de silagem: parâmetros genéticos e interação genótipos por ambientes. In: **Congresso Brasileiro de Melhoramento de Plantas**, 1. Goiânia: Embrapa Arroz e Feijão. 2002. Documentos 113. CD-ROM.

GOMES, M.S. **Valor genético de linhagens de milho na produção e digestibilidade da silagem**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2003. 135p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

GOMES, M.S.; PINHO, R.G.V.; RAMALHO, M.A.P.; FERREIRA, D.V.; BRITO, A. Variabilidade genética em linhagens de milho nas características relacionadas com a produtividade de silagem. **Pesq. Agrop. Bras.**, 39: 879-885, 2004.

GOODMAN, M.M. História e origem do milho. In: Melhoramento e produção de milho In: **Melhoramento e produção de milho**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 3-38.

GOTTSCHALK, W.; KAUL, M.L.R. The genetic control of microsporogenesis in higher plants. **The Nucleus**, 17: 133-166, 1974.

GOTTSCHALK, W.; KAUL, M.L.R. Synapsis and desynapsis in flowering plants. I. Asynapsis. **The Nucleus**, 23: 1-15, 1980a.

GOTTSCHALK, W.; KAUL, M.L.R. Synapsis and desynapsis in flowering plants. II. Desynapsis. **The Nucleus**, 23: 97-120, 1980b.

GOTTSCHALK, W. Different intensity of the action of desynaptic genes on micro and macrosporogenesis. **Cytologia**, 52: 653-656, 1987.

HAWLEY, R.S. Exchange and chromosomal segregation in Eucaryotes. In: KUCHERLAPTI, R.; SMITH, G.R., Washington, 1988. **American Society for Microbiology, DC**. Washington: Genetic recombination, 1988. p 497-527.

KODURU, P.R.K.; RAO, M.K. Cytogenetics of synaptic mutants and fertility interrelationships in prairie *Bromus inermis* Leyss. populations. **Cytologia**, 59: 747-757, 1981.

LEIN, V.; LELLEY, T. A separate control for frequency and distribution of chiasma in rye (*Secale cereale* L.). **Genome**, 29:419-424, 1987.

LOVE, R. A. **Estudos citológicos preliminares de trigos Riograndenses**. Circular nº 74. Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, p. 14, 1949.

LOVE, R.A. Varietal differences in meiotic chromosome behavior of Brazilian wheats. **Agron. J.**, 43: 72-76, 1951.

McCLINTOCK, B. Chromosome morphology in *Zea mays*. **Science**, 629, 1929.

McDONALD, P. **The biochemistry of silagem**. Bath: Pitman Press, 1981, 226p.

MILLER, O.I. Cytological studies in asynaptic maize. **Genetics**, 43: 1445-1466, 1963.

MORES-FERNANDES, M.I.B. Estudo da instabilidade meiótica em cultivares de trigo. Efeito genotípico, relação com fertilidade e seleção de plantas estáveis. **Pesq. Agrop. Bras.**, 17: 1177-1191, 1982.

NICKLAS, R.B. How cells get the right chromosomes. **Science**, 275: 632-637, 1997.

NIRMALA, C.; KAUL, M.L.H. Male sterility in pea. VI. Gene action duplicity. **Cytologia**, 59: 195-201, 1994.

OLIVEIRA, J.S.; BRAGA, R.A.N.; LOPES, F.C.F; VITTORI, A.; RESENDE, H. Avaliação da qualidade da planta de milho para silagem. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA. **Anais**. Juiz de Fora: SBZ, 1997, p.161-163.

OLIVEIRA, J.S.; FERREIRA, R.P. de, CRUZ C.D.; PEREIRA, A.V.; LOPES, F.C.F. Adaptabilidade e estabilidade de cultivares de milho para silagem em relação à produção de matéria seca degradável no rúmen. **Rev. Bras. Zoot**, 28: 230-234, 1999.

OLIVEIRA, J.S.; SOUZA SOBRINHO, FERNANDES, S.B.V.; WÜNSCH, J.A.; LAJÚS, C.A.; DUFLOTH, J.H.; ZANATTA, J.C.; MOLETTA, J.L.; PEREIRA, A.V.; LEDO, F.J.S.; BOTREL, M.A.; AUAD, M.V. Estratificação de ambientes, adaptabilidade e estabilidade de híbridos comerciais de milho para silagem no sul do Brasil. **Ciência Rural**, 34: 997-1003, 2004.

OLIVEIRA, J.S. **Avaliação de cultivares de milho para silagem: resultados do ano agrícola 2002/2003.** Disponível em: <https://www.cileite.com.br/livraria/publicacoes/CT78.pdf>. Acesso em: 25, novembro, 2007.

PAGLIARINI, M.S. **Controle genético da frequência de quiasmas em milho (*Zea mays L.*)**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1980. 113p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

PAGLIARINI, M.S. Correlação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação em linhagens autofecundadas de milho (*Zea mays* L.): uma análise prévia. **Rev. Unimar**, 5: 37-46, 1983.

PAGLIARINI, M.S. GERALDI, I.O.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R. de. Análise da frequência de quiasmas no cruzamento dialélico entre linhagens de milho com alta e baixa capacidade de combinação. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Maceió, 1984. **Anais**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS. 1986a. p.189-194.

PAGLIARINI, M.S.; MIRANDA-FILHO, J.B.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R. Correlação entre frequência de quiasmas e capacidade de combinação em linhagens autofecundadas de milho. In: CONGRESSO NACIONAL DE MILHO E SORGO. Maceió, 1984. **Anais**. Sete Lagoas: EMBRAPA/CNPMS. 1986b. p.183-188.

PAGLIARINI, M.S. **Avaliação da frequência de quiasmas em milho (*Zea mays* L.) e suas implicações com a capacidade de combinação para a produção de grãos**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, 1989. 190p. Tese (Doutorado em Agronomia).

PAGLIARINI, M.S. Instabilidade meiótica em *Thunbergia mysorensis* (Acanthaceae). **Ciência e Cultura**, 42: 83-87, 1990.

PAGLIARINI, M. S.; MARTINEZ, M.; SILVA, N.; SILVA, I. Some observations on the cytology in *Ochna* sp. (Ochnaceae). **Cytologia**, 57: 237-240, 1992.

PAGLIARINI, M.S.; TAKAYAMA, S.Y. FREITAS, M.P.; CARRARO, L.R.; ADAMOWSKI, E.V.; SILVA, N.; BATISTA, L.A.R. Failure of cytokinesis and 2n gamete formation in Brazilian accessions of *Paspalum*. **Euphytica**, 108: 129-135,

1999.

PAGLIARINI, M.S.; DEFANI, M.A.; MEIRELLES, W.; PEREIRA, J.E. Recurrence of multiple meiotic abnormalities in maize genotypes from the same origin and their influence on productivity. **Crop Breed. Appl. Biotechnol.**, 2: 355-360, 2002.

PATERNIANI, E. and GOODMAN, M.M. **Races of maize in Brazil and adjacent areas**. Mexico City: CIMMYT, 1977. 95 p.

PEIRSON, B.N. OWEN, H.A. FELDMANN, K.A.; MAKAROFF, C.A. Characterization of three male-sterile mutants of *Arabidops thaliana* exhibiting alterations in meiosis. **Sex. Plant Reprod.**, 9: 1-16, 1996.

REES, H.; THOMPSON, J.B. Genotypic control of chromosome behavior in rye III. Chiasma frequency in homozygotes and heterozygotes. **Heredity**, 10: 409-424, 1956.

REES, H.; THOMPSON, J.B. Genotypic control of chromosome behavior in rye.V. The origin of new variation. **Heredity**, 11: 185-193, 1957.

REES, H.; THOMPSON, J.B. Genotypic control of chromosome behavior in rye. V. The distribution pattern of chiasmata between pollen mother cells. **Heredity**, 12: 1001-111, 1958.

RHOADES, M.M.; DEMPSEY, E. Induction of chromosome doubling at meiosis by the *elongate* gene in maize. **Genetics**, 54: 505-522, 1966.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; MENDES-BONATO, A.B. Chromosome number and microsporogenesis in pentaploid accession of *Brachiaria brizantha* (Gramineae). **Plant Breed.**, 122: 136-140, 2003.

SARVELLA, P. Cytomixis and the loss of chromosomes in meiotic and somatic cells of *Gossypium*. **Cytologia**, 23: 14-24, 1958.

SILVA, P.C. **Seleção recorrente recíproca e cruzamentos dialélicos em milho (*Zea mays* L.) para a obtenção e avaliação de híbridos forrageiros**. Jaboticabal: Universidade Estadual de São Paulo, 2002. 92p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

SILVA, M.F.P.T.B. da; LOPES, E.F.; PAGLIARINI, M.S.; SCAPIM, C.A. Effects of endogamy on microsporogenesis in popcorn (*Zea mays* L.). **Crop Breed. Appl. Biotechnol.**, 7: 321-326, 2007.

SLUDER, G.; McCOOLUM, D. The mad ways of meiosis. **Science**, 289: 254-255, 2000.

SOUZA SOBRINHO, F. **Divergência genética de híbridos simples e alternativas para a obtenção de híbridos duplos de milho**. Lavras: Universidade Federal de Lavras, 2001. 96p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

TASCETTO, O.M.; PAGLIARINI, M.S. Description of a new type of meiotic abnormality in maize (*Zea mays* L.). **Maydica**, 38: 47-50, 1993.

TAVOLETTI, S.; MARIANI, A.; VERONESI, F. Cytological analysis of macro- and microsporogenesis of a diploid alfafa clone producing male and female 2n gametes. **Crop Sci.**, 31: 1258-1263, 1991.

UTSUNOMIYA, K.S.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Microsporogenesis in

tetraploid accessions of *Brachiaria nigropedata* (Ficalho and Hiern) Stapf (Gramineae). **Biocell**, 29: 295-301, 2005.

VEILLEUX, R. Diploid and polyploid gametes in crop plants: mechanisms of formation and utilization in plant breeding. **Plant Breed. Rev.**, 3: 253-288, 1985.

VILARINHO, A.A. **Densidade e espaçamento como fatores de produtividade na cultura do milho**. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – Embrapa Roraima. 2006.

ZAGO, C.P. Cultura de sorgo para produção de silagem de alto valor nutritivo. In: SIMPÓSIO SOBRE NUTRIÇÃO DE BOVINOS, Piracicaba, 1991. Tema: Milho e sorgo para alimentação de bovinos. **Anais**. Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luís de Queiroz, 1991. 169-217.

# Livros Grátis

( <http://www.livrosgratis.com.br> )

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)  
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)  
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)  
[Baixar livros de Matemática](#)  
[Baixar livros de Medicina](#)  
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)  
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)  
[Baixar livros de Meteorologia](#)  
[Baixar Monografias e TCC](#)  
[Baixar livros Multidisciplinar](#)  
[Baixar livros de Música](#)  
[Baixar livros de Psicologia](#)  
[Baixar livros de Química](#)  
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)  
[Baixar livros de Serviço Social](#)  
[Baixar livros de Sociologia](#)  
[Baixar livros de Teologia](#)  
[Baixar livros de Trabalho](#)  
[Baixar livros de Turismo](#)