

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO**

ANA CAROLINE CASALVARA DOS SANTOS

Análise citogenética em acessos de *Paspalum atratum* (Poaceae)

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2013**

ANA CAROLINE CASALVARA DOS SANTOS

Análise citogenética em acessos de *Paspalum atratum* (Poaceae)

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.

Prof^a Dr^a Maria Suely Pagliarini.

**MARINGÁ
PARANÁ – BRASIL
FEVEREIRO – 2013**

“Deus dá a todos uma estrela.
Uns fazem da estrela um sol.
Outros nem conseguem vê-la.”
Helena Kolody.

Aos meus pais, Alexandre Casalvara e Élide Tavares Casalvara, por tanto amor,
dedicação e incentivo.

Ao meu esposo, Claudio Pereira dos Santos, e à minha filha, Isadora Pereira dos
Santos, pelo apoio e compreensão por tantos momentos de ausência.

Ao irmão, Antônio Cláudio Casalvara, pelas palavras de incentivo.

À minha prima/irmã, Tatiany Fontoura França, pelo exemplo a seguir, pelo ombro
amigo e apoio em todos os momentos.

Ao meu sogro, José Pereira dos Santos Neto, e à minha sogra, Helena Rigueti
Pereira dos Santos, pela ajuda, carinho e cuidados dedicados à minha família.

Aos amigos que sempre me motivaram frente às adversidades.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento (PGM), por possibilitar meus estudos e o desenvolvimento da pesquisa científica.

Em especial, à minha orientadora, professora doutora Maria Suely Pagliarini, pela confiança, estímulo, paciência e dedicação durante o desenvolvimento desse trabalho, mas principalmente pelo exemplo de garra, responsabilidade e capacidade. Muito obrigada!

Ao Dr. Francisco H. Dübbern de Souza, pesquisador da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária Pecuária Sudeste, pela concessão do material analisado.

À professora doutora Andréa Beatriz Mendes Bonato, pelo apoio, sugestões e esclarecimentos concedidos.

À Neide da Silva, Técnica do Laboratório de Citogenética Vegetal, pela dedicação e preparação dos reagentes utilizados nas análises meióticas.

Aos amigos, Aline Medeiros, Gleisson Luiz Pagliarini Ricardo, Jéssica Sanches Bonfim Sigaki, Joice Rivoli, Jorge Takasusuki e Marcela Villa, pelas doces palavras em momentos difíceis.

Aos amigos do Laboratório, Viviane Fernandes, Anna Carolina Bluma Marques, Rosemir Antonio Bernardo Filho, Joana Neres da Cruz Baldissera, Lilian Janke, Mariana Ferrari e Raquel Leszczynski, por todo apoio, amizade, paciência e carinho.

BIOGRAFIA

ANA CAROLINE CASALVARA DOS SANTOS, filha de Alexandre Casalvara e de Élide Tavares Casalvara, nasceu em 15 de maio de 1985, na cidade de Campo Mourão, Paraná.

Em 1999, concluiu o Ensino Fundamental e, em 2002, concluiu o Ensino Médio, ambos no Colégio Estadual Santo Inácio de Loyola, na cidade de Fênix, estado do Paraná.

Graduou-se em Ciências/Biologia, em 2008, pela Faculdade de Jandaia do Sul (Fafijan), em Jandaia do Sul-Paraná

Durante o ano de 2009, realizou Cursos de Especialização em Meio Ambiente e Sustentabilidade, pela Faculdade de Jandaia do Sul/Fafijan e em Gestão Escolar, pela Universidade Estadual do Centro Oeste/Unicentro.

Desde 2006, é funcionária pública da Secretaria Estadual de Educação do Paraná, atuando no setor administrativo.

Em março de 2011, iniciou o Curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, da Universidade Estadual de Maringá.

SUMÁRIO

LISTA DE QUADROS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS.....	IX
RESUMO.....	X
ABSTRACT.....	XII
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. As forrageiras no sistema de produção.....	3
2.2. O uso de espécies do gênero <i>Paspalum</i> como pastagens cultivadas	4
2.3. Características morfológicas do gênero <i>Paspalum</i>	5
2.4. <i>Paspalum atratum</i>	6
2.5. Coleção de germoplasma	7
2.6. Aspectos citogenéticos e reprodutivos do gênero <i>Paspalum</i>	8
2.7. Comportamento meiótico no gênero <i>Paspalum</i>	10
2.8. Melhoramento no gênero <i>Paspalum</i>	11
3. MATERIAIS E MÉTODOS	14
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
4.1. Número de cromossomos, nível de ploidia e associações cromossômicas.	16
4.2. Comportamento meiótico	18
4.2.1. Segregação irregular de cromossomos	18
4.2.2. Gametas não reduzidos.....	22
4.2.3. Translocação	24
4.3. Considerações finais.....	29
5. CONCLUSÕES	30
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 - Lista de acessos de *P. atratum* analisados, contendo código do acesso no banco de germoplasma (BRA), local de coleta (cidade, estado ou país) e suas respectivas coordenadas geográficas (latitude, longitude e altitude).....28
- Quadro 2 - Associações cromossômicas observadas na diacinese nos acessos de *P. atratum* analisados (algarismos romanos expressam a configuração cromossômica em diacinese; I-uni, II-bi, III-tri e IV-quadrivalentes e a variação destes da menor e maior quantidade encontrados).....32
- Quadro 3 - Número de células analisadas e percentagem de células com anormalidades meióticas em cada fase da meiose para os 14 acessos de *P. atratum*.....34

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Meiócitos de acessos de <i>P. atratum</i> em diacinese com número cromossômico $2n = 4x = 40$	30
Figura 2 - Meiose normal em acessos de <i>P. atratum</i>	35
Figura 3 - Anormalidades meióticas em acessos tetraplóides de <i>P. atratum</i>	36
Figura 4 - Produto Final do acesso de <i>P. atratum</i> BRA-023353.....	37
Figura 5 - Meiócitos em diacinese dos acessos translocados de <i>P. atratum</i> BRA-023019 e BRA-023612.....	40
Figura 6 - Fases da meiose dos acessos de <i>P. atratum</i> , BRA-023019 e BRA-023612.	43

RESUMO

SANTOS, Ana Caroline Casalvara dos, M. Sc. Universidade Estadual de Maringá, fevereiro de 2013. **Análise citogenética em acessos de *Paspalum atratum* (Poaceae)**. Professora Orientadora: Maria Suely Pagliarini. Professores Conselheiros: Claudete Aparecida Mangolin e Maria Claudia Colla Ruvolo Takasusuki.

Com grande potencial forrageiro, o gênero *Paspalum* compreende aproximadamente 400 espécies, as quais são quase na sua totalidade de origem americana. Graças aos seus atributos, algumas espécies do gênero estão sob esquemas de melhoramento. Visa-se não apenas ao desenvolvimento de cultivares a partir da variabilidade genética existente, como também à formação de híbridos intra ou interespecíficos. O melhoramento neste gênero é comprometido pelo nível de ploidia e modo de reprodução. Compatibilidade só é encontrada entre acessos poliplóides, os quais são, em geral, apomíticos. Cruzamentos podem ser realizados entre acessos tetraplóides, desde que haja um acesso sexual com este nível de ploidia. Apesar de apomíticos, os acessos poliplóides necessitam de gametas viáveis para a formação do endosperma da semente. A poliploidia, por outro lado, causa inúmeras anormalidades meióticas que comprometem a viabilidade gamética. Dentre os programas de melhoramento de *Paspalum*, destaca-se o desenvolvido Embrapa Pecuária Sudeste, localizada em São Carlos, São Paulo. Dentre as espécies existentes na coleção de germoplasma da Embrapa Pecuária Sudeste, destaca-se o *Paspalum atratum*. Esta espécie se destaca devido às suas características agrônômicas. Atualmente, *P. atratum* cv. Pojuca – Capim Pojuca (BRA-09610) é comercializado como cultivar no Brasil. Esta cultivar foi desenvolvida pela Embrapa Cerrados (DF) e lançada em 2004. Há, todavia, necessidade de desenvolvimento de novas cultivares. Nesta pesquisa, 14 acessos de *P. atratum* foram analisados pela metodologia convencional para se obter dados sobre número de cromossomos, nível de ploidia e comportamento meiótico como subsídio ao programa de melhoramento. Todos os acessos analisados mostraram-se tetraplóides ($2n = 4x = 40$), sendo que o número de cromossomos encontrado para a espécie foi coincidente com a literatura. Em dois acessos (BRA-023019 e BRA-023612), foram encontradas evidências da ocorrência de translocação e em outro acesso (BRA-023353) ocorreu formação de díades, tríades, além de tétrades, como

produto final da meiose, característico de ausência ou falha da segunda citocinese. Nos demais acessos, o comportamento meiótico foi variável, sendo que apenas um apresentou muitas anormalidades e a maioria apresentou meiose regular, com anormalidades típicas de poliplóides, que não comprometeram, em níveis elevados, os micrósporos. Logo, os acessos de *P. atratum* analisados neste trabalho, excetuando-se os acessos envolvidos nas anormalidades já citadas, demonstram potencial para serem lançados como cultivares ou serem utilizados nos programas de melhoramento envolvendo hibridizações intra ou interespecíficas.

Palavras-chave: Microsporogênese; número de cromossomos; gramínea forrageira; citologia; melhoramento genético.

ABSTRACT

SANTOS, Ana Caroline Casalvara dos. Universidade Estadual de Maringá. February, 2013. **Cytological analysis of *Paspalum atratum* (Poaceae) accessions**. Adviser: Maria Suely Pagliarini. Committee Members: Claudete Aparecida Mangolin and Maria Claudia Colla Ruvolo Takassuzuki.

The genus *Paspalum* consists of about 400 species and essentially all are native to the Americas. The genus is economically important as many of its species are used as forage and pasture grasses. Due to its agronomic characteristics, some species of the genus are under evaluation to create new varieties throughout the direct selection of the genetic variability or intra- or interspecific hybridization. In *Paspalum*, breeding is compromised by the ploidy level of the accessions and the mode of reproduction. Compatibility is generally found only among polyploid accessions that are generally apomictics. Crosses are successful only between tetraploid accessions, but sexual female tetraploid accession is necessary. Despite of apomicts, polyploid accessions demand viable gametes to fertilize the secondary nucleus to ensure the endosperm formation. Polyploidy, by the other hand, causes innumerable meiotic abnormalities that compromise the gamete viability. Among some *Paspalum* breeding programs in development in the country, we can cite that developed by the Embrapa Cattle-Southeast (CPPSE) situated in São Carlos, SP, Brazil. Among the several *Paspalum* species existing in the CPPSE collection, *P. atratum* has deserved attention due to its agronomic attributes. *Paspalum atratum* cv. Pojuca – Capim Pojuca (BRA 009610) is commercialized as variety in Brazil since 2004. However there is the necessity of development of new cultivars of this species. In this study, 14 accessions of *P. atratum* were analyzed by means of conventional methodology for the determination of their chromosome numbers and ploidy level, and the characterization of their meiotic behavior. It was found that all the accessions were tetraploid ($2n = 4x = 40$), derive from $x = 10$, and the chromosome number was in agreement with the previous data. In two accessions (BRA-023019 e BRA-023612) there was evidence of chromosome translocation and in other accession (BRA-0023353), dyads and triads were recorded. In the accession BRA-009687, a high frequency of meiotic abnormalities was found, while in the remaining, the meiotic abnormalities were rare or absent.

The meiotic abnormalities detected in these accessions were related to irregular chromosome segregation typical of polyploids. Except for the four accessions that presented especial abnormalities, the remaining ones (ten accessions) showed meiotic stability and, thus, potential to be released as cultivars or to participate in hybridization breeding program.

Key words: Microsporogenesis; chromosome number; forage grass; cytology; breeding.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Paspalum* compreende aproximadamente 400 espécies, as quais são quase na sua totalidade de origem americana, em especial, do Brasil, do Paraguai, do Uruguai e do norte da Argentina. Devido à sua importância econômica, por oferecer excelente potencial forrageiro para a pecuária, e frente à busca de opções para essa atividade, tem-se buscado, cada vez mais, espécies que possam suprir essa demanda e ao mesmo tempo oferecer ao produtor opções de forragens de alto valor nutritivo, mais resistentes ao ataque de pragas e mais adaptadas às condições de diversos ecossistemas. Considerando que a América do Sul é tida como o centro de origem da maioria das espécies de *Paspalum* e está sendo uma espécie nativa, apresenta menor risco ecológico que aqueles possibilitados pelo uso de plantas exóticas (Freitas et al., 1997).

Com a finalidade de explorar essas novas possibilidades, na década de 1980, o Centro Nacional de Recursos Genéticos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Cenargen/Embrapa) iniciou a coleta de germoplasma de *Paspalum*. Em 1992, o Cenargen tinha mais de 1500 acessos coletados, que foram posteriormente distribuídos a vários centros de pesquisa do país, entre estes a Embrapa Pecuária Sudeste, localizada em São Carlos, São Paulo, onde estão sendo avaliados, principalmente, os grupos Plicatula e Virgata, considerados os mais bem adaptados à região (Obeid e Pereira, 2010).

No gênero *Paspalum*, há uma predominância de acessos poliplóides, sendo que a poliploidia está frequentemente associada à apomixia e esta, no gênero *Paspalum*, é do tipo pseudogâmica (Dall'Agnol e Schifino-Wittmann, 2005), ou seja, há necessidade de gametas viáveis para a fertilização do núcleo secundário do saco embrionário para que ocorra o desenvolvimento do endosperma da semente. Esse fato destaca a importância da caracterização citogenética para prover a escolha de acessos para cruzamentos interespecíficos e obtenção de novas variedades. No entanto, deve-se destacar que indivíduos tetraplóides podem apresentar potencial para sexualidade e que indivíduos diplóides são sexuais e auto-incompatíveis. Logo, o conhecimento do número cromossômico e comportamento meiótico são essenciais para os pesquisadores escolherem os parentais a serem utilizados nos cruzamentos (Pagliarini et al., 2001).

Paspalum atratum caracteriza-se como uma espécie que se destaca entre as espécies de interesse devido à tolerância a solos ácidos, sombreamento, resistência à cigarrinha-das-pastagens, capacidade de rebrotação após a queima e ainda por apresentar alto valor nutritivo (Obeid e Pereria, 2011). É uma espécie nativa do Centro-Oeste brasileiro, com grande potencial forrageiro, alta palatabilidade e boa produção de sementes (Quarín et al., 1997). Atualmente, é comercializada como cultivar no Brasil, como *P. atratum* cv. Pojuca – Capim Pojuca (BRA-009610), cultivar desenvolvida pela Embrapa Cerrados (DF) e lançada em 2004. Nativo do Pantanal, o capim Pojuca ganhou este nome porque a palavra "pojuca", em tupi-guarani, quer dizer área úmida, alagadiça ou brejo (Embrapa, 2004; Hare et al., 2001a).

Frente às dificuldades encontradas nos programas de melhoramento e a importância econômica do gênero *Paspalum*, principalmente da espécie *P. atratum*, o presente trabalho teve por objetivo analisar o comportamento meiótico durante a microsporogênese de 14 acessos desta espécie, que foram caracterizados quanto ao número de cromossomos, associações cromossômicas e anomalias meióticas como forma de pré-seleção para determinar os acessos viáveis para o programa de melhoramento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. As forrageiras no sistema de produção

O Brasil é o maior produtor mundial de carne bovina e a produção de leite tem seguido no mesmo sentido, isso graças à imensa área coberta por espécies forrageiras (Barros et al., 2011). Segundo dados do IBGE (2012a), num comparativo feito entre os anos de 1996/2006, o Brasil teve um ganho de aproximadamente 12,1% em seu rebanho, sendo que a região Norte (Rondônia, Acre, Amazonas, Roraima, Pará, Amapá e Tocantins) foi a que mais se destacou, com um acréscimo de 81,4% no número de cabeças de gado. Vale ressaltar que, nas demais regiões, o aumento foi satisfatório: 10,9% na região Nordeste (Maranhão, Piauí, Ceará, Rio Grande do Norte, Paraíba, Pernambuco, Alagoas, Sergipe e Bahia); 5,3% na região Sudeste (Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo); 10,9% na região Sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul); e 13,3% na região Centro-Oeste (Mato Grosso do Sul, Mato Grosso, Goiás e Distrito Federal). Ainda segundo o IBGE (2012b), entre os anos de 1996 e 2006, o Brasil aumentou em mais de um milhão de toneladas a quantidade de carne destinada exclusivamente à exportação, o que representa 17,8% de toda a exportação da produção brasileira de carne. Em um estudo mais atual, o IBGE (2012c; 2012d) constatou que, entre os anos de 2009 e 2010, o Brasil obteve um ganho de 2,1% em seu rebanho, o que representa aproximadamente 4.233.155 mais cabeças de gado em apenas um ano.

Devido à atividade pecuarista ser tão distribuída por todo o território nacional e o Brasil ser possuidor de uma série de biomas diferenciados, é imprescindível a existência de espécies forrageiras, incluindo gramíneas e leguminosas que atendam às necessidades específicas de cada região. Em sistemas de exploração pecuária baseados na utilização de pastagens, a planta forrageira assume papel primordial, uma vez que tanto a rentabilidade quanto a sustentabilidade desses sistemas dependem da escolha da forrageira adequada. Frente ao grande número de espécies forrageiras disponíveis aos pecuaristas, destacam-se os esforços dos pesquisadores para distinguir suas principais características (Fonseca et al., 2011).

No Brasil, estima-se que haja cerca de 170 milhões de hectares de pastagens, sendo que 100 milhões de pastagens cultivadas. Devido à importância da pecuária para a economia brasileira, o cultivo de plantas forrageiras assume papel relevante para a cadeia produtiva de carne e de leite (Fonseca et al., 2011). O conhecimento das diversas características de cada forrageira é de suma importância para sua correta utilização, no intuito de garantir produtividade e perenidade das espécies, bem como lucratividade dos sistemas produtivos que as utilizam.

Vale ressaltar que cada forrageira possui características particulares, resultado dos distintos meios dos quais evoluíram durante milhares de anos, o que resultou numa grande diversidade no que diz respeito às características morfológicas e fisiológicas e às exigências edafoclimáticas presentes nas forrageiras (Fonseca et al., 2011).

2.2. O uso de espécies do gênero *Paspalum* como pastagens cultivadas

As forrageiras, tal qual conhecemos atualmente, resultaram do processo de evolução conjunta entre planta (gramíneas, leguminosas) e animais herbívoros, onde a pressão de seleção sobre as plantas consumidas sob pastejo contribuiu de forma decisiva para sua evolução como planta forrageira. Este processo de coevolução entre animais e plantas foi responsável pela seleção de características forrageiras importantes, como o perfilhamento e a persistência da planta sob a ação do pastejo (Pereira et al., 2001).

No Brasil, as pesquisas com plantas forrageiras, impulsionadas com a necessidade de se conhecer novas variedades mais produtivas têm demonstrado resultados na identificação de gêneros, espécies, cultivares e ecótipos de plantas forrageiras mais bem adaptadas às condições dos diferentes ecossistemas. Há pouco tempo, esta atividade se restringia a coletas e intercâmbios de germoplasma exóticos, principalmente do continente africano (gêneros *Urochloa* (syn. *Brachiaria*) e *Megathyrsus* (syn. *Panicum*)), e pouca atenção foi dada aos gêneros e espécies nativas, tais como as pertencentes ao gênero *Paspalum* (Obeid e Pereira, 2011).

Contudo, ressalta-se a importância de forrageiras do gênero *Paspalum* na formação de pastagens cultivadas, como espécie nativa de nossos ecossistemas,

pois estas carregam consigo risco ecológico que quando utilizada uma espécie exótica (Obeid e Pereira, 2011).

Valls (1986) afirma que o gênero *Paspalum* destaca-se entre as gramíneas brasileiras pelo grande número de espécies de bom potencial forrageiro e pela boa capacidade de adaptação à acidez do solo, à desfolhação, ao fogo, ao frio e ao alagamento. Pizarro e Carvalho (1992) afirmam que algumas espécies de *Paspalum* apresentam grande potencial, ainda pouco explorado, para ocupar importantes áreas como as várzeas e baixadas mal drenadas. No gênero, destaca-se a espécie *P. atratum* cv. Pojuca, que possui excelente produção de forragem, grande velocidade de estabelecimento e de rebrotação, boa aceitação pelos bovinos e equinos, pequena exigência em fertilidade do solo, elevada produção de sementes, resistência ao fogo e média tolerância ao frio, sendo pouco atacada por pragas e doenças (Carvalho et al., 2000).

2.3. Características morfológicas do gênero *Paspalum*

Membro da tribo Paniceae, da subfamília Panicoidae e família Gramineae, atual Poaceae (Parodi, 1961), o gênero *Paspalum* é de considerável importância econômica, visto que no Brasil dificilmente se encontra uma formação vegetal sem que nela haja a presença de espécies deste gênero, que muitas vezes é de caráter dominante e responsável pela maior parte da forragem disponível (Batista e Regitano Neto, 2000).

O gênero *Paspalum* compreende aproximadamente 400 espécies, as quais são quase em sua totalidade de origem americana, em especial o Brasil, Paraguai, Uruguai e norte da Argentina. A maior parte das espécies conhecidas ocorre no Brasil, as quais fazem parte das mais diferentes formações vegetais e condições ecológicas. São conhecidas tanto espécies tipicamente hidrófilas, na Amazônia, até xerófitas, nas regiões Nordeste e no Centro-Oeste (Obeid e Pereira, 2011).

Segundo Chase (1929), o gênero *Paspalum* foi subdividido em 24 grupos informais: *Alterniflora*, *Brevia*, *Conjugata*, *Corcovadensia*, *Coryphea*, *Decumbentes*, *Dilatata*, *Dissecta*, *Disticha*, *Fasciculata*, *Filiformia*, *Floridana*, *Laevia*, *Linearia*, *Livida*, *Malacophylla*, *Notata*, *Orbiculata*, *Paniculata*, *Parviflora*, *Plicatula*, *Rupestria*,

Steceae e *Virgata*, sendo os grupos *Dilatata*, *Notata* e *Plicatula* os de maior interesse no que tange a utilização como planta forrageira (Barros et al., 2011).

2.4. *Paspalum atratum*

Paspalum atratum ocorre na América Central e América do Sul. No Brasil, é encontrado nos estados do Amapá, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Roraima, São Paulo e Tocantins (Oliveira, 2004).

Dentre as espécies do grupo *Plicatula*, *P. atratum*, uma espécie perene, tetraplóide ($2n = 4x = 40$), de reprodução apomítica, (sinonímia: *P. atratum* Swallen, *P. plicatulum* var. *Robustum* Hack, *Paspalum* sp. aff. e *P. plicatulum*), destaca-se entre as espécies de interesse agrônômico devido à tolerância a solos ácidos, sombreamento, resistência à cigarrinha-das-pastagens, capacidade de rebrotação após a queima e ainda por apresentar alto valor nutritivo (Obeid e Pereria, 2011).

Paspalum atratum é uma espécie nativa do Centro-Oeste brasileiro, com grande potencial forrageiro, alta palatabilidade e boa produção de sementes (Quarín et al., 1997). O acesso BRA-009610 foi coletado pelo Dr. José Francisco Montenegro Valls, em abril de 1986, em Terenos, Mato Grosso do Sul e pequenas quantidades de semente foram subsequentemente distribuídas a institutos de pesquisas no Brasil, Argentina, Colômbia, Flórida e Filipinas (HARE et al., 2001a).

Segundo Hare et al. (2001a), em novembro de 1994, a Ubon Ratchathani University, na Tailândia, recebeu 100 gramas de sementes do acesso BRA-009610 do Dr. Werner Stur, de um projeto de melhoramento das Filipinas em conjunto com CSIRO (Austrália) e CIAT (Colômbia). Após três anos de avaliação no nordeste da Tailândia, *P. atratum* foi considerado excelente e lançado como *P. atratum* cv. Ubon, em 1997.

Ainda providas desta mesma coleta feita por Dr. J. Valls foram desenvolvidas cultivares na Argentina (Cambá FCA) e Filipinas (Terenos). Uma segunda coleta, também feita no Mato Grosso do Sul, pelo Sr Paul Rayman, proporcionou o lançamento, em 1995, da cultivar “Suerte”, nos Estados Unidos e, posteriormente, a “Hi-Gane”, na Austrália, e o “Pantaneiro”, no Brasil (Oliveira, 2004).

No Brasil, é comercializado como *P. atratum* cv. Pojuca – Capim Pojuca (BRA-09610), cultivar desenvolvida pela Embrapa Cerrados (DF), lançada em 2004. Nativo do Pantanal, o Pojuca ganhou este nome porque a palavra "pojuca", em tupi-guarani, quer dizer área úmida, alagadiça ou brejo (Embrapa, 2004; Hare et al., 2001a).

Paspalum atratum foi amplamente estudado, tanto em relação a aspectos citogenéticos como ao comportamento meiótico, ao número cromossômico e ao modo de reprodução (Quarín et al., 1997; Takayama et al., 1998; Espinoza et al., 2001; Adamowski et al., 2005), quanto sobre a capacidade de estabelecimento (Hare et al., 2001b), efeito de corte e qualidade da forragem (Hare et al., 2001c); efeito do nitrogênio na produção de forragem (Hare et al., 1999); período de florescimento e colheita de sementes da espécie (Hare et al., 2001d; Hare et al., 2001e).

2.5. Coleção de germoplasma

Com a finalidade de explorar novas possibilidades para as pastagens brasileiras, na década de 1980, o Centro Nacional de Recursos Genéticos da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Cenargen/Embrapa) iniciou a coleta de germoplasma de *Paspalum*. Em 1992, o Cenargen/Embrapa tinha mais de 1500 acessos coletados de *Paspalum*, posteriormente distribuídos a vários centros de pesquisa do país, entre estes a Embrapa Pecuária Sudeste, localizada em São Carlos, São Paulo (Takayama et al., 1998). Este Centro possui, atualmente, 310 acessos de 15 diferentes espécies de *Paspalum*, sendo avaliados com maior ênfase os grupos Plicatula e Virgata, considerados os mais bem adaptados à região. Destes acessos, cerca de 187 já tiveram a análise meiótica realizada.

O banco ativo de germoplasma de espécies do gênero *Paspalum* tem como objetivo a preservação, a caracterização e a avaliação de recursos genéticos já coletados, bem como estimular novas coletas e intercâmbio de germoplasma, visando a preservar a sua integridade genética e colocá-los à disposição dos melhoristas de plantas forrageiras, para serem utilizados na obtenção de novas cultivares mais produtivas e adaptadas aos diferentes ecossistemas (Obeid e Pereira, 2011).

A procura de germoplasma de interesse entre as espécies nativas pode trazer resultados no mínimo equivalentes ao processo de introdução de espécies exóticas, sendo o Brasil um dos países com maior diversidade genética disponível para a pesquisa e melhoramento das espécies do gênero *Paspalum* (Valls, 1987). Uma vez estabelecida a coleção de germoplasma, é necessário que sejam realizados estudos para determinar sua caracterização e avaliação. Este processo permite a identificação de caracteres de interesse entre os acessos da coleção. Diferentes níveis de caracterização são possíveis, entre eles a caracterização agrônômica, bioquímica, molecular e citogenética (Pagliarini e Pozzobon, 2005).

Ainda de acordo com os mesmos autores, a caracterização citogenética é uma importante ferramenta para o entendimento do material a ser estudado e deveria ser encarado como um pré-requisito e uma atividade básica na caracterização das coleções de germoplasma. Esta caracterização pode envolver, entre outros aspectos, a contagem do número de cromossomos, a determinação do nível de ploidia, o número básico de cromossomos, a avaliação do comportamento meiótico e da fertilidade do pólen e a determinação da afinidade genômica entre acessos em híbridos interespecíficos.

2.6. Aspectos citogenéticos e reprodutivos do gênero *Paspalum*

Segundo Obeid e Pereira (2011), muitos pesquisadores têm demonstrado interesse em estudar o gênero *Paspalum*, que além de sua importância ecológica, forrageira e ornamental, carregam uma extensa heterogeneidade interna: apomixia, alopoliploidia, autopoliploidia e hibridação interespecífica. Quarín (1992) afirma que foram estudados cerca de 15% das espécies deste gênero, no que diz respeito à aspectos citológicos, métodos de reprodução e sistema de cruzamento. Estes estudos demonstram que as espécies de *Paspalum* podem apresentar diversos níveis de ploidia. Citótipos de *Paspalum* com $2n = 2x = 20$ geralmente são sexuais, alógamos e auto-incompatíveis, enquanto que citótipos $3x$, $4x$, $5x$, $6x$, $8x$, $7x$, $10x$ ou $12x$ são apomíticos e autocompatíveis. Vale destacar que é grande o número de diplóides com conspecíficos tetraplóides.

Normalmente, o gênero *Paspalum*, em sua forma haplóide, possui o número cromossômico em múltiplos de 10, tendo como exceções na literatura as espécies *P. hexastachyum* e *P. alium*, com $x = 6$ cromossomos (Burson, 1975), sendo o

nível tetraplóide o mais freqüente entre as espécies do gênero, cerca de 43,6% (Quarín e Norrmann, 1987; Quarín, 1992; Pozzobon et al., 2008).

Outras exceções foram descritas para o gênero por Peñaloza et al. (2008). Estudos com células somáticas de diferentes espécies de *Paspalum* demonstraram número básico de cromossomos que foram de $n = 9$ para *P. reduncum*, $n = 12$ para *P. filgueirasii*, $n = 18$ em *P. ammodes* a $n = 24$ para *P. burmanii*.

O processo de microspogênese é muito complexo, pois inúmeros fatores, genéticos ou ambientais comprometem a meiose e, com isso, a viabilidade do grão de pólen e, conseqüentemente, a produção de sementes (Pagliarini e Pozzobon, 2005).

Em geral, poliplóides são apomíticos. A apomixia é a capacidade da planta em formar sementes sem que ocorra a fecundação. Setenta e cinco por cento das espécies apomíticas estão nas famílias Gramineae (Poaceae), Asteraceae e Rosaceae, sendo a apomixia de grande interesse para o melhoramento vegetal, pois permite à planta fixar genomas, visto que os descendentes são “cópias” do genoma materno (Dall’Agnol e Schifino-Wittmann, 2005).

Assim como em *Brachiaria*, no gênero *Paspalum* a apomixia é do tipo pseudogâmica, ou seja, há a necessidade de gametas masculinos viáveis para a fertilização do núcleo secundário do saco embrionário para que ocorra o desenvolvimento do endosperma da semente, garantindo assim a produção de sementes viáveis ou “sementes cheias” (Valle e Savidan, 1996).

A partir do estudo da meiose, foi possível a concepção de alguns caminhos da evolução do gênero *Paspalum*. Os poliplóides podem ter sido originados a partir de gametas $2n$, visto que a ausência de citocinese após a primeira ou segunda divisão meiótica tem sido encontrada em muitos acessos. Díades com núcleo de restituição foram registradas entre os produtos da meiose. Em um acesso de *P. subciliatum*, houve uma clara evidência de alopoliploidia (hibridação interespecífica), com genomas exibindo ritmos diferentes na meiose. Na maioria dos acessos tetraplóides de *Paspalum* já analisados, a baixa freqüência de associações cromossômicas em diacinese sugere que eles sejam alopoliplóides segmentares. Os acessos hexaplóides, com o pareamento cromossômico predominantemente em bivalentes, sugerem que eles resultaram de hibridação

seguida de duplicação cromossômica para produzir um anfidiplóide (PAGLIARINI et al., 2009).

Por meio das associações cromossômicas observadas em diacinese, é possível inferir sobre a origem do conjunto genômico analisado. Em tetraplóides, por exemplo, a presença de associações tetravalentes em diacinese indica autoploidia, enquanto que a ausência ou baixa frequência deste tipo de associação sugere aloploidia (Freitas et al., 1997).

2.7. Comportamento meiótico no gênero *Paspalum*

As anomalias meióticas mais comuns registradas em acessos diplóides e poliplóides de *Paspalum* foram aquelas relacionadas com a segregação cromossômica irregular em ambas as divisões meióticas. Nos diplóides, a segregação irregular é geralmente causada por terminalização precoce dos quiasmas, enquanto em poliplóides, além disso, a segregação irregular de cromossomos está geralmente ligada às associações cromossômicas múltiplas, devido à poliploidia. A migração precoce de cromossomos em metáfase e cromossomos retardatários em anáfase, geralmente, leva à formação de micronúcleos em telófases e tétrades. É importante destacar que, seja qual for o destino dos micronúcleos, o resultado genético será a formação de gametas desbalanceados, que culminará na esterilidade do grão de pólen (Mehra e Chaudhary, 1981; Burson, 1997; Adamowski et al., 1998; Adamowski et al., 2000; Pagliarini et al., 2009; Podio et al., 2012;).

Outras anormalidades meióticas causadas por supostas mutações em genes que controlam a microsporogênese também foram registradas em alguns acessos de *Paspalum*. Em *P. regnellii* (Pagliarini et al., 1998), as análises realizadas com o acesso BRA-019186 mostraram que as fibras do fuso se degeneraram ao final da metáfase I. A segregação cromossômica não ocorreu e os bivalentes ficaram espalhados aleatoriamente no citoplasma. Os bivalentes deram origem a micronúcleos em telófase I, com uma grande variação no número e tamanho entre as células. Com a ausência da formação do fuso durante a meiose II, metáfase e anáfase II não foram observadas. A segunda citocinese ocorreu em prófase II, imediatamente após a ocorrência da primeira. O produto final da meiose foi completamente anormal, com a predominância de políades com micrósporos de

diferentes tamanhos, que resultaram em grãos de pólen abortivos. Todos os microsporócitos apresentaram essa anormalidade, o que causou esterilidade total.

Em um acesso brasileiro de *Paspalum* (BRA-01476), foi encontrada outra anormalidade importante. Conforme Pagliarini et al. (2000), este acesso apresenta aderência cromossômica, que se iniciou em metáfase I e permaneceu até o estágio de micrósporo. A aderência cromossômica pode ser causada por fatores genéticos ou ambientais e a impossibilidade de segregação cromossômica, causada pela aderência, provoca a formação de um único ou de vários núcleos picnóticos que culminam na inteira degeneração da cromatina, causando a interrupção da meiose. Neste acesso, os microsporócitos produziram grãos de pólen inviáveis devido à desintegração da cromatina dos núcleos picnóticos. Esta anormalidade também foi descrita por Burson (1997) em *Paspalum paucifolium* e *P. polyphyllum*.

A ausência ou falha na ocorrência de citocinese é outra anormalidade que culmina na formação de díades e tríades, além de tétrades ao final da microsporogênese. A presença de díades indica falha na primeira citocinese, enquanto a formação de díades, tríades e tétrades indica que a falha ocorreu na segunda citocinese. A presença desta anormalidade possibilita a formação de gametas $2n$, ou não reduzidos (Pagliarini et al., 1999), assunto melhor discutido posteriormente.

2.8. Melhoramento no gênero *Paspalum*

O melhoramento genético de forrageiras, principalmente de espécies tropicais, ainda não atingiu o mesmo estágio de desenvolvimento obtido pelos cereais. No melhoramento de plantas forrageiras, há de se considerar a complexa relação solo-planta-animal. Assim, o objetivo do melhoramento não se restringe na obtenção de plantas mais produtivas, mas sim em conseguir maior eficiência na transformação da mesma em produção animal (Pereira et al., 2001).

No Brasil, a partir do ano de 1980, em decorrência do processo de intensificação da produção pecuária, foram iniciados os primeiros programas de melhoramento, sendo que o programa de melhoramento de *Paspalum* em andamento encontra-se na Embrapa Pecuária Sudeste (Pereira et al., 2001).

Devido à predominância da poliploidia no gênero *Paspalum*, as coleções de germoplasma do gênero são repletas de exemplares apomíticos. A apomixia do

gênero *Paspalum* dificulta a recombinação genética. Por outro lado, a hibridização, quando um dos genitores não é apomítico, pode permitir a obtenção de variabilidade e a seleção de progênies elite com fixação dos caracteres na primeira geração de autofecundação, em virtude da apomixia (Barros et al., 2011).

Para se realizar o cruzamento de genótipos de *Paspalum* via hibridização é necessário que existam acessos sexuais tetraplóides para serem cruzados com acessos apomíticos com o mesmo nível de ploidia, sendo possível, assim, a realização de cruzamentos tanto intra como interespecíficos.

Para se obter acessos poliplóides sexuais tem-se utilizado a duplicação dos cromossomos de acessos diplóides pelo uso de colchicina. Em *Paspalum*, esta metodologia tem sido empregada desde a década de 60 (Forbes e Burton, 1961 a b; Quarín e Hanna, 1980; Cáceres et al., 1999) até os dias atuais (Sartor et al., 2009; Quesenberry et al., 2010). Assim, faz-se necessário identificar genótipos diplóides com características de interesse e duplicá-los com colchicina. Após este processo, deve-se identificar, dentre indivíduos tetraploidizados, os sexuais que podem ser usados como fêmeas em cruzamentos com parentais apomíticos tetraplóides naturais. Neste momento, deve-se tomar o cuidado na escolha dos parentais masculinos apomíticos, pois, dentre os tetraplóides, há uma enorme variação na taxa de anormalidades meióticas decorrentes da poliploidia. Embora apomíticos, os parentais masculinos devem apresentar alta fertilidade de pólen para que haja a fertilização do núcleo secundário do saco embrionário, garantindo o perfeito desenvolvimento do endosperma da semente e a produção de sementes e viáveis. Após o cruzamento entre uma fêmea sexual tetraplóide com um macho apomítico tetraplóide o resultado esperado será uma descendência sexual e apomítica, segregando, aproximadamente, na proporção 1:1 (Pereira et al., 2001)

A importância da caracterização citogenética na escolha de acessos para cruzamentos interespecíficos e obtenção de novas variedades decorre do fato de que, no gênero *Paspalum*, há uma predominância de acessos poliplóides, sendo que a poliploidia está frequentemente associada com a apomixia. No entanto, deve-se destacar que indivíduos tetraplóides podem apresentar potencial para sexualidade e que indivíduos diplóides são sexuais e auto-incompatíveis. Logo, o conhecimento do número cromossômico e comportamento meiótico são essenciais

para os pesquisadores escolherem os parentais a serem utilizados nos cruzamentos (Pagliarini et al., 2001).

Assim, o propósito do presente estudo é determinar o número de cromossomos de diferentes acessos de *Paspalum atratum* e avaliar seu comportamento meiótico, objetivando identificar acessos com potencial para serem lançados como cultivares ou ainda serem utilizados em cruzamentos intra e interespecíficos.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisados 14 acessos de *P. atratum*, todos pertencentes à coleção de germoplasma do gênero, mantida sob condições de campo na Embrapa Pecuária Sudeste, localizada em São Carlos, São Paulo, Brasil. À exceção de um acesso coletado no Paraguai, todos os demais foram coletados em diferentes regiões do Brasil (Quadro 1).

Quadro 1 – Lista de acessos de *P. atratum* analisados, contendo código do acesso no banco de germoplasma (BRA), local de coleta (cidade, estado ou país) e suas respectivas coordenadas geográficas (latitude, longitude e altitude)

Código do acesso (BRA)	Local de coleta	Latitude	Longitude	Altitude
BRA-003638	Goiatuba (GO)	18°01'S	49°18'W	590
BRA-009407	Porto Velho (RO)	08°46'S	63°54'W	120
BRA-009415	Cáceres (MT)	16°06'S	57°51'W	290
BRA-009431	Nobres (MT)	14°44'S	56°16'W	260
BRA-009661	Aquidauana (MS)	20°22'S	55°59'W	180
BRA-009687	Bella Vista (PGY)	22°23'S	56°20'W	200
BRA-011681	Campo Belo do Sul (SC)	27°54'S	59°62'W	960
BRA-022934	Paranaíba (MS)	19°34'S	51°14'W	420
BRA-023019	Inocência (MS)	19°57'S	52°13'W	430
BRA-023299	Anastácio (MS)	20°25'S	56°03'W	-
BRA-023329	Anastácio (MS)	20°25'S	56°03'W	-
BRA-023353	Anastácio (MS)	20°34'S	55°51'W	240
BRA-023442	Aral Moreira (MS)	22°39'S	55°37'W	650
BRA-023612	Dourados (MS)	22°17'S	54°49'W	390

Inflorescências ainda envoltas pela folha bandeira foram coletadas e fixadas em Carnoy (3 álcool etílico:1 ácido acético), por 24 horas, e depois transferidas para álcool 70% e armazenadas sob refrigeração até o momento do uso.

Os microsporócitos foram preparados por esmagamento e corados com carmim propiônico a 1%. O número de cromossomos e as associações cromossômicas foram determinados em 30 meiócitos em diacinese.

O comportamento meiótico foi determinado em um número de microsporócitos superior a 700 em cada acesso sob microscopia de luz, com

exceção do acesso BRA-11681, no qual as inflorescências se encontravam muito maduras. As imagens dos meiócitos foram capturadas em microscópio Olympus CX 31 com câmera acoplada SC 30, por meio do software AnalySIS getIT, com aumento de 400 vezes.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. Número de cromossomos, nível de ploidia e associações cromossômicas.

Os acessos de *P. atratum* analisados apresentaram-se tetraplóides ($2n = 4x = 40$) (Figura 1), o que confirma o número de cromossomos e nível de ploidia descritos para a espécie por Quarín et al. (1997), Freitas et al. (1997), Takayama et al. (1998), Espinosa et al. (2001) e Adamowski et al. (2005).

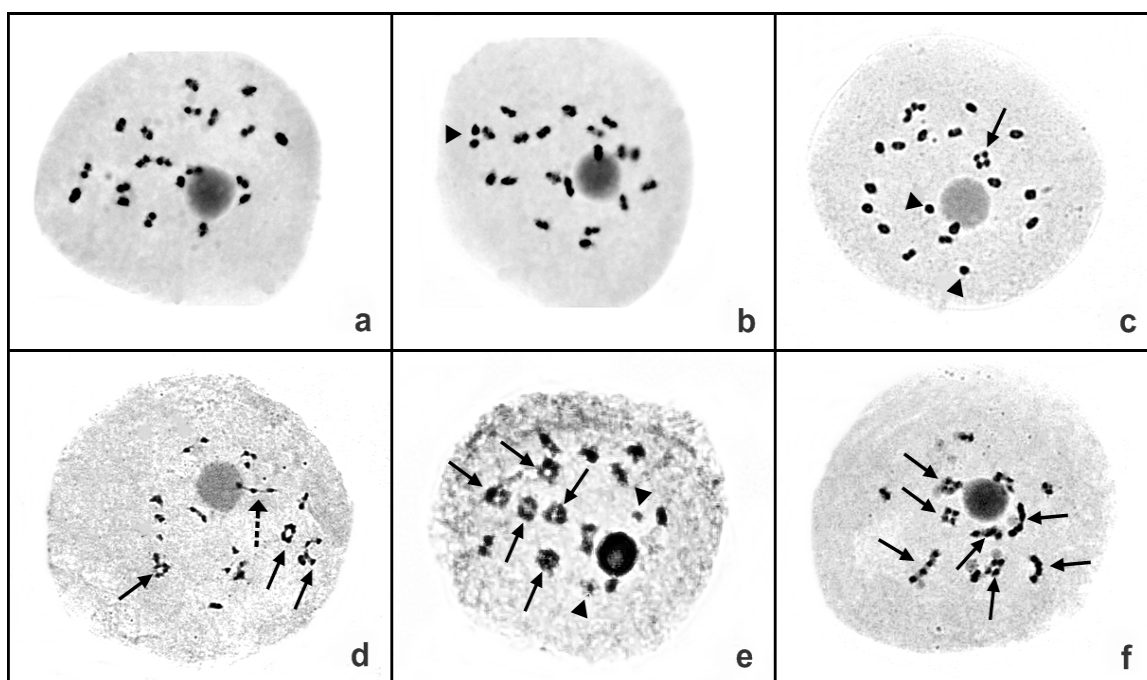


Figura 1 - Meiócitos de acessos de *P. atratum* em diacinese com número cromossômico $2n = 4x = 40$. a) Meiócito com associação cromossômica em 20 bivalentes. b) Meiócito com 19 bivalentes e um par de univalentes (cabeça de seta). c) Meiócito com um par de univalentes (cabeça de seta), 17 bivalentes e um tetravalente (seta). d) Meiócito com 7 univalentes, 9 bivalentes, um trivalente (seta pontilhada) e três tetravalentes (setas). e) Meiócito com um par de univalentes (cabeças de seta), oito bivalentes e cinco tetravalentes (setas). f) Meiócito com seis bivalentes e sete tetravalentes (setas).

Conforme apresentado na Figura 1 e Quadro 2, as associações encontradas em diacinese nos acessos analisados, mantiveram-se entre uni a tetravalentes, configurações típicas de tetraplóides. As exceções foram os acessos BRA-023019 e BRA-023612. No acesso BRA-023019, além de uni, bi, tri e tetravalente, foram encontradas configurações em hexavalente, octavalente e decavalente. No acesso BRA-023612, além das configurações típicas de tetraplóides, foram observadas,

também, configurações em penta, hexa, hepta, octa, deca e undecavalente. Estes dois acessos serão discutidos posteriormente, pois estas associações indicam a ocorrência de translocação heterozigótica.

A partir da análise do pareamento cromossômico, é possível traçar alguns caminhos sobre a origem da tetraploidia. Segundo Stebbins (1971), um tetraplóide pode originar de duas formas: por duplicação do seu próprio genoma (autopoliploidia), ou por hibridização interespecífica (alopoliploidia). Há ainda uma terceira categoria que, conforme Schifino-Wittmann (2004) e Stebbins (1971, 1947), são denominados poliplóides segmentares, resultantes de hibridização de espécies próximas o suficiente para apresentarem certa homeologia cromossômica.

Em princípio, a frequência de multivalentes é a base para se chegar a conclusões sobre a relação entre diferentes genomas. No entanto, o pareamento em poliplóides pode ser afetado por fatores que reduzem ou induzem a formação de multivalentes, independente da afinidade. Estes fatores incluem, por exemplo, número e posições de pontos de iniciação de pareamento e suas interferências na formação de quiasmas. A manutenção de multivalentes depende da formação de quiasmas (Sybenga, 1994).

Conforme Adamowski et al. (2000), a baixa frequência de quadrivalentes, em tetraplóides sugere aloploidia segmentar. No entanto, para a espécie *P. atratum*, Quarín et al. (1997), apesar de reafirmarem que a presença de quadrivalentes pode ser um indicativo de aloploidia segmentar, ressaltam que um quadrivalente pode ser resultado da ocorrência de translocação, ou ainda, resultado do processo de diploidização (Sybenga, 1996). Vale ressaltar que autopoliploidização também já foi sugerida para a origem de espécies tetraplóides apomíticas do gênero *Paspalum* por Norrmann et al. (1989). O processo de diploidização, segundo Schifino-Wittmann (2004) e Stebbins (1971), caracteriza-se pela tendência do poliplóide se comportar como diplóide, tanto no pareamento cromossômico como na herança.

Vale destacar que a idéia tradicional de que, após o evento de poliploidização, a população ou nova espécie teria se expandido e colonizado novos espaços (Schifino-Wittmann, 2004) foi descartada, após estudos feitos por Soltis e Soltis, (1995, 1999), os quais afirmam que a origem dos poliplóides pode ser variada, ocorrendo de forma recorrente e com ancestrais variados.

Quadro 2 - Associações cromossômicas observadas na diacinese nos acessos de *P. atratum* analisados e média de associações por célula (algarismos romanos expressam a configuração cromossômica em diacinese; I-uni, II-bi, III-tri e IV-quadrivalentes e a variação destes da menor e maior quantidade encontrados)

Código	2n	Associação Cromossômica						Média por Célula			
		Variação									
		I	II	III	IV	I	II	III	IV		
BRA-003638	40	-	(18-20)	-	(0-1)	-	(19,97)	-	(0,07)		
BRA-009407	40	(0-8)	(15-20)	(0-1)	(0-1)	(2,03)	(17,97)	(0,17)	(0,03)		
BRA-009415	40	-	(16-20)	-	(0-2)	-	(19,73)	-	(0,13)		
BRA-009431	40	(0-2)	(8-20)	-	(0-7)	(0,07)	(18,30)	-	(0,83)		
BRA-009661	40	(0-2)	(16-20)	-	(0-2)	(0,07)	(19,50)	-	(0,23)		
BRA-009687	40	(0-10)	(11-20)	(0-1)	(0-3)	(0,53)	(17,80)	(0,07)	(0,08)		
BRA-011681	40	-	(16-20)	-	(0-2)	-	(17,33)	-	(1,33)		
BRA-022934	40	(0-4)	(16-20)	(0-1)	(0-2)	(0,50)	(18,50)	(0,17)	(0,47)		
BRA-023299	40	(0-8)	(8-20)	(0-1)	(0-4)	(1,20)	(17,53)	(0,07)	(0,97)		
BRA-023329	40	-	(12-20)	-	(0-4)	-	(16,93)	-	(15,33)		
BRA-023353	40	(0-1)	(14-20)	-	(0-3)	(0,07)	(18,70)	-	(0,93)		
BRA-023442	40	-	(8-20)	-	(0-6)	-	(17,53)	-	(1,23)		

4.2. Comportamento meiótico

4.2.1. Segregação irregular de cromossomos

O Quadro 3 mostra os resultados encontrados na análise do comportamento meiótico dos acessos de *P. atratum*. O acesso BRA-009687 destacou-se entre os demais por apresentar alto índice de anormalidades, principalmente no que tange o produto final da meiose.

Com exceção do acesso BRA-009687, que possui alto índice de anormalidades meióticas, dos acessos BRA-023019 e BRA-023612, que possuem indícios da ocorrência de translocação e do acesso BRA-023353, que possui falha na segunda citocinese, todos os demais, mesmo apresentando algumas anormalidades durante a meiose, demonstraram regularidade (Figura 2) e sucesso na formação do produto final (Figura 2i). Além disso, conforme Quadro 3, o índice de anormalidades no produto final (tétrade de micrósporos) foi baixo.

Quadro 3 - Número de células analisadas e percentagem de células com anormalidades meióticas em cada fase da meiose para os 14 acessos de *P. atratum*. (MI: Metáfase I, AI: Anáfase I, TI: Telófase I, PII: Prófase II, MII: Metáfase II, AII: Anáfase II, TII: Telófase II)

Acesso	2n	Total de células	Nº células analisadas / (% células anormais)											
			Fases da meiose									Tétrade.	Tríade.	Díade
			MI	AI	TI	PII	MII	AII	TII					
BRA-003638	40	797	150 (18,00)	13 (53,85)	111 (13,51)	130 (6,92)	136 (26,48)	5 (60,00)	114 (12,28)	108 (18,52)	-	-		
BRA-009407	40	911	185 (16,76)	7 (57,14)	138 (15,94)	126 (8,73)	149 (30,87)	13 (53,85)	148 (7,43)	145 (6,20)	-	-		
BRA-009415	40	955	225 (12,44)	30 (16,67)	137 (5,84)	143 (7,70)	108 (5,55)	2 (0,00)	120 (5,00)	160 (3,12)	-	-		
BRA-009431	40	948	179 (10,05)	7 (71,43)	134 (0,75)	140 (0,00)	125 (0,00)	7 (0,00)	191 (3,14)	135 (0,00)	-	-		
BRA-009661	40	800	135 (17,78)	7 (71,43)	108 (2,78)	139 (9,35)	118 (6,78)	7 (28,57)	140 (11,43)	116 (18,10)	-	-		
BRA-009687	40	809	130 (38,46)	23 (82,60)	141 (68,08)	110 (72,73)	120 (75,00)	5 (100,00)	115 (56,52)	135 (77,78)	-	-		
BRA-011681	40	426	54 (3,70)	13 (23,07)	33 (15,15)	11 (0,00)	63 (22,22)	9 (22,22)	129 (6,98)	111 (9,90)	-	-		
BRA-022934	40	934	126 (11,11)	30 (33,33)	115 (8,70)	118 (3,40)	108 (1,85)	8 (12,50)	112 (0,00)	287 (0,70)	-	-		
BRA-023019	40	2001	236 (6,36)	29 (17,24)	116 (6,03)	184 (0,54)	126 (1,60)	11 (0,00)	140 (0,71)	1091 (1,62)	-	-		
BRA-023299	40	765	125 (24,00)	12 (75,00)	110 (22,73)	125 (0,00)	117 (21,37)	2 (100,00)	108 (12,03)	136 (19,12)	-	-		
BRA-023329	40	716	130 (15,40)	6 (66,67)	116 (0,86)	110 (0,00)	108 (21,30)	3 (33,33)	108 (2,78)	105 (0,00)-	-	-		
BRA-023353	40	1418	196 (40,82)	29 (51,72)	161 (50,31)	164 (37,80)	110 (63,64)	7 (71,43)	108 (44,45)	425 (45,88)	18 (5,56)	170 (61,76)		
BRA-023442	40	829	131 (0,76)	3 (33,33)	105 (0,00)	100 (0,00)	150 (2,00)	6 (16,67)	133 (3,90)	171 (0,58)	-	-		
BRA-023612	40	1367	465 (4,30)	28 (7,14)	116 (0,86)	131 (0,76)	165 (0,00)	9 (0,00)	108 (0,00)	315 (0,00)-	-	-		

A análise citológica dos acessos demonstrou comportamento típico de poliplóides (Figura 3), os quais apresentaram as anormalidades: migração precoce de cromossomos em metáfase I (Figura 3a) e II (Figura 3f e 3g) e cromossomos retardatários em anáfase I (Figura 3b e 3c) e II, que geralmente levaram à formação de micronúcleos em telófases (Figura 3d e 3h), prófase II (Figura 3e) e tétrades (Figura 3i). É importante destacar que, seja qual for o destino dos micronúcleos, permanecendo como micronúcleos nos micrósporos da tétrade ou isolando-se como micrócitos, o resultado genético será a formação de gametas desbalanceados, que culminará na esterilidade do grão de pólen (Pagliarini et al., 2009).

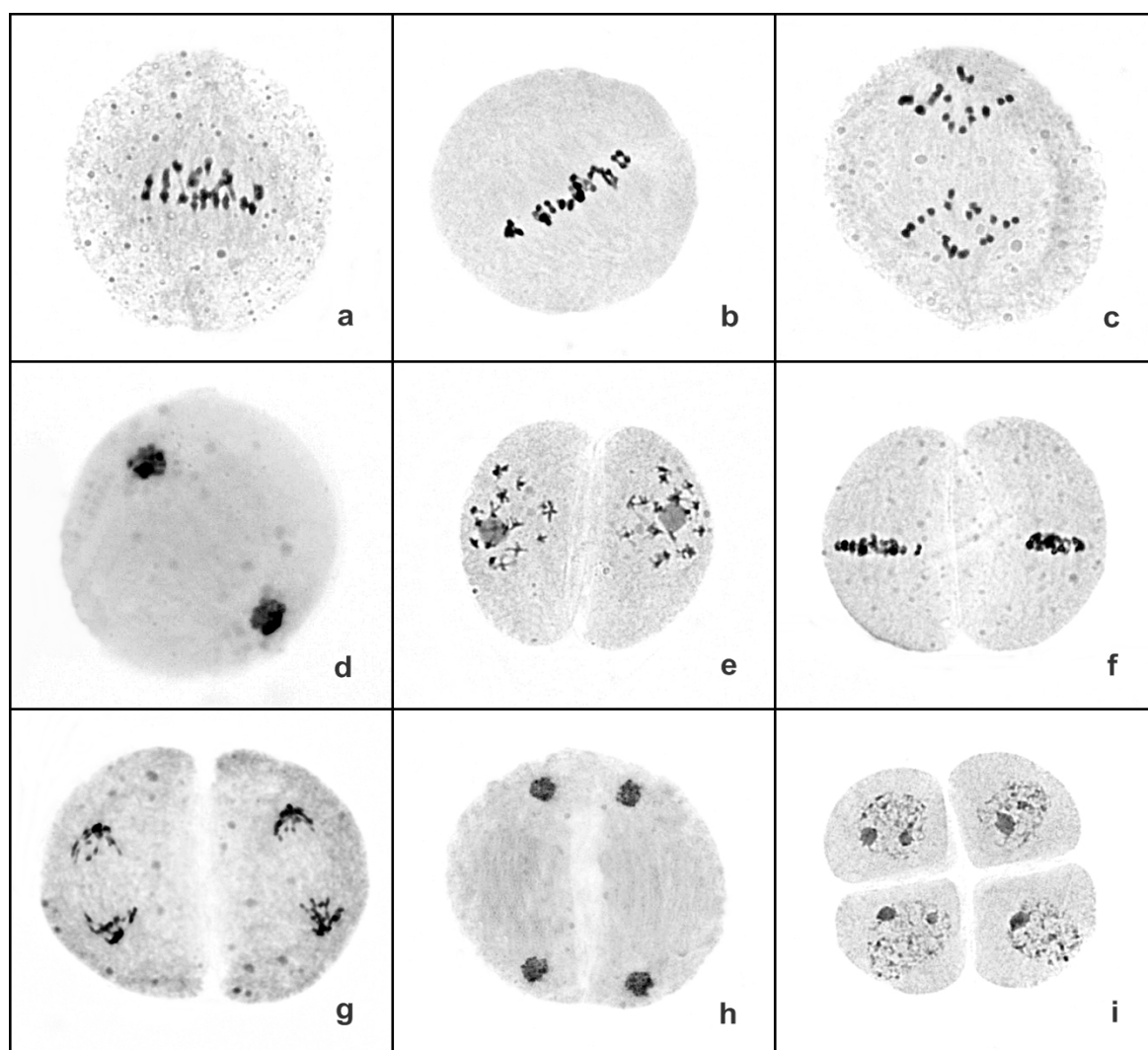


Figura 2 – Meiose normal em acessos de *P. atratum*. a) Metáfase I. b) Metáfase I. c) Anáfase I. d) Telófase I. e) Prófase II, f) Metáfase II. g) Anáfase II. h) Telófase II. i) Tétrade de micrósporos.

Os acessos BRA-009431 e BRA-023329 não demonstraram nenhuma anormalidade nos micrósporos analisados, enquanto os acessos BRA-009407, BRA-009415, BRA-011681, BRA-022934 e BRA-023442 apresentaram menos de 10% de anormalidades. Já nos acessos BRA-003638, BRA-009661 e BRA-023299, foram detectadas em torno de 19% de anormalidades, o que é tido como dentro de uma condição satisfatória, pois um acesso requer cuidado para utilização nos programas de melhoramento ou lançamento de cultivar quando estas anormalidades atingem mais de 30% dos micrósporos, visto que acima deste índice ocorrerão dificuldades na manutenção do cultivo, pois a espécie terá problemas na produção de sementes.

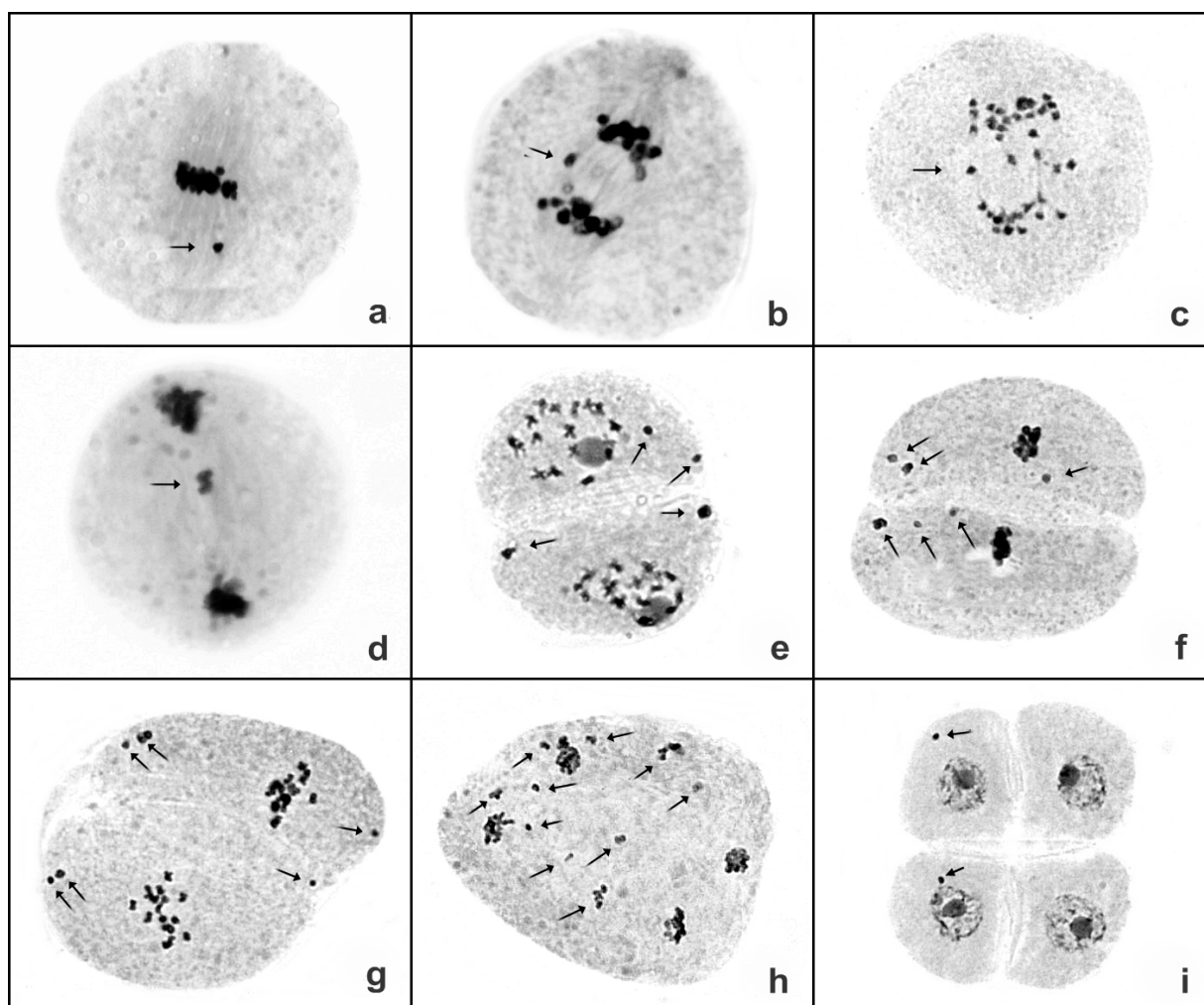


Figura 3 - Anormalidades meióticas em acessos tetraplóides de *P. atratum*. a) Metáfase I com ascensão precoce (seta). b e c) Anáfase I com cromossomos retardatários (seta). d) Telófase I com micronúcleo (seta). e) Prófase II com micronúcleos (setas). f e g) Metáfase II com ascensão precoce (setas). h) Telófase II com micronúcleos (setas). i) Tétrade com micronúcleo (setas).

Destaca-se que o *P. atratum* é considerado um excelente produtor de sementes, além disso, ainda não foi estabelecida a relação exata entre anormalidades no grão de pólen e a eficácia deste na fertilização do núcleo secundário do saco embrionário para a formação do endosperma da semente, sendo esta a única participação do gameta masculino na reprodução de espécies apomíticas pseudogâmicas, como no caso de gramíneas do gênero *Brachiaria* e *Paspalum* (Veilleux, 1985).

4.2.2. Gametas não reduzidos

Como é possível visualizar no Quadro 3, o acesso de *P. atratum* BRA-023353 apresentou com produto final de meiose, além de tétrades, díades e tríades (Figura 4).

A análise meiótica possibilitou observar todas as fases da meiose que apresentaram anormalidades típicas de poliplóides. No entanto, ao chegar em telófase II, notou-se que o produto final da meiose variou entre díades, tríades e tétrades. Díades e tríades são produtos característicos da ausência ou falha na primeira e/ou segunda citocinese.

A divisão meiótica é caracterizada como um complexo fenômeno que culmina na formação de gametas com número de cromossomos reduzidos à metade. Muitas pesquisas já comprovaram que a meiose é geneticamente controlada e que alguns mutantes meióticos podem comprometer seu resultado final. Dentre esses mutantes, há um que compromete a citocinese, que é a divisão do citoplasma, que é esperada que ocorra duas vezes durante a meiose, uma ao final da telófase I e outra ao final da telófase II (Singh, 2003).

A ocorrência de falha ou ausência na citocinese em gramíneas não é considerada um fenômeno raro. Em *Brachiaria*, mutantes meióticos relacionados à citocinese foram descritos por Risso-Pascotto et al. (2003), Utsunomiya et al. (2005), Boldrini et al. (2006), Adamowski et al. (2007) e Gallo et al. (2007). No gênero *Paspalum*, estudos do comportamento meiótico de espécies deste gênero, desenvolvidos por Pagliarini et al. (1999) demonstraram que a falha de citocinese ocorre com certa frequência, sendo mais comum na segunda divisão da meiose.

A ausência de citocinese pode resultar na formação de gametas $2n$ (não reduzidos), os quais possuem grande papel na evolução (Mendes-Bonato et al.,

2002). É consenso entre pesquisadores de que os poliplóides naturais surgiram pela união de gametas não reduzidos (Harlan & De Wet, 1975; Hermsen, 1984; Veilleux, 1985; Bretagnolle e Thompson, 1995; Briggs e Schemske, 1998; Carputo et al., 2003).

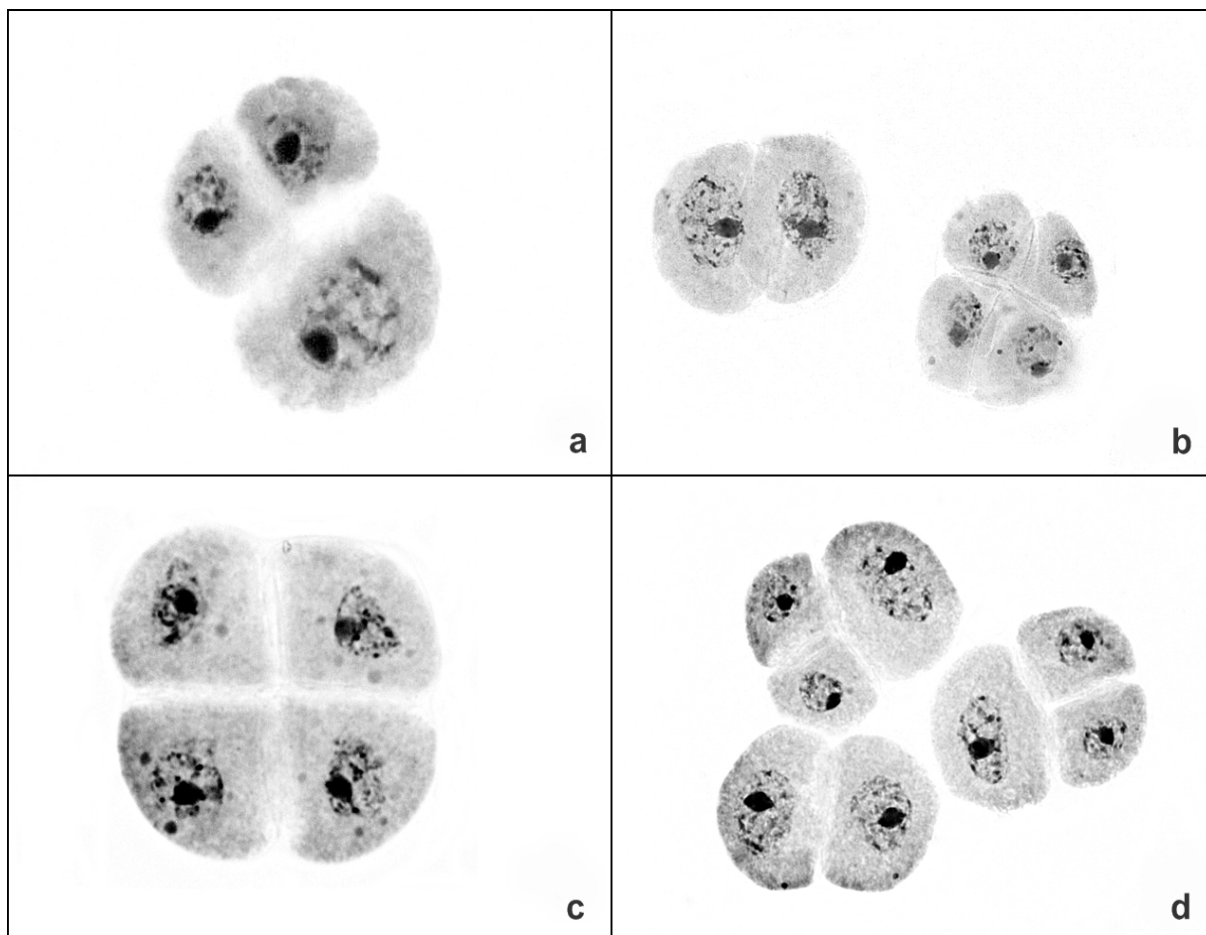


Figura 4 – Produto final do acesso de *P. atratum* BRA-023353. a) Tríade de micrósporos. b) Díade e tétrede. c) Tétrede. d) Tríades e díade.

Quando balanceados, os gametas $2n$ têm grande importância no melhoramento, podendo ser utilizados de duas formas: na poliploidização sexual e/ou para transferência de genes desejáveis de espécies diplóides para cultivares poliplóides (Schifino-Wittmann, 2004).

Segundo Yan et al. (1997), é possível calcular a frequência de gametas não reduzidos pela observação do número de díades (D), tríades (Tr) e tétrades (T), ao final da microsporogênese: $GNR = (2D+Tr) / (2D+3Tr+4T)$, onde o numerador ($2D+Tr$) representa o número total de gametas $2n$, ou seja, uma díade corresponde

a dois gametas não reduzidos e uma tríade a um, respectivamente. O denominador representa o número total de gametas observados.

Aplicando-se esta fórmula nos dados obtidos para o acesso BRA-023353, tem-se o índice de 17% de frequência de gametas não reduzidos, valor considerável, frente a sua importância para o melhoramento. No entanto, cerca de 60% dos micrósporos apresentaram um alto índice de anormalidades, como a presença de micronúcleos (Quadro 3).

Destaca-se que estes dados provêm de uma única análise e que, conforme Carputo et al. (2003), a variação na frequência do surgimento de gametas $2n$ pode ser atribuída a alguns fatores, como o grau de penetrância e expressividade dos alelos mutantes responsáveis pela produção desses gametas e também a fatores ambientais. Conforme Simioni (2004), variações na temperatura, estresse hídrico e nutricional podem afetar a produção de gametas não reduzidos. Assim, novas análises são necessárias para traçar melhor o perfil citogenético deste acesso, de modo a determinar com maior precisão se a formação de gametas $2n$ (não reduzidos) possui origem genética ou ambiental e avaliar as anormalidades presentes nesses gametas.

4.2.3. Translocação

Os acessos de *P. atratum* BRA-023019 e BRA-023612 apresentaram pareamento cromossômico atípico em diacinese, ou seja, não seguiram as associações esperadas para o nível tetraplóide (bivalentes, trivalentes e tetravalentes). Apresentaram associações cromossômicas múltiplas, características da ocorrência de translocação (Figura 5).

As translocações são resultados da troca recíproca (ou não) de segmentos terminais de cromossomos não homólogos (Singh, 2003). Esse tipo de rearranjo cromossômico foi observado pela primeira vez por Gates (1908) em *Oenothera rubrinervis*, onde mais de dois cromossomos se uniram para formar um anel.

Segundo Sybenga (1972), as translocações são classificadas em duas categorias: (1) translocação recíproca (também chamadas de intercâmbios), que ocorre quando dois cromossomos trocam simetricamente um segmento, sendo uma quebra em cada cromossomo suficiente quando o segmento é terminal, situação mais comum; (2) translocação intersticial, que exige duas quebras em um

cromossomo ou braço cromossômico e uma em outro, seguido por deslocamento do segmento entre as duas quebras do primeiro, para o intervalo da quebra do segundo. Nesse caso, é necessária que ocorram três quebras, seguido da união desses segmentos, combinado com uma interação entre essas lesões, que muitas vezes não é percebida. Este tipo de translocação é, portanto, muito rara e de difícil identificação, se comparada ao tipo “recíproca”, facilmente reconhecida na meiose. Para Guerra (1988), há ainda a classificação em translocação simples, que ocorre quando apenas um segmento é translocado de um cromossomo a outro.

Em plantas, Belling e Blakeslee (1926) elaboraram uma hipótese de intercâmbio segmentar no pareamento cromossômico estudado em *Oenothera* e sugeriram que a formação de um círculo é devido à translocação recíproca. Um intercâmbio heterozigótico pode ser identificado citologicamente, por esterilidade parcial do pólen ou sementes, ou por testes genéticos.

Conforme Sybenga (1972), com base na configuração cromossômica do paquíteno, em forma de “cruz”, o número de quiasmas determina a forma das configurações que irão permanecer até a diacinese e metáfase I. A probabilidade de um ou mais quiasmas serem formados num certo segmento depende de alguns fatores, tais com o tamanho do segmento, o nível de troca e características próprias do segmento, de acordo com a espécie. A probabilidade dos segmentos permanecerem ligados até a metáfase I determina a frequência das diferentes configurações, que permite estimar se cada segmento possui um ou mais quiasmas. Para uma única translocação, quiasmas em todos os segmentos resultam numa figura de “oito”. Isto requer quiasmas nos segmentos intersticiais, o que tende a ser raro. O mais comum é a presença de anéis quadrivalentes, seguido da frequência de cadeias quadrivalentes, que indica a ocorrência de uma translocação. Um anel com seis cromossomos indica que um mesmo cromossomo está envolvido em duas translocações (Swanson, 1981).

A ocorrência de translocação causa uma redistribuição de material genético entre os cromossomos. Entretanto, após a separação dos homólogos, na meiose, metade dos gametas será não-balanceada, contendo deleções e duplicações. Além disso, a ocorrência de translocações pode afetar a expressão de genes contidos nos segmentos envolvidos (Guerra, 1988; Singh, 2003). Em espécies diplóides de plantas, translocações heterozigóticas geralmente apresentam aproximadamente

50% de esterilidade do pólen. Em cruzamentos entre *Glycine max* X *G. soja*, estudados por Singh e Hymowitz (1988), a fertilidade do pólen variou de 49,2 a 53,3%. Pesquisas com gramíneas, como o milho, realizada por Peirozzi (1984), demonstraram que, quando há translocação, a viabilidade do grão de pólen também apresenta cerca de 50% de esterilidade, podendo variar para mais ou para menos.

No entanto, Sybenga (1972, 1975) e Singh (2003) destacam que em poliplóides, intercâmbios heterozigóticos não seguem essa proporção próxima de 50% de esterilidade para o grão de pólen ou semente, mesmo que os pais difiram por duas translocações. Plantas tetraplóides de algodão (Brown, 1980), hexaplóides de trigo (Baker e McIntosh, 1966) e hexaplóides de aveia (Singh e Kolb, 1991) foram extensivamente estudados. Em hexaplóides de aveia, a fertilidade do pólen em híbridos F₁ variou de 91,6 a 99,7% e nos pais a variação foi de 94,1 a 95,5%. Estes resultados sugerem que esporos poliplóides translocados masculinos e femininos são tão competitivos como os normais (SINGH, 2003).

Nas configurações encontradas nos acessos de *P. atratum* BRA-023019 e BRA-023612, foram observadas cadeias, anéis e anéis alternados, caracterizando a ocorrência de translocações. Em se tratando de poliplóides, tetravalentes ($2n = 4x = 40$), considerar-se-á que, enquanto um anel ou cadeia de quatro cromossomos é observado para uma translocação em diplóides, no material analisado sendo este tetraplóide, será esperado observar cerca de oito cromossomos associados. Para duas translocações, em diplóides, ocorre associação em cadeia ou anel, com 6 cromossomos; em tetraplóides, espera-se cerca de 12 cromossomos associados.

A ocorrência de translocações nestes dois acessos requer mais estudos, tanto a fim de melhor comprová-la, quanto para identificar suas consequências numa planta apomítica, para saber quais os efeitos causados no grão de pólen, se este será mesmo inviável para fecundar o núcleo secundário e promover a formação de uma semente cheia ou se, neste caso, essa alteração não trará nenhum dano a planta. Na metáfase I, as translocações foram ainda identificadas (Figura 6a, b, c e d). As demais fases da meiose apresentaram poucas anormalidades, típicas de poliplóides (Figura 6). Além disso, conforme Sybenga (1972), as translocações podem ocorrer devido a influências ambientais. Os acessos envolvidos foram coletados no Estado do Mato Grosso do Sul e são

mantidos no banco de germoplasma em São Carlos-SP, os quais não se adaptaram às condições edafoclimáticas da região. Se comprovados estes rearranjos cromossômicos, estes dois acessos não seriam uma boa opção para utilização em cruzamentos do programa de melhoramento e nem mesmo para dar origem a novas cultivares por seleção direta.

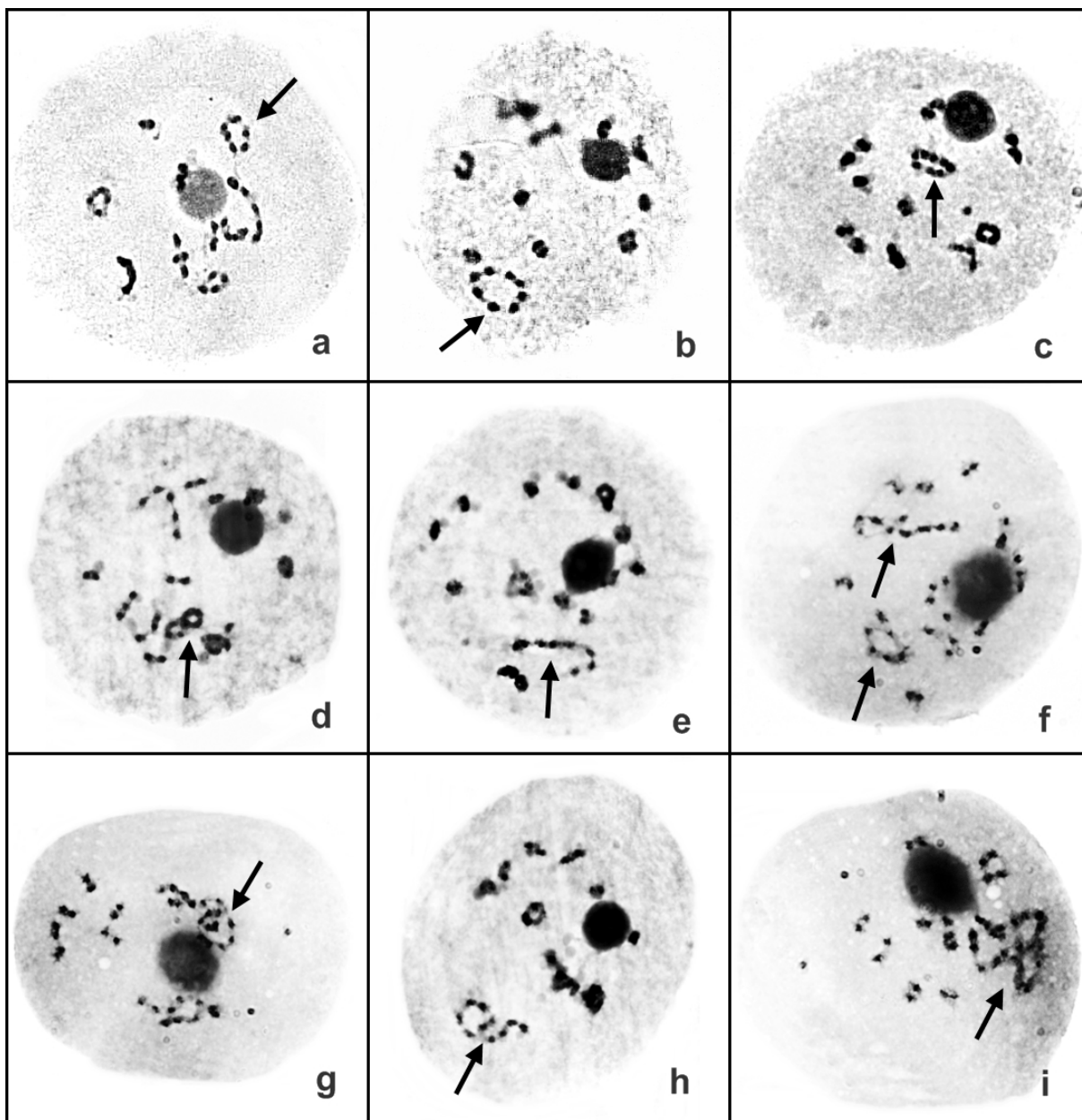


Figura 5 – Meiócitos em diacinese dos acessos translocados de *P. atratum* BRA-023019 e BRA-023612. a) Associação em anel hexavalente. b e c) Anel octavalente. d) Configuração alternada de octavalente. e) Cadeia octavalente. f) Anel pentavalente e cadeia decavalente. g) Cadeias octavalentes. h) Cadeia decavalente. i) Cadeia undecavalente.

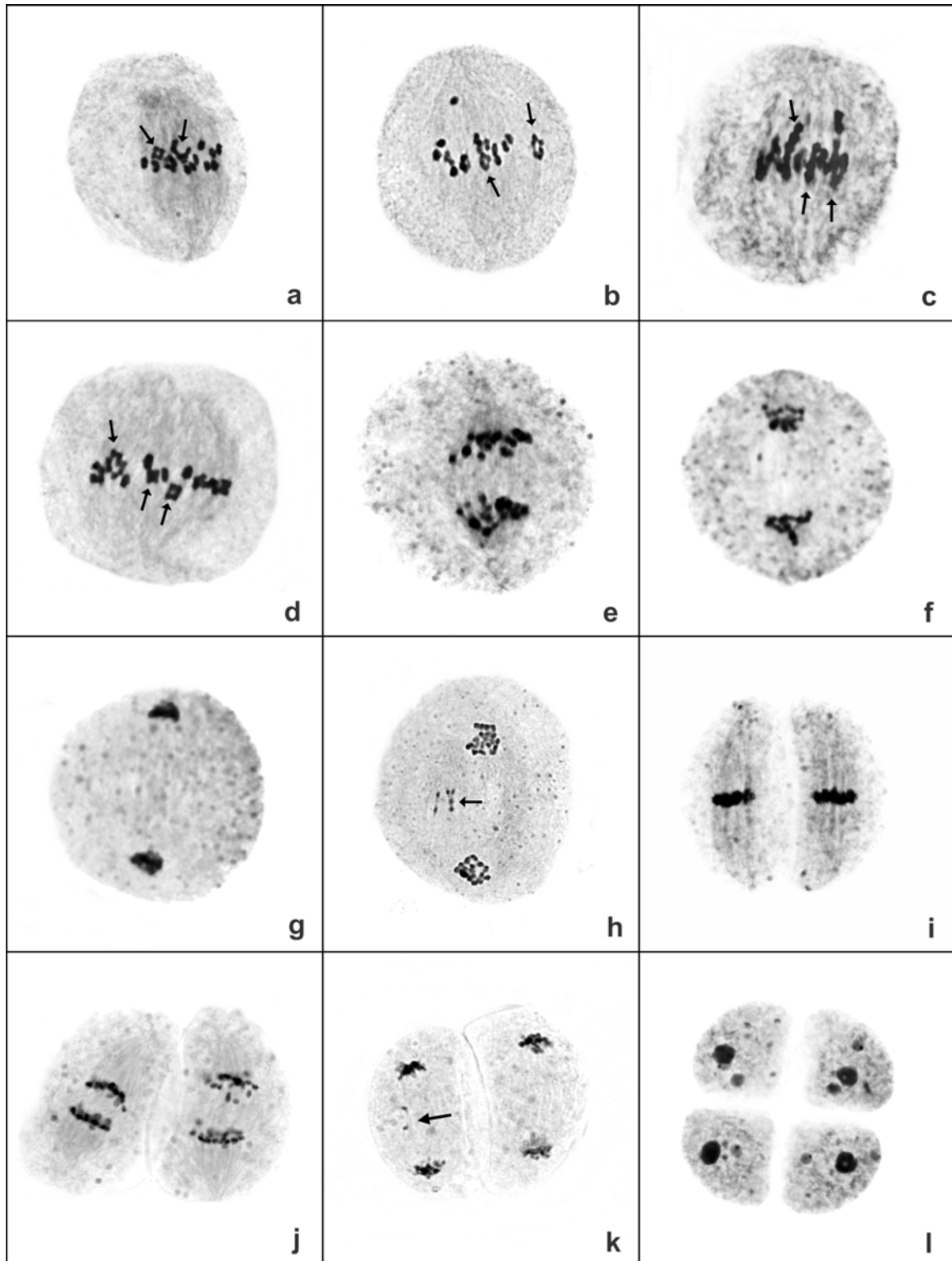


Figura 6 – Fases da meiose dos acessos de *P. atratum*, BRA-023019 e BRA-023612. a, b, c e d) Metáfase I com associação cromossômica múltipla (setas). e, e f) Anáfase I normal. g) Telófase I normal. h) Telófase I com tetravalente retardatório. I) Metáfase II normal. j) Anáfase II normal. k) Telófase II com micronúcleo (seta). l) Tétrade de micrósporos.

4.3. Considerações finais

Paspalum atratum é uma espécie de grande valor agrônômico, tanto nacional como internacionalmente e suas características podem ser combinadas por meio de hibridização intra ou interespecíficas nos programas de melhoramento para obtenção de novas cultivares.

Dentre os acessos analisados, com exceção dos acessos BRA-009687, BRA-023353, BRA-023019 e BRA-023612, todos se mostraram meioticamente confiáveis para serem utilizados em cruzamentos intra e interespecíficos, visto que as anormalidades encontradas são típicas de poliplóides/tetraplóides e não comprometeram o resultado final da meiose em índices preocupantes.

O acesso BRA-009687 não é uma boa indicação aos programas de melhoramento, pois possui muitas anormalidades meióticas, que comprometem cerca de 75% dos micrósporos produzidos.

O acesso BRA-023353, que possui como produto final díades, tríades além de tétrades, pode ser utilizado para poliploidização e transferência de genes de interesse nos programas de melhoramento.

Os acessos BRA-023019 e BRA-023612 inspiram cuidados em sua utilização, pois é necessário investigações sobre os efeitos que as translocações podem causar e se esta alteração tem origem genética ou ocorreram por influência ambiental.

Os quatro acessos de *P. atratum* destacados requerem mais estudos sobre suas anormalidades a fim de garantir a veracidade dos dados quanto ao produto final da meiose.

Em alguns casos, como nos acessos BRA-009431 e BRA-023329, nenhuma anormalidade meiótica foi detectada, enquanto os acessos BRA-003638, BRA-009407, BRA-009415, BRA-009661, BRA-011681, BRA-022934, BRA-023299 e BRA-023442 apresentaram anormalidades típicas de poliplóides em baixa frequência, sendo, portanto, candidatos ao lançamento direto de novas cultivares, ou utilizados na hibridização intra ou interespecíficas nos programas de melhoramento.

5. CONCLUSÕES

Após a análise citogenética realizada nos 14 acessos de *P. atratum*, pode-se chegar a algumas conclusões.

a) Todos os acessos são tetraplóides ($2n = 4x = 40$) e apresentaram números cromossômicos múltiplos de 10.

b) A quantidade de anormalidades meióticas foi variável, havendo alta estabilidade meiótica na maioria deles.

c) As anormalidades meióticas, na maioria dos casos, foram decorrentes do pareamento cromossômico em tri e quadrivalentes.

d) Os acessos BRA-023019 e BRA-023612 possuem indicativo confiável da ocorrência de translocação.

e) O acesso BRA-0023353 é fonte de formação de gametas não reduzidos.

f) O acesso BRA-009687 possui muitas anormalidades meióticas, sendo considerado impróprio para utilização nos programas de melhoramento.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMOWSKI, E.V.; BOLDRINI, K.R.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Abnormal cytokinesis in microsporogenesis of *Brachiaria humidicola* (Poaceae: Paniceae). **Genetics and Molecular Research**, 6:616-621, 2007.
- ADAMOWSKI, E.V.; PAGLIARINI, M.S.; BATISTA, L.A.R. Chromosome elimination in *Paspalum subciliatum* (Notata group). **Sexual Plant Reproduction**, 11:272-276, 1998.
- ADAMOWSKI, E.V.; PAGLIARINI, M.S.; BATISTA, L.A.R. Chromosome number and microsporogenesis in *Paspalum maritimum* (Caespitosa Group; Gramineae). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, 43:301-305, 2000.
- ADAMOWSKI, E.V.; PAGLIARINI, M.S.; MENDES-BONATO, A.B.; BATISTA, L.A.R.; VALLS, J.F.M. Chromosome numbers and meiotic behavior of some *Paspalum* accessions. **Genetics and Molecular Biology**, 28:773-780, 2005.
- BAKER, E.P.; MCINTOSH, R.A. Chromosome translocations identified in varieties of common wheat. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, 8:592-599, 1966.
- BARRETO, I.L. **O gênero *Paspalum* (Gramineae) no Rio Grande do Sul**. Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1974. 258p. Tese (Livre Docência).
- BARROS, T.; PEREIRA, E.A.; SCHNEIDER, R.; CASTRO, L.N.; VOLKMANN, G.K.; NOGUEIRA, C.; SIMIONI, C.; DALL'AGNOL, M. Avaliação de produção de forragem da progênie F₁ de híbridos interespecíficos de *Paspalum*. In: III INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE BREEDING, 2011, Bonito. **Resumos Expandidos...** Bonito: Embrapa, 2011. p. 353-356.
- BATISTA, L.A.R.; REGITANO NETO, N.A. **Espécies do gênero *Paspalum* com potencial forrageiro**. São Carlos: Embrapa Pecuária Sudeste, ISSN 1518-4757, 2000. (Documentos, 29).
- BELLING, J.; BLAKESLEE, A.F. On the attachment of non-homologous chromosomes at the reduction division in certain 25-chromosome *Daturas*.

Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 31:7-11, 1926.

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

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

BRIGGS, D.; WALTERS, S.M.; **Plant Variation and Evolution**. 3ed. Cambridge: Cambridge University Press, 1998. 512p.

BROWN, M.S. The division of the chromosomes of *Gossypium hirsutum* L. by means translocations. **Journal of Heredity**, 71:266-274, 1980.

BURSON, B.L. Cytology of some apomictic *Paspalum* species. **Crop Science**, 15:229-232, 1975.

BURSON, B.L. Apomixis and sexuality in some *Paspalum* species. **Crop Science**, 37: 1347-1351, 1997.

CÁCERES, M.E.; PUPILLI, F.; QUARÍN, C.L.; ARCIONI, S. Feulgen-DNA densitometry of embryo sacs permits discrimination between sexual and apomictic plants in *Paspalum simplex*. **Euphytica**, 110:161-167, 1999.

CARPUTO, D.; FRUSCIANTE, L.; PELOQUIN, S.T. The role of 2n gametes and endosperm balance number in the origin and evolution of polyploids in the tuber-bearing Solanums. **Genetics**, 163:287-295, 2003.

CARVALHO, M.A.; SOUSA, M.A.; DINIZ, A.M.F. **Profundidade da sementeira de *Paspalum atratum* cv. Pojuca**. Cidade: Embrapa, ISSN 1517-1469, 2000. (Comunicado Técnico, nº 40).

CHASE, A. The North American species of *Paspalum*. **Contributions from the United States National Herbarium**, 28:1-310, 1929.

DALL'AGNOL, M.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T. Apomixia, genética e melhoramento de plantas. **Revista Brasileira de Agrociência**, 2:127-133, 2005.

DE ROBERTIS, E.M.F.; HIB, J. **Bases da Biologia Celular e Molecular**. Rio de Janeiro:Guanabara Koogan, Terceira Edição, 2001. 418p.

EMBRAPA. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária. **Capim Pojuca aumenta a produção em cerrados e várzeas**. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2000/julho/bn.2004-11-25.8325437828/>>. Acesso: 26, setembro, 2012.

ESPINOZA, F.; URBANI, M.H.; MARTÍNEZ, E.J.; QUARIN, C.L. The breeding system of three *Paspalum* species with forage potential. **Tropical Grasslands**, 35:211-217, 2001.

FONSECA, D.M.; SANTOS, M.E.R.; MARTUSCELLO, J.A. Importância das forrageiras no sistema de produção. In: FONSECA, D.M.; MARTUSCELLO, J.A. (Eds.). **Plantas Forrageiras**. Viçosa: UFV, 2011. p. 13-29.

FORBES, I.; BURTON, G.W. Cytology of diploids, natural and induced tetraploids, and intraspecies hybrids of Bahiagrass, *Paspalum notatum* Flüge. **Crop Science**, 1:402-406, 1961a.

FORBES, I.; BURTON, G.W. Induction of tetraploidy and a rapid field method of detecting induced tetraploidy in Pensacola bahiagrass. **Crop Science**, 1:338-383, 1961b.

FREITAS, P.M.; TAKAYAMA, S.Y.; PAGLIARINI, M.S.; BATISTA, L.A.R. Evaluation of meiotic behavior in polyploid accessions of *Paspalum* (Plicatula Group). **The Nucleus**, 40:47-52, 1997.

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

GATES, R.R. A study of reduction in *Oenothera rubrinervis*. **Botanical Gazette**, 46:1-34, 1908.

GUERRA, M. **Introdução à Citogenética Geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 1423p.

HARE, M.D.; KAEWKUNYA, C.; TATSAPONG, P.; WONGPICHET, K.; THUMMASAENG, K.; SURIYAJANTRATONG, W.; Method and time establishing *Paspalum atratum* seed crops in Thailand. **Tropical Grasslands**, 35:19-25, 2001.

HARE, M.D.; KAEWKUNYA, C.; TUDSRI, S.; SURIYAJANTRATONG, W.; THUMMASAENG, K.; WONGPICHET, K. Effect of cutting on yield and quality of *Paspalum atratum* in Thailand. **Tropical Grasslands**, 35:144-150, 2001.

HARE, M.D.; SAENGKHAM, M.; KAEWKUNYA, C.; TUDSRI, S.; SURIYAJANTRATONG, W.; THUMMASAENG, K.; WONGPICHET, K. Effect of cutting on yield and quality of *Paspalum atratum* in Thailand. **Tropical Grasslands**, 35:144-150, 2001.

HARE, M.D.; SURIYAJANTRATONG, W.; WONGPICHET, K.; THUMMASAENG, K. *Paspalum atratum* – from a wild native plant in Brazil to commercial forage seed production in Thailand in 10 years. **International Herbage Seed**, 33:5-8, 2001.

HARE, M.D.; WONGPICHET, K.; SAENGKHAM, M.; THUMMASAENG, K.; SURIYAJANTRATONG, W. Juvenility and long-short day requirement in relation to flowering of *Paspalum atratum* in Thailand. **Tropical Grasslands**, 35:139-143, 2001.

HARE, M.D.; WONGPICHET, K.; TATSAPONG, P.; NARKSOMBAT, S.; SAENGKHUM, M. Method of seed harvest, closing date and height of closing cut affect seed yield and seed yield components in *Paspalum atratum* in Thailand. **Tropical Grasslands**, 33:82-90, 1999.

HARLAN, J.R.; DE WET, J.M. On *Ö* Winger and a prayer: the origins of polyploidy. **Botanical Review**, 41:361-390, 1975.

HERMSEN, J.G. Nature, evolution and breeding of polyploids. **Iowa State Journal Research**, 58:411-420, 1984.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Estabelecimentos e efetivo bovino, total e diferença entre os Censos Agropecuários de 1996 e 2006, segundo as Grandes Regiões e Unidades da Federação – 1996/2006.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/tab_brasil/tab16.pdf>. Acesso em: 26, setembro, 2012a.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção e exportação de carcaça bovina, suína e de frangos e participação da exportação na produção – Brasil – 1996/2006.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/agropecuaria/censoagro/brasil_2006/tab_brasil/tab15.pdf>. Acesso em: 26, setembro, 2012b.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Efetivo dos rebanhos em 31.12 e variação anual, segundo as categorias – Brasil – 2009-2012.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/tabelas_pdf/tab01.pdf>. Acesso em: 26, setembro, 2012c.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Efetivo dos rebanhos de grande porte em 31.12, segundo as Grandes Regiões e as Unidades da Federação.** Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/ppm/2010/tabelas_pdf/tab03.pdf>. Acesso em: 26, setembro, 2012d.

MCCLINTOCK, B. A cytological demonstration of the location of an interchange between two non-homologous chromosomes of *Zea mays*. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 16:791-796, 1930.

MEHRA, P.N.; CHAUDHARY, J.D. Male meiosis in some grasses of the tribe Paniceae from north eastern India. I. Genus *Paspalum*. **Cytologia**, 46:265-278, 1981.

MENDES BONATO, A.B.; VALLE, C.B.; PAGLIARINI, M.S.; PENTEADO, M.I.O. **Caracterização Citogenética de Acessos de *Brachiaria brizantha* (Gramineae).** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, ISSN 1679-0790, 15. 2002. 31p.

NORRMANN, G.A.; QUARÍN, C.L.; BURSON, B.L. Cytogenetics and reproductive

behavior of different chromosome races in six *Paspalum* species. **Journal of Heredity**, 80:24-28, 1989.

OBEID, J.A.; PEREIRA, D.H. Gênero *Paspalum*. In: FONSECA, D.M.; MARTUSCELLO, J.A. **Plantas forrageiras**. Viçosa: UFV, 2011. p. 131-165.

OLIVEIRA, R.C. **O gênero *Paspalum* L., grupo *Plicatula* (Poaceae: Paniceae), no Brasil**. Campinas: Universidade Estadual de Campinas, 2004. 366p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal).

PAGLIARINI, M.S.; POZZOBON, M.T., Meiose em vegetais: um enfoque para a caracterização de germoplasma. In: PEÑALOZA, A.D.P.S.; (Coord.) **II Curso de Citogenética Aplicada a Recursos Genéticos Vegetais**. Brasília, DF: Embrapa, 2005. 89p.

PAGLIARINI, M.S.; CARRARO, L.R.; FREITAS, P.M.; ADAMOWSKI, E.V.; BATISTA, L.A.R.; VALLS, J.F.M. Cytogenetic characterization of Brazilian *Paspalum* accessions. **Hereditas**, 135:27-34, 2001.

PAGLIARINI, M.S.; FREITAS, P.M.; BATISTA, L.A.R. Chromosome stickiness in meiosis of a Brazilian *Paspalum* accession. **Cytologia**, 65:289-294, 2000.

PAGLIARINI, M.S.; FREITAS, P.M.; TAKAYAMA, S.Y.; BATISTA, L.A.R. An original meiotic mutation in *Paspalum regnellii*. **Sexual Plant Reproduction**, 11:17-21, 1998.

PAGLIARINI, M.S.; TAKAYAMA, S.Y.; FREITAS, P.M.; CARRARO, L.R.; ADAMOWSKI, E.V.; BATISTA, L.A.R. Failure of cytokinesis and 2n gamete formation in Brazilian accessions of *Paspalum*. **Euphytica**, 108:129-135, 1999.

PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; BATISTA, L.A.R.; BONARO, A.B.M.; BOLDRINI, K.R.; ADAMOWSKI, E.V.; SILVA, N.; FUZINATTO, V.A.; FELISMINO, M.F.; PASCOTTO, C.R.; MESSAGE, H.J.; CALISTO, V. Cytogenetics of *Brachiaria* and *Paspalum* in relation to breeding. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO DE FORRAEGRAS. Campo Grande, 2009. **Resumos...** Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2009. 24p. (CD ROM).

PARODI, L.R. La taxonomía de las gramíneas Argentinas a la luz de las investigaciones más recientes. **Recent Advances in Botany**, 1:125-130, 1961.

PEREIRA, A.V.; VALLE, C.B.; FERREIRA, R.P.; MILES, J.W. Melhoramento de Forrageiras Tropicais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES – INGLIS, M.C. **Recursos Genéticos e Melhoramentos de Plantas**. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 449-601.

PIEROZZI, N.I.; CRUZ, N.D. Um caso de translocação em um híbrido entre *Zea mays* e *Z. Mexicana* (SCHARAD.) KUNTZE. **Bragantia**, 44: 619-627, 1985.

PIZARRO, E.A.; CARVALHO, M.A. Cerrado: introducción y evaluación agronomica de forrajeras tropicales. In: 1 REUNIÓN DE SABANAS, 1992, Cali. (Documento de Trabajo, 117). **Resumos...** Cali: CIAT, 1992. p. 1-68.

PODIO, M.; SIENA, L.A.; HOJSGAARD, D.; STEIN, J.; QUARÍN, C.L.; ORTIZ, J.P.A. Evaluation of meiotic abnormalities and pollen viability in aposporous and sexual tetraploid *Paspalum notatum* (Poaceae). **Plant Systematics and Evolution**, 298:1625-1633, 2012.

POZZOBON, M.T.; CARVALHO, A.C.M.; VAIO, M.; VALLS, J.F.M.; PEÑALOZA, A.P.S.; SANTOS, S.; CÔRTEZ, A.L.; RUA, G.H. Cytogenetic analyses in *Paspalum* L. reveal new diploid species and accessions. **Ciência Rural**, 5:1292-1299, 2008.

QUARÍN, C.L. The nature of apomixis and its origin in Panicoid grasses. **Apomixis Newsletter**, 5:7-15, 1992.

QUARÍN, C.L.; HANNA, W.W. Effect of three ploidy levels on meiosis and mode of reproduction in *Paspalum hexastachyum*. **Crop Science**, 20:69-75, 1980.

QUARÍN, C.L.; HANNA, W.W. Chromosome behavior, embryo sac development, and fertility of *Paspalum modestum*, *P. boschianum*, and *P. conspersum*. **Journal of Heredity**, 71:419-422, 1980a.

QUARÍN, C.L.; NORRMANN, G.A. Relaciones entre el número cromosomas, su comportamiento en la meiosis y sistema reproductivo del género *Paspalum*. In: IV CONGRESO LATINOAMERICANO DE BOTANICA. Bogota, Colombia. 1987.

Resumos... Bogotá: Instituto Colombiano para la Evaluación de la Educación ICFES, 1987. p. 25-35.

QUARÍN, C.L.; VALLS, J.M.F.; URBANI, M.H. Cytological and reproductive behavior of *Paspalum atratum*, a promising forage grass for the tropics. **Tropical Grasslands**, 31:114-116, 1997.

QUESENBERRY, K.H.; DAMPIER, J.M.; LEE, Y.Y.; SMITH, R.L.; ACUÑA, C.A. Doubling of chromosome number of bahiagrass via tissue culture. **Euphytica**, 175:43-50, 2010.

RAMSEY, J.; SCHEMSKE, D.W. Neopolyploidy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 33:589-639, 2002.

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 Breeding**, 122:136-140, 2003.

SARTOR, M.E.; QUARÍN, C.L.; ESPINOZA, F. Mode of reproduction of colchicine-induced *Paspalum plicatulum* tetraploids. **Crop Science**, 49:1270-1276, 2009.

SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; DALL'AGNOL, M. Gametas não reduzidos no melhroamento de plantas. **Ciência Rural**, 31:169-175, 2001.

SCHIFINO-WITTMANN, M.T. Poliploidia e seu impacto na origem e evolução das plantas silvestres e cultivadas. **Revista Brasileira de Agrociência**, 10:151-157, 2004.

SIMIONI, C. **Seleção para o aumento da produção de gametas não reduzidos e poliploidização sexual em trevo vermelho (*Trifolium pratense* L.)**. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2004. 211p. Tese (Doutorado em Zootecnia).

SINGH, R.J. **Plant Cytogenetics**. Boca Raton: CRC Press, 2003. 463p.

SINGH, R.J.; HYMOWITZ, T.. The genomic relationship between *Glycine max* (L.) Merr. and *G. soja* Sieb. and Zucc. as revealed by pachytene chromosome analysis. **Theoretical and Applied Genetics**, 76:705-711, 1991.

SINGH, R.J.; KOLB, F.L. Chromosomal interchanges in six hexaploid oat genotypes. **Crop Science**, 31:726-729, 1991.

SOLTIS, D.E.; SOLTIS, P.S. The dynamic nature of polyploid genomes. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA**, 92:8089-8091, 1995.

SOLTIS, D.E., SOLTIS, P.S. Polyploid: recurrent formation and genome evolution. **Trends in Ecology and Evolution**, Oxford. 14:348-352, 1999.

STEBBINS, G.L. Types of polyploids: their classification and significance. **Advances in Genetics**, 1:403-429, 1947.

STEBBINS, G.L. **Chromosomal Evolution in Higher Plants**. Reading: Addison-Wesley, 1971. 216p.

SWANSON, C.P. **Cytogenetics**. Englewood Cliffs: Prentice Hall, 1981. 577p.

SYBENGA, J. **General Cytogenetics**. New York: North-Holland Publishing Company, 1972. 359p.

SYBENGA, J. **Meiotic Configurations**. New York: Springer Verlag, 1975. 251p.

SYBENGA, J. Preferential pairing estimates from multivalent frequencies in tetraploids. **Genome**, 37:1045-1055, 1994.

SYBENGA, J. Chromosome pairing affinity and quadrivalent formation in polyploids: Do segmental allopolyploids exist? **Genome**, 39:1176-1184, 1996.

TAKAYAMA, S.Y.; FREITAS, P.M.; PAGLIARINI, M.S.; BATISTA, L.A.R. Chromosome number in germplasm accessions of *Paspalum* (Plicatula group) from different regions in Brazil. **Euphytica**, 99:89-94, 1998.

TAVARES, T. **Capim Pojuca aumenta produção em cerrado e várzeas**. Disponível em: <<http://www.embrapa.br/imprensa/noticias/2000/julho/bn.2004-11-25.8325437828/>>. Acesso em: 26, setembro, 2012.

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.

VALLE, C.B.; SAVIDAN, Y.H. Genetics, cytogenetics and reproductive biology of *Brachiaria*. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B.. **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. CIAT/Embrapa, Colombia/Brasilia, 1996. p. 147-163.

VALLS, J.F.M. Principais gramíneas forrageiras nativas das diferentes regiões do Brasil. In: III SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL. Campo Grande, 1986. **Resumos...** Campo Grande: Fundação Cargil, 1986. p. 69-80.

VALLS, J.F.M. Recursos genéticos de espécies de *Paspalum* no Brasil. In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO GENÉTICO DE *PASPALUM*. Nova Odessa, 1987. **Resumos...** Nova Odessa: IZ/CNPGC, 1987. p. 3-13.

VEILLEUX, R. Diploid and polyploid gametes in crop plants: mechanisms of formation and utilizations in plant breeding. **Plant Breeding Reviews**, 3:252-288, 1985.

YAN, G.; FERGUSON, A.R.; McNEILAGE, M.A.; MURRAY, B. G. Numerically unreduced (2n) gametes and sexual polyploidization in *Actinidia*. **Euphytica**, 96:267-272, 1997.