

***Urochloa brizantha*: MUTAÇÃO INDUZIDA - UMA NOVA ABORDAGEM NO MELHORAMENTO DE PLANTAS PARA ESTA ESPÉCIE**

Nelson Barbosa Machado Neto¹, Raphael Sanches Hernandez Alves², Disney Venturian², Estela Gonçalves Danelon², Camila Baptistão Zaniboni², Ceci Castilho Custódio¹

1- Docentes PPG Agronomia Unoeste, 2- Discentes da PPGA e Graduação Unoeste
nbmneto@unoeste.br

PROBLEMÁTICA

O gênero *Urochloa* é largamente utilizado como forrageira em diversos ambientes, sendo muitos dos materiais tolerantes a estresses abióticos como alumínio e pH ácido, bem como ambientes com baixa disponibilidade nutricional. Todavia, todos os cultivares liberados até hoje são oriundos de plantas apomíticas, ou seja, as sementes produzidas não são de origem sexual. Esta falta de variabilidade genética tem limitado o melhoramento, por não permitir cruzamentos entre plantas distintas, originando programas de melhoramento robustos que possam produzir novos cultivares. Alguns materiais lançados como híbridos tem também grande limitação genética, pois são derivados de um único acesso diploidizado de *U. ruziziensis*, tendo então uma base genética estreita. A indução de mutação em *U. brizantha* é saída viável e bastante eficaz na geração de novos materiais para seleção de novos tipos de forrageiras.

CONHECIMENTO PRÉVIO

Ethylmethanosulfonato (EMS) é um potente e eficiente mutagênico hidrossolúvel (AMINI, 2014), facilmente manipulável e neutralizado (GECHEV et al., 2013) utilizado em diversas culturas por permitir o aparecimento de características como sexualidade, mudança de hábito de crescimento e perda de degrana (PASCUAL-VILLALOBOS et al., 1994; NAIK; MURTHY, 2009; BASU et al., 2008; HOHMANN et al., 2005; GAUR et al., 2008; LIU et al., 2005; LUAN et al., 2007; BORREL, 2012) e inclusive em *Urochloa* (FOLLMANN et al., 2016), e que permite a obtenção de novas variantes a partir de um cultivar elite (GULSEN et al., 2007). Assim, o uso de indução de mutação em espécies forrageiras apomíticas será de grande importância para o desenvolvimento de novos materiais.

DESCRIÇÃO DA PESQUISA

Sementes de *U. brizantha* 'Marandu' foram utilizadas como base. O experimento consistiu em inicialmente construir uma curva de toxidez de etilmetano sulfonato (EMS) e obter a dose letal 50 (LD₅₀), dose essa que causaria mortalidade em 50% da população. Uma vez determinada a LD₅₀, um lote de 28.500 sementes (geração M₀, 87,5% de germinação) foi submetido ao tratamento de EMS por 24 horas em agitação. Após esse tempo, a solução contendo EMS foi drenada, neutralizada com hidróxido de sódio 3M (GECHEV et al., 2013) e descartada apropriadamente.

As sementes foram semeadas em bandejas de 288 células, contendo substrato agrícola (Carolina®) à base casca de pinus, fibra de coco e terra vegetal, misturado com polímero retentor de água na proporção de 50:1 (volume:volume). Duas sementes (geração M₁) foram semeadas por célula. As bandejas foram

colocadas em casa telada e irrigadas diariamente. As plântulas sobreviventes obtidas, foram transplantadas no campo num esquema de uma linha de plantas controle (Marandú) para cada cinco de plantas M₁. As plantas foram observadas e selecionadas para critérios de largura de limbo foliar, pilosidade, altura ou hábito de crescimento. As plantas selecionadas tiveram as panículas cobertas com sacos de tecido não tecido (TNT) em duas ocasiões, antes da emergência da folha bandeira e após a emergência da folha bandeira, o que poderia levar ao conhecimento de sexualidade nas plantas, gerando duas linhas irmãs, uma de polinização aberta e outra de polinização protegida. Colheram-se 341 progênies que foram plantadas em outro campo, mas como grupos de progênies contendo bordaduras do cultivar Marandú e uma linha deste a cada cinco linhas de mutantes.

A análise bromatológica foi executada em todas as linhas do campo, determinando-se teores de proteína, lignina, celulose e hemicelulose em cada um dos acessos aos 35, 70, 105 e 140 dias após o corte de igualamento, executado 45 dias após o transplante das mudas, cortando-se todas as plantas a 25 cm do solo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

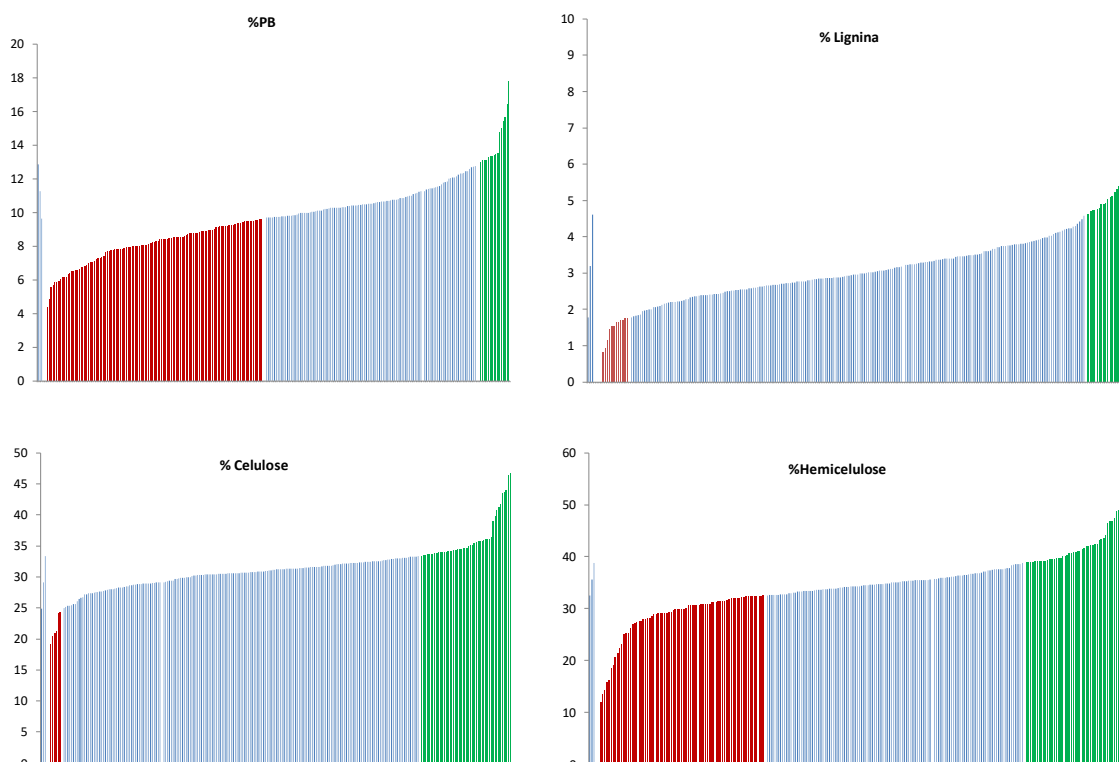


Figura 1. Variação de características bromatológicas, proteína, lignina, celulose e hemicelulose de 242 mutantes de *U. brizantha* obtidos por uso EMS. Linhas vermelhas são valores menores que um desvio padrão, linhas azuis iguais a média \pm um desvio padrão e linhas verdes são valores maiores que um desvio padrão.

A análise bromatológica foi feita nos 242 materiais que sobreviveram no campo, e demonstrou que existe variação para os teores proteína bruta, lignina, celulose e hemicelulose (Figura 1). Todavia, a metodologia de determinação dos teores de lignina precisou ser definida e como apresentavam dados variáveis entre as

duas metodologias disponíveis, utilizou-se a que mais estabilidade de resultados apresentava, como citado por FUKUSHIMA et al. (2000).



Figura 2. Alguns fenótipos selecionados na população de mutantes de de *U. brizantha* obtidos por uso EMS. A – Pilosidade densa; B e C – plantas decumbentes; D – Linhas irmãs mostrando diferença no vigor das progênies de algumas plantas de progênies de panículas cobertas após a emergência e antes da emergência da folha bandeira.

A seleção com base em fenótipos é eficaz para selecionar diferentes tipos de plantas dentro da população de mutantes obtida.

APLICAÇÃO PRÁTICA

Existe variabilidade selecionável para teores de lignina, proteína bruta, hemicelulose e celulose (Figura 1), para hábito de crescimento (Figura 2) e ciclo (precoce/tardio) e o que permite ampla gama de opções, desde plantas para produção de forragem até plantas para serem utilizadas apenas em cobertura de solo.

AGRADECIMENTOS

A CAPES pelas bolsas de mestrado a RSHA, Doutorado a CBZ e EGD, ao CNPq pela bolsa PIBIC a DV e a bolsa DT-2 concedida a NBMN, e a FAPESP pelo auxílio a pesquisa 2012/14241-7.

LITERATURA CITADA

- AMINI, M. Ethyl Methanesulfonate. **Encyclopedia of Toxicology: Third Edition**, p. 522–524, 2014.
- FUKUSHIMA, R. S. et al. Extração da lignina e emprego da mesma em curvas de calibração para a mensuração da lignina em produtos vegetais. **Rev. Bras Zootec**, v. 29, p. 1302–1311, 2000.
- GECHEV, T. et al. A Simple and Powerful Approach for Isolation of Arabidopsis Mutants with Increased Tolerance to H₂O₂-Induced Cell Death. **Methods in Enzymology**, v. 527, p. 203–220, 2013.
- GULSEN, O. et al. Development of seedless and Mal Secco tolerant mutant lemons through budwood irradiation. **Sci. Hort.**, v. 112, n. 2, p. 184–190, 26 mar. 2007.
- PASCUAL-VILLALOBOS, M.J.; ROBBELEN, G.; CORREAL, E. Production and evaluation of indehiscent mutant genotypes in *Euphorbia lagascae*. **Ind. Crops and Products**, v. 3, p. 129-143. 1994.
- NAIK, P.M.; MURTHY, H.N. The effects of gamma and ethylmethanesulphonate treatments on agronomical traits of niger (*Guizotia abyssinica* Cass.). **African J. Biotech.**, v. 8, p. 4459-4464, 2009.
- BASU, S.K.; ACHARYA, S.N.; THOMAS, J.E. Genetic improvement of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum* L.) through EMS induced mutation breeding for higher seed yield under western Canada prairie conditions. **Euphytica**, v.160, p. 249–258, 2008.
- HOHMANN, U.; JACOBS, G.; JUNG, C. An EMS mutagenesis protocol for sugar beet and isolation of non-bolting mutants. **Plant Breeding**, v. 124, p. 317-321. 2005.
- FOLLMANN, D.N., et al. Induction of genetic variability and plant development in palisade grass evaluated in M2 mutants. **African J Agric Res**, v.11, p.3210-3216, 2016.
- GAUR, P.M.; KRISHNAMURTHY L.; KASHIWAGI J. Improving drought avoidance root traits in chick-pea (*Cicer arietinum* L.). Current status of research at ICRISAT. **Plant Prod Sci**, v.11, p.3-11, 2008.
- BORRELL, B. Plant biotechnology: Make it a decaf. The enduring quest for a coffee bean without the buzz. **Nature**, v.483, p.264–266, 2012.
- LIU, S. et al. In vitro mutation and selection of doubled-haploid *Brassica napus* lines with improved resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. **Plant Cell Rep.**, v. 24, p. 133-144, 2005.
- LUAN, Y.S. ZHANG, J.; GAO, X-R.; AN, L.-J. Mutation induced by ethyl methanesulphonate (EMS), in vitro screening for salt tolerance and plant regeneration of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.). **Plant Cell, Tissue and Organ Culture**, v.88, p. 77-81. 2007.