

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**VARIABILIDADE CITOGENÉTICA EM UMA COLEÇÃO DE ACESSOS DE
Paspalum notatum Flüge**

NAIR DAHMER BALBINOT
BIÓLOGA (UFSM)

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Zootecnia
Área de concentração Plantas Forrageiras

Porto Alegre, (RS) Brasil
Março, 2007

Dedico esta dissertação:
Aos meus pais FREDOLINO Dahmer (em memória) e
OTELINA Schmitt Dahmer (em memória), pela vida e pelos ensinamentos.
Meu irmão ARNILDO e minha irmã NEIVA (em memória).
Aos meus pais ARNALDO Schmitt e IARA Rosane Paniz Schmitt,
por terem me adotado como filha, sem vocês não teria chegado até aqui.

AGRADECIMENTOS

À todos que de uma ou outra forma colaboraram para que este trabalho se realizasse.

Minha orientadora Dr^a Maria Teresa Schifino-Wittmann pela orientação, incentivo, compreensão, amizade e palavras de apoio nos momentos difíceis que passei.

Meu co-orientador Dr^o Miguel Dall’Agnol pelos ensinamentos e amizade.

A CAPES pela bolsa de estudos.

À Marisa Toniolo Pozzobon pela colaboração, amizade e apoio.

Ao Nelson pelo amor e compreensão nos momentos finais do meu trabalho.

À Biane de Castro pela amizade, carinho, pelo excelente trabalho que desenvolveu como bolsista me ajudando neste projeto.

À Ionara Conterato pela amizade e ajuda recebida no andamento do trabalho.

Aos colegas e amigos (as), Samantha, Ana Paula, Ionara, Fernanda, Paula, Viviane, Maristela, Camila, Joaquim, Ricardo, Armando, Danielle, Kelly pela amizade e agradável convivência.

Ao Zanir pelo apoio, me incentivando sempre a não desistir, pela amizade e carinho.

À Karin, Merton e Jean Wondracek pelo carinho, apoio, amizade desde o início deste trabalho.

À família Paniz: Pedro, Antônia, Ana Lúcia, Joel, Fernando, Lílian, Paulo e Jose por serem meus maiores incentivadores.

Minha família do coração Arnaldo e Iara, meus irmãos Bernardo e Luciano pelos ensinamentos, incentivo, amor e carinho, vocês são pessoas únicas e especiais na minha vida.

VARIABILIDADE CITOGENÉTICA EM UMA COLEÇÃO DE ACESSOS DE *Paspalum notatum* Flüge

Autora: Nair Dahmer Balbinot
Orientadora: Maria Teresa Schifino-Wittmann
Co-orientador: Miguel Dall'Agnol

RESUMO

Paspalum notatum é uma espécie forrageira tetraplóide ($2n=4x=40$) apomítica de ampla ocorrência na região sul do Brasil. Diplóides sexuais naturais só foram encontrados, até o momento na Argentina, zona de origem do Pensacola, *P. notatum* var. *saurae* ($2n=2x=20$). Neste trabalho foi determinado o número cromossômico de 93 acessos de *P. notatum*, que fazem parte de um projeto de melhoramento genético do DPFA, obtidos de diferentes locais. Destes, 84 eram *P. notatum* "típico", um *P. notatum* André da Rocha, um *P. notatum* Bagual, todos tetraplóides com $2n=40$. Os sete acessos de Pensacola tinham $2n=20$. Um dos acessos apresentou $2n=20$ e, apesar de morfológicamente mais semelhante a *P. notatum* "típico", é provavelmente um escape de Pensacola. Outro acesso, com $2n=60$, precisa ser reavaliado quanto à sua morfologia e taxonomia. O comportamento meiótico foi analisado em 39 acessos de *P. notatum* e seis de Pensacola. Os acessos de *P. notatum* apresentaram freqüências variáveis de configurações cromossômicas. Em cinco desses acessos, 20 bivalentes foram observados em todas as células. Todos os diplóides apresentaram sempre 10 bivalentes. A viabilidade de pólen variou de 72,40% a 98,00% entre os acessos de *P. notatum*, e de 82,47% a 95,93% em Pensacola. Os dados reforçam a ausência de indivíduos diplóides em populações naturais fora da área de origem do Pensacola. Apesar de não haver variabilidade no número cromossômico em *P. notatum*, há uma grande variabilidade na freqüência de associações cromossômicas. A relativamente alta fertilidade de pólen dos tetraplóides é explicável pela necessidade de polinização para formação do endosperma e indica a possibilidade de utilização destes acessos como progenitores masculinos, em programas de melhoramento, caso sejam identificados indivíduos sexuais.

¹.Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (67p). Março, 2007.

CYTOGENETIC VARIABILITY IN A COLLECTION of *Paspalum notatum* Flügg ACCESSIONS

Author: Nair Dahmer Balbinot
Adviser: Maria Teresa Schifino-Wittmann
Co-adviser: Miguel Dall'Agnol

ABSTRACT

Paspalum notatum is a tetraploid ($2n=4x=40$) apomitic forage species widely occurring in Southern Brazil. Natural sexual diploids have only been found in the region of origin of Pensacola in Argentina, *P. notatum* var. *saurae* ($2n=2x=20$). In this work, chromosome numbers were determined in 93 accessions of *P. notatum*, that are included in a genetic breeding project of the DPFA. From these, 84 were *P. notatum* "typical", one *P. notatum* André da Rocha, one *P. notatum* Bagual, all tetraploid, with $2n=40$. The seven Pensacola accessions had $2n=20$. One accession presented $2n=20$ and, despite being morphologically very similar to *P. notatum* "typical" is most probably an escape of Pensacola. Another accession had $2n=60$, and should be reevaluated regarding its morphology and taxonomy. Meiotic behavior was analyzed in 35 *P. notatum* and six Pensacola accessions. *P. notatum* accessions presented variable frequencies of chromosomal configurations. In five accessions, 20 bivalents were observed in all the cells. All the diploids presented always 10 bivalents. Pollen viability ranged from 72, 40% to 98,00% among the 64 *P. notatum* accessions and from 82,47% to 95,93% in Pensacola. The results support the absence of diploid populations outside the area of origin of Pensacola. Despite the absence of variability in chromosome number in *P. notatum*, there is great variability in the frequency of meiotic chromosomal associations. The relatively high pollen fertility in the tetraploids is explained by the need of pollination for endosperm formation and indicates that these accessions could be used as male progenitors if sexual individual would be identified.

¹.Master of Science Dissertation in Forage Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (67p). March,2007.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 O Gênero <i>Paspalum</i> L.....	4
2.2 <i>Paspalum</i> no Rio Grande do Sul.....	12
2.3 Citogenética: considerações gerais.....	14
2.3.1 Citogenética em <i>Paspalum</i>	16
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	22
3.1 Material utilizado.....	22
3.2 Métodos.....	25
3.2.1 Número cromossômico.....	25
3.2.2 Número gamético e estudo do comportamento meiótico.....	26
3.2.3 Estimativa da viabilidade de pólen.....	26
3.2.4 Análise do material.....	27
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	28
4.1 Número cromossômico.....	28
4.2 Comportamento meiótico.....	37
4.3 Estimativa da viabilidade de pólen.....	46
5. CONCLUSÕES.....	49
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50
7. APÊNDICE.....	58
8. VITA.....	67

RELAÇÃO DE TABELAS

1. Acesso, coletor, local de coleta e número cromossômico.....	33
2. Análise do comportamento meiótico.....	42
3. Estimativa da viabilidade e média dos eixos maior (P) e menor (E) de grãos de pólen	45

RELAÇÃO DAS FIGURAS

01. Aspectos gerais de <i>P. notatum</i>	24
a) <i>P. notatum</i> “típico” 11.....	24
b) <i>P. notatum</i> “Bagual” 01.....	24
c) <i>P. notatum</i> “André da Rocha” 01.....	24
d) <i>P. notatum</i> 09.....	24
e) Pensacola 10	24
f) <i>P. notatum</i> 12.....	24
02. Metáfases mitóticas de <i>P. notatum</i>	29
a) <i>P. notatum</i> 09	29
b) <i>P. notatum</i> 87	29
c) <i>P. notatum</i> André da Rocha 01	29
d) <i>P. notatum</i> 09	29
e) <i>P. notatum</i> 13	29
f) <i>P. notatum</i> 12	29
03. Células meióticas.....	38
a) <i>P. notatum</i> 05.....	38
b) <i>P. notatum</i> Bagual 01.....	38
c) <i>P. notatum</i> André da Rocha 01.....	38
d) <i>P. notatum</i> 12.....	38
e) <i>P. notatum</i> 09.....	38
04. Células meióticas.....	39
a) <i>P. notatum</i> 41.....	39
b) Pensacola 05.....	39
c) <i>P. notatum</i> 25, grãos de pólen viáveis e inviáveis.....	39
d) <i>P. notatum</i> 25, grãos de pólen viáveis.....	39
e) Pensacola 09	39
f) <i>P. notatum</i> 12.....	39

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AFLP: Polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados
CENARGEN: Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia
cpDNA: DNA de cloroplasto
DPFA: Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia
EBN: Número de Equilíbrio do Endosperma
EMBRAPA: Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária
FISH: Hibridização in situ fluorescente
ISSR: Sequências simples repetidas interpassadas
RAPD: Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso
rDNA: DNA ribossomal
RFLP: Polimorfismo no comprimento de fragmentos de restrição de DNA
Var: Variedade

1. INTRODUÇÃO

Paspalum L. é um grande gênero contendo diferentes espécies que são importantes gramíneas forrageiras nas regiões tropicais e temperadas do mundo (Bennett & Bashaw, 1966). Apesar da falta de um estudo taxonômico global tornar difícil à estimativa do número total de espécies (Aliscioni, 2002), considera-se que o gênero compreende em torno de 350-400 espécies sendo a maioria delas nativas das regiões tropicais e subtropicais da América, com poucas espécies na África e Ásia. A maioria das espécies de *Paspalum* são apomíticas tetraplóides, tendo co-específicos sexuais diplóides e auto incompatíveis (Quarin & Norrmann, 1990) e sua importância é evidenciada por sua adaptabilidade a diferentes ecossistemas, o que representa menor risco de causar desequilíbrio biológico devido à grande diversidade genética existente (Strapasson *et al.*, 2000).

As informações citológicas requeridas para a interpretação taxonômica das espécies de *Paspalum* são seu número cromossômico e seu comportamento meiótico (pareamento e segregação). O estudo de sacos embrionários e de formação de cariopses sob condições controladas de polinização pode contribuir para a determinação do modo de reprodução. Segundo Valls & Pozzobon (1987), *Paspalum* é o gênero brasileiro com o maior número de espécies com bom potencial forrageiro e há necessidade de

uma investigação abrangente que possibilite as caracterizações taxonômica, morfológica e citogenética, além do conhecimento do modo de reprodução de cada acesso disponível das espécies do gênero.

Paspalum notatum Flüggé é uma espécie apomítica tetraplóide (Burton & Forbes, 1960). É uma forrageira que fornece boa forragem na primavera, uma vez que no inverno, devido ao frio ou a seca, fica crestada, principalmente, nos estados do sul do Brasil e no Uruguai (Otero, 1961). É uma gramínea rizomatosa nativa da América do Sul, sendo um importante componente das pastagens naturais da Argentina, do sul do Brasil e do Paraguai (Burton, 1948).

Desde 1936, variedades de *P. notatum* têm sido selecionadas, havendo sido testados centenas de ecótipos oriundos dos Estados Unidos da América e da América Latina, (Burton, 1967). Ainda segundo o autor, a grande diversidade existente nos ecótipos sul-americanos sugere que a América seja o centro de origem da espécie.

Por ser uma espécie apomítica, seu melhoramento fica na dependência da identificação de ecótipos sexuais. Segundo Moraes-Fernandes (1971) é de grande importância o estudo de plantas apomíticas não somente para esclarecer os processos evolutivos que estão atuando no grupo, mas também como subsídio para trabalhos de melhoramento. Ainda, segundo a mesma autora, é importante para fornecer esclarecimentos sobre a divisão meiótica, já que muitas das variantes do processo meiótico só podem ser observadas e mantidas nessas plantas, graças à possibilidade de propagação vegetativa e também é fundamental conhecer os mecanismos da apomixia que atuam em uma espécie ou grupos de espécies em particular.

Paspalum notatum var. *saurae* Parodi (Pensacola) é uma espécie diplóide, sexual ($2n=2x=20$), originária da região nordeste e centro-leste da Argentina, perene, de estação quente, que apresenta a maior produção de forragem a temperaturas médias superiores a 15°C. Seu hábito de crescimento é rasteiro, com rizomas curtos e firmemente presos à superfície do solo formando uma cobertura densa (Mislevy *et al.*, 1993). Foi primeiramente encontrado na Argentina e a identificação desse diplóide sexual permitiu a introdução de variabilidade em *P. notatum* apomítico (Forbes *et al.*, 1961).

Porém, a existência de outros diplóides sexuais além da Pensacola, e outras populações que ocorrem na mesma área ainda não foi comprovada (Daurélio *et al.*, 2004). Assim, a identificação de possíveis ecótipos diplóides silvestres em populações de *P. notatum* de outras regiões que não a de origem do Pensacola, abriria um leque de opções para pesquisa e utilização. Para isso, o primeiro passo é a determinação do número cromossômico em populações naturais e análise do comportamento meiótico.

No Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da Faculdade de Agronomia da UFRGS está em andamento um projeto amplo de melhoramento de *P. notatum*, incluindo avaliações morfológica, molecular, agronômica entre outras.

O presente trabalho teve como objetivo principal determinar o nível de ploidia e estudar o comportamento meiótico e estimar a fertilidade de pólen de acessos que fazem parte deste trabalho de melhoramento, e como objetivo secundário, verificar a possível existência de diplóides em populações naturais do sul do Brasil.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O Gênero *Paspalum* L.

Paspalum L., tribo Paniceae, subfamília Panicoideae, família Poaceae possui de 350 a 400 espécies, a maioria delas nativas das regiões tropicais e subtropicais da América (Moraes-Fernandes *et al.*, 1968). O centro de origem é considerado como sendo a América do Sul, possivelmente as savanas do Chaco (Moraes-Fernandes, 1971).

Paspalum é um dos mais importantes gêneros dentro da tribo *Paniceae*, devido ao elevado número de espécies, ampla distribuição geográfica e importância econômica de muitas de suas espécies.

Barreto (1974), com base em caracteres morfológicos, reconheceu mais do que vinte diferentes grupos informais de espécies dentro de *Paspalum*. Canto-Dorow (1993) baseando-se na literatura, descreveu biótipo como um grupo de indivíduos, geneticamente iguais, que mantém suas características em ambientes diferentes, e ecótipo, como um tipo morfológico relacionado a um ambiente particular.

A grande variedade de características citológicas, aliada a diversidade morfológica levou taxonomistas a sugerirem uma classificação infragenérica do gênero baseada na afinidade entre espécies (Canto-Dorow, 1996; Pozzobon *et al.*, 2000). Além disso, conhecimento citológico e

reprodutivo tem contribuído na caracterização dos limites e sobreposições dos conceitos gerais, entre subgêneros e seções, entre os grupos informais nos quais as espécies de *Paspalum* são tradicionalmente subdivididas e ainda assim a maioria das publicações taxonômicas associa as espécies de *Paspalum* a grupos informais baseados apenas em caracteres morfológicos, não tendo base filogenética (Valls, 2000).

Espécies pertencentes aos grupos Notata ou Linearia apresentam os maiores problemas taxonômicos (Ferreira *et al.*, 2005). Alguns destes grupos informais são bem estudados devido ao valor econômico de algumas espécies como é o caso dos grupos Notata, Dilatata e Disticha (Souza-Chies, 2006).

Cerca de 75% das espécies de *Paspalum* conhecidas ocorrem no Brasil, fazendo parte das mais variadas formações vegetais em diferentes condições ecológicas. Assim, são conhecidas espécies tipicamente hidromórficas nos grandes rios da Amazônia; espécies xerófilas nas condições de “Cerrado” do Centro e Nordeste; espécies esciófilas, fazendo parte dos estratos inferiores das formações selváticas; espécies caracteristicamente heliófilas comuns nos “campos” de todo o país; espécies psamófilas como componentes das primeiras etapas de sucessão vegetal litorânea e espécies casmófilas como representantes das xeroseres. Praticamente não se consegue identificar uma formação vegetal brasileira sem que haja uma espécie de *Paspalum* fazendo parte de seus componentes (Barreto, 1974). Segundo Valls (2000), sua importância é evidenciada pela qualidade da forragem, produtividade e resistência à secas e inundações.

P. notatum é uma espécie polimorfa, comum a todas as pastagens naturais dos países de clima quente e temperado da América. Assim, em

diferentes condições ecológicas ocorrem formas também diversa desta importante espécie. Os caracteres mais importantes que permitem diferenciar estas formas estão relacionados com: aspecto, vigor, dimensões e pilosidade das folhas; altura dos colmos floríferos, número e comprimento dos racemos, dimensões e coloração das espiguetas Barreto (1974). Caracteriza-se por ser uma espécie rizomatosa amplamente distribuída nos campos nativos do México Central à Argentina e nas Ilhas Caribenhas (Chase, 1929, *apud* Ortiz *et al.*, 2001).

Canto-Dorow *et al.* (1996) descreveu como válidas somente as variedades *notatum* e *saurae*. As principais diferenças entre estas consistem no fato de que a var. *notatum* é apomítica, apresenta inflorescências formadas por dois (3) ramos conjugados, espiguetas com 3,1-3,7 mm de comprimento, 1,8-2,7 mm de largura e base da nervura central da folha esverdeada enquanto que a variedade *saurae* apresenta reprodução sexual, auto-incompatível, inflorescências formadas por (2) 3-5 ramos alternos, espiguetas com 2,7-2,8mm de comprimento, 1,6-2,1 mm de largura e cor da base da nervura central esbranquiçada.

Esta espécie compreende diplóides sexuais auto-estéreis e autotetraplóides apomíticos pseudogâmicos (Burton, 1948). A forma diplóide, Pensacola (*P. notatum* var. *saurae* Parodi, $2n=2x=20$) é uma das gramíneas mais populares das pastagens perenes no sul dos Estados Unidos (Burton, 1974). Cerca de 85 - 90% da sua produção anual ocorre nos meses de primavera e verão, e 10 - 15% durante os dias curtos de outono-inverno (Mislevy & Dunavin, 1993). A Pensacola é uma graminea perene, rizomatosa nativa da Argentina, se distribui no oeste de Santa Fé, Entre Rios e Corrientes.

Foi acidentalmente introduzida para a região de Pensacola nos Estados Unidos, Flórida, por volta de 1926 (Burton, 1967).

Aproximadamente 80% das espécies de *Paspalum* são poliplóides, sendo o nível tetraplóide ($2n=2x=40$) predominante (Quarin, 1992). A apomixia (forma de reprodução assexual onde há formação de sementes e a progênie é idêntica à planta-mãe) é uma característica comum no gênero. Os principais mecanismos de apomixia já verificados em *Paspalum* são as variantes da apomixia gametofítica: aposporia e a diplosporia. Na aposporia, o desenvolvimento do saco embrionário ocorre a partir de células somáticas do óvulo, denominadas iniciais apospóricas, é o tipo mais freqüente no gênero. Já, a diplosporia envolve o desenvolvimento do saco embrionário a partir de uma célula generativa, a célula-mãe do megásporo, sendo de ocorrência mais rara em *Paspalum*, mas sempre após grandes modificações ou falha do processo meiótico (diplosporia meiótica) (Dusi *et al.*, 2000). Este último tipo já foi citado para *P. commersonii* Lam. *P. longifolium* Roxb., *P. conjugatum* Bergius e *P. minus* Fournier. A predominância de um mecanismo de reprodução apomítica não exclui a presença de outro. Um exemplo disso é relatado por Bonilla & Quarin (1997) para *P. minus*, onde os autores observaram a presença de sacos apospóricos e diplospóricos em um mesmo óvulo.

De grande interesse, principalmente para a área subtropical, o grupo Notata é composto de espécies diplóides, tetraplóides e hexaplóides, com ocorrência de apomixia e de sexualidade, com várias espécies apresentando mais de um nível de ploidia (Valls & Pozzobon, 1987).

Burson & Forbes (1960) realizaram os primeiros estudos sobre apomixia em *P. notatum* a partir do cruzamento entre plantas autotetraplóides

sexuais, obtidas mediante duplicação cromossômica de diplóides com colchicina e genótipos apomíticos naturais.

A apomixia em *P. notatum* é caracterizada por completa degeneração dos produtos da meiose, seguida pela formação do saco embrionário a partir das células nucelares (aposporia) e desenvolvimento de embriões a partir de célula ovo não reduzida. Entretanto, há necessidade de fertilização por um dos núcleos generativos do grão de pólen dos núcleos centrais do saco embrionário, para o desenvolvimento do endosperma, o que é chamado de pseudogamia. As sementes apomíticas serão idênticas à planta-mãe, mas o endosperma terá contribuições genéticas materna e paterna (Stein *et al.*, 2004).

Como em outras gramíneas, a apomixia ocorre em *Paspalum* no nível poliplóide (Ortiz *et al.*, 2001). Contudo, a maior parte das espécies apomíticas tetraplóides do gênero tem, em contrapartida, co-específicos sexuais, diplóides e auto-incompatíveis (Quarin & Norrmann, 1990).

Uma população gerada por retrocruzamento de um sexual com um genótipo apomítico de *Paspalum simplex* Morong ambos tetraplóide, foi usada para achar marcadores que co-segregam com apomixia. A análise genética mostrou que a apomixia é controlada por um alelo dominante. Cinco marcadores de arroz, ligados na região telomérica do braço longo do cromossomo 12, mostraram estar ligados com o gene da apomixia. Dados genéticos e moleculares indicam que apomixia em *P. simplex* é determinada por um segmento de cromossomo que é herdado como uma única unidade genética (Pupilli *et al.*, 2001). Martinez *et al.*, (2003) utilizaram marcadores moleculares do tipo RAPD (*Random Amplified Polymorphic DNA*), e RFLP

(*Restriction Fragment Length Polymorphism*) para identificar marcadores ligados à aposporia em *P. notatum*. Os resultados mostraram que sete diferentes marcadores moleculares, sendo dois RAPD quatro AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) e um RFLP foram completamente ligados à aposporia.

Cáceres *et al.* (2001) analisaram a progênie do cruzamento entre genótipos sexuais e apomíticos de *P. simplex*. Por análise citoembriológica e citometria de fluxo, os autores observaram que aposporia, partenogênese e pseudogamia são ligadas e herdadas juntas.

Geralmente é aceito que a maioria das angiospermas requerem um equilíbrio preciso entre contribuição de genoma materno e paterno para o desenvolvimento de endosperma. O número de equilíbrio do endosperma (EBN) deve ser 2:1 materno para relação paterna para o desenvolvimento de endosperma normal e formação de semente (Quarin, 1999).

Quarin (1999) investigou o efeito de diferentes níveis de ploidia dos doadores de pólen na formação de endosperma e produção de semente de tetraplóides apospóricos de *P. notatum* ($2n=40$) os resultados indicaram que o apomítico *P. notatum* é uma espécie pseudógama, na qual ocorre fertilização de dois núcleos polares não reduzidos ($2n$) por um reduzido (n).

Com o recente advento da biologia molecular, vários trabalhos utilizando marcadores moleculares têm sido realizados para diversos propósitos dentro de *Paspalum*.

Jarret *et al.*, (1998) analisaram 29 espécies de *Paspalum* por RFLP. Segundo os autores, a colocação dos indivíduos nos táxons por RFLP, em geral, concordam com estudos anteriores de características citológicas e

análise morfológica. Trabalhando com *P. notatum* diplóide, (Ortiz *et al.* 2001) com marcador RFLP observaram um nível significativo de polimorfismo entre as plantas, proporcionando a geração de um mapa genético.

Caracteres morfológicos e moleculares foram usados por Souza-Chies *et al.*, (2006), na análise de 28 espécies de *Paspalum* pertencentes aos grupos informais Notata/Linearia e Dilatata para esclarecer as relações filogenéticas entre as espécies e sugerir alguma hipótese sobre a filogenia do gênero.

Ferreira *et al.*, (2005) avaliaram a diversidade genética dos grupos Notata e Linearia usando marcadores moleculares. Com base nos dados moleculares obtidos, uma nova circunscrição dos Grupos Notata e Linearia foi proposta para uma melhor delimitação destes grupos, contribuindo desta forma para a taxonomia de *Paspalum*.

Daurélio *et al.* (2004), avaliaram a variabilidade em populações apomíticas tetraplóides de *P. notatum* crescendo em simpatria e alopatria com os diplóides sexuais no nordeste da Argentina, utilizando para isso RAPD, em testes de progênie e contagem cromossômica para análise da ploidia. Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que a coexistência de diplóides sexuais e tetraplóides apomíticos poderia aumentar a geração de variabilidade em sistemas apomíticos, visto que os genótipos das populações estudadas R4X (tetraplóides apomíticos simpátricos coletados próximos aos diplóides) mostraram um nível de variabilidade significativamente maior que as populações e C4X (tetraplóides apomíticos crescendo em isolamento), as quais poderiam ser explicadas considerando a interação com os diplóides crescendo em proximidade.

Com o objetivo de caracterizar geneticamente diferentes acessos de *Paspalum notatum*, assim como avaliar a similaridade genética que ocorre entre os mesmos, com base em marcadores RAPD. Steiner (2005) analisou 40 acessos de várias partes do Brasil, principalmente do Rio Grande do Sul, cada um representando uma população diferente. Os marcadores RAPD utilizados foram eficientes para distinguir os diferentes acessos de *P. notatum*. Miz & Souza-Chies (2006) analisaram a diversidade de *Paspalum dilatatum* Poiret e espécies afins por RAPD. Setenta e cinco acessos representando 15 táxons foram analisados.

Em recente trabalho, Espinoza *et al.*, (2006) caracterizaram uma coleção de germoplasma de *P. notatum* abrangendo 44 genótipos. As análises de AFLP mostraram uma relativamente baixa similaridade genética entre os diferentes acessos de *P. notatum* (0.01 a 0.36). Este baixo grau de variabilidade genética observada em *P. notatum* poderia ser explicado pelo fato das espécies operam como um complexo agâmico, de acordo com Daurélio *et al.*, (2004).

Cidade (2006) trabalhando com *P. notatum* e utilizando marcador ISSR (*Inter Simple Sequence Repeat*) e obteve resultados contrastantes com os resultados de Espinoza *et al.*, (2006). Para Cidade (2006), o coeficiente de similaridade variou de 0.43 a 0.97, com uma média de 0.59. As diferenças, segundo a autora, provavelmente, seriam devido as diferentes técnicas utilizadas. Para a autora a proporção relativamente ampla de fragmentos polimórficos e o baixo coeficiente de similaridade entre alguns genótipos sugerem que existe uma considerável variação genética dentro da espécie de *P. notatum*. Além disso, os marcadores ISSR mostraram-se eficientes para

distinção dos genótipos analisados.

2.2 *Paspalum* no Rio Grande do Sul

As espécies do gênero *Paspalum*, no Rio Grande do Sul, são numerosas e de ocorrência freqüente, constituindo componentes obrigatórios de todas as formações campestres (Barreto, 1974), por exemplo, *P. alnum* Chase, *P. minus*, *P. dilatatum*, *P. urvillei* Steud, *P. nicorae* Parodi (Moraes-Fernandes, 1971).

Segundo Prates (1977), *P. notatum* é uma gramínea importante, pois é a espécie mais freqüente das pastagens naturais, devendo ser melhor estudada no que diz respeito a sistemas de manejo e doses de adubação.

Segundo Maraschin (2001), *P. notatum* recebe denominações comuns como grama-forquilha no Rio Grande do Sul, *gramilla blanca* no Uruguai e Argentina, *Bahiagrass* nos Estados Unidos, *cana-mazo* em Cuba, grama-batatais e grama-de-são-sebastião em São Paulo, que indicam a sua importância e revelam sua utilização.

A sua propagação vegetativa inicialmente é lenta, estendendo os estolões, formando um denso gramado rasteiro, solidamente fixado ao solo, desenvolvendo uma estrutura de pastagem difícil de ser invadida por outras espécies e tendendo a ser dominante (Boldrini, 1993).

Prestes *et al.* (1976), estudando no Rio Grande do Sul cinco biótipos de *P. notatum*, alguns com hábito rizomatoso e outros cespitosos, observaram diferenças morfológicas entre estes, permitindo desta maneira a sua caracterização.

Canto-Dorow (1993), através de coletas no Rio Grande do Sul,

observou a variação intra-específica que *P. notatum* apresenta. No entanto, a autora não verificou uma associação direta entre esta e diferentes condições ambientais ou regiões fisiográficas. *P. notatum*, segundo a mesma autora, é a principal espécie do extrato herbáceo da maior parte dos campos do Rio Grande do Sul e está frequentemente associada com *Axonopus affinis* Chase. É a espécie com maior cobertura da vegetação herbácea das pastagens nativas, produzindo forragem na primavera. Bem adaptada ao pastejo, resiste ao pisoteio, pois seus rizomas, cobertos pelas bainhas, encontram-se protegidos e cedo emitem novas folhas, estimulados pelas temperaturas de primavera (Maraschin, 2001).

Além do valor agronômico como forrageira, segundo Steiner (2005), *P. notatum* pode ser utilizada para fins ornamentais em gramados e jardins, parques, quadras de esportes e suas sementes são uma importante fonte alimentar para pássaros.

As informações técnicas sobre a Pensacola no Brasil, são praticamente restritas à região sul do país, onde espécies desse gênero são à base da exploração no campo de rebanhos ovinos e bovinos. Entre essas características destacam-se: tolerância a intenso e freqüente pisoteio, baixa altura da planta, ausência de estruturas vegetais contundentes e ausência de princípios anti-nutricionais não relatados (Haddad *et al.*, 1999).

As plantas diplóides de *P. notatum* variedade *saurae*, são sexuais. A ocorrência natural de plantas diplóides da espécie no Brasil é duvidosa (Valls & Pozzobon, 1987). A cultivar Pensacola oriunda de populações introduzidas, acidentalmente, nos Estados Unidos, advindas da Argentina, foi cultivada em grande escala no Rio Grande do Sul, principalmente, na região do Planalto.

Esta espécie merece ser comparada, sob o ponto de vista de produção e valor forrageiro, com os biótipos nativos; constituindo-se numa forrageira de excelente aceitação. Deve-se isto à facilidade de estabelecimento da cultura, através de sementes, característica forma de crescimento perfeitamente adaptada ao pastoreio e às inegáveis qualidades de aceitabilidade e valor forrageiro (Barreto, 1974).

Prates (1977), ao comparar a produção de matéria seca, de proteína bruta total, de matéria seca de raízes e de resteva, de dois biótipos *de P. notatum* com uma cultivar de *P. notatum* var. *saurae* observou que, em quase todos os aspectos, os dois biótipos nativos foram superiores, exceto em produção de proteína bruta.

Steiner (2005) comparou a produção de matéria seca da cultivar Pensacola, com dois ecótipos de grama-forquilha, André da Rocha e Bagual. Segundo o autor, confirmou-se melhor produção das cultivares nativas nos períodos de temperaturas mais elevadas (no Rio Grande do Sul, primavera – verão).

2.3 Citogenética: considerações gerais

Estudos citogenéticos, de um modo geral, compreendem todo e qualquer estudo relativo ao cromossomo isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto no que diz respeito a sua morfologia, organização, função e replicação quanto a sua variação e evolução (Guerra, 1988). Estes estudos fornecem informações básicas para a caracterização citológica e permitem que diferenças possam ser encontradas entre as espécies. Essas informações são de fundamental importância para o estudo evolutivo, relação filogenética e

polimorfismos intra e interespecíficos (Pozzobon, 2005).

Mesmo com o advento da genética molecular, segundo Guerra & Souza (2002), a análise cromossômica continua sendo a única maneira de observar todo o genoma de um eucarioto na forma de blocos individualizados de material genético, passíveis de serem mensurados, diferenciados em subunidades e manipulados de diversas maneiras.

A caracterização citogenética deveria ser encarada como um pré-requisito e uma atividade básica na caracterização das coleções de germoplasma. Caracterização que envolve, entre outros aspectos, a contagem do número cromossômico, determinação do nível de ploidia, avaliação do comportamento meiótico e da fertilidade de pólen e a determinação da afinidade genômica entre acessos em híbridos interespecíficos (Pagliarini & Pozzobon, 2004).

Além de inúmeras referências na literatura, vários trabalhos dentro da citogenética vêm sendo realizados pelo grupo de citogenética do Departamento de Plantas Forrageiras para a elucidação de questões envolvendo taxonomia e evolução (Maciel & Schifino-Wittmann, 2002; Conterato & Schifino-Wittmann, 2006), origem e evolução (Pozzobon *et al.*, 2006) e seleção de plantas férteis (parentais masculinos) em cruzamentos programados (Boff & Schifino-Wittmann, 2002).

Além das técnicas citogenéticas convencionais, a técnica de hibridização *in situ* vem sendo usada. FISH (*Hibridação Fluorescente in situ*) é especialmente usada quando se examina seqüências de DNA repetitivo. A correspondência entre o número de sítios de rDNA 5S e 45S, revelados por FISH, e o nível de ploidia tem sido objeto de estudo em várias espécies,

permitindo inferências quanto à origem neo ou paleopoliplóide, bem como quanto á possibilidade de silenciamento gênico (Melo & Guerra, 2003).

2.3.1 Citogenética em *Paspalum*

Estudos citológicos em pastagens naturais são importantes por razões teóricas e práticas (Moraes-Fernandes *et al.*, 1973), visto que o conhecimento citológico e reprodutivo de uma espécie é essencial para um melhorista de plantas, quando esse é usado em programas de hibridação intra e interespecífica (Burson, 1975). A ocorrência de apomixia e poliploidia nestas espécies oferecem bons modelos para investigação do papel evolutivo destes fenômenos.

Muitos trabalhos em citogenética de *Paspalum* foram desenvolvidos principalmente nos Estados Unidos por Burton (1940, 1974), Burton & Forbes (1960), Burson (1975, 1981), Forbes & Burton (1961) e mais tarde pelos grupos de Quarin *et al.* (1982, 1983), na Argentina.

Desde a década de 60, vários trabalhos vêm sendo realizados em *Paspalum* no Brasil permitindo um melhor conhecimento citológico neste importante gênero. Moraes-Fernandes *et al.*, (1968) analisaram o número cromossômico somático e comportamento meiótico em cinco formas de *P. dilatatum*. *P. dilatatum* (antera amarela), sexual, $2n=40$, teve meiose regular. *P. dilatatum* (comum), $2n=50$, mostrou na maioria das células analisadas em metáfase I e diacinese, $20II + 10I$. *P. dilatatum* (sic *pauciciliatum*) $2n= 40$ apresentou várias irregularidades meióticas, sendo a configuração que mais ocorreu $32II + 4IV$. *P. dilatatum* (Uruguaiana), $2n=60$ apresentou meiose extremamente irregular com a presença de associações trivalentes (III) e *P.*

dilatatum (Torres), $2n=60$, apresentou 60 univalentes nas células analisadas.

O número cromossômico somático, comportamento meiótico, morfologia e ecologia de cinco formas de *P. notatum* foram registrados por Moraes-Fernandes et al (1973). *P. notatum* (Capivari), *P. notatum* (Comum), *P. notatum* (Gigante), *P. notatum* (Uruguaiana) e *P. notatum* (Estigma branco). Quatro dos cinco tipos analisados apresentaram associações cromossômicas entre 2-3IV e 14-16II. O tipo Capivari apresentou associações cromossômicas diferente dos demais 1IV + 18II. Estes resultados confirmam, com trabalhos morfológicos e ecológicos anteriormente realizados, a diferença entre Capivari e os outros táxons.

O trabalho de Burson (1997) teve como objetivos determinar a citologia, modo de reprodução, e fertilidade de acessos de oito espécies de *Paspalum*. *P. modestum* Mez., *P. monostachyum* Vasey, *P. repens* Berg., e *P. alcalinum* Mez. eram diplóides sexual com $2n = 2x = 20$ cromossomos e meiose regular. Dois acessos de *P. alcalinum*, um *P. falcatum* Nees, dois *P. paucifolium* Swallen, três *P. polyphyllum* Nees, e um *P. unispicatum* Scribn. & Merr. eram tetraplóides com $2n = 4x = 40$ cromossomos e na meiose os cromossomos associaram-se como bivalentes, quadrivalentes, e univalentes. Embora todas as espécies fossem apospóricas, tetraplóides, apomíticas facultativas, um acesso de *P. alcalinum* apresentou 50 cromossomos, meiose irregular com associações univalentes, bivalentes, trivalentes, e quadrivalentes, tendo sido considerado ser um apomítico obrigatório. Estes resultados demonstram a diversidade citológica e reprodutiva dentro deste complexo gênero.

Takayama et al (1998) determinaram o número cromossômico de 52

acessos de *Paspalum* originados de diferentes regiões do Brasil. Nesse trabalho foram analisados treze acessos de *P. plicatulum* Michx., três de *P. guenoarum* Arech., dois *P. compressifolium* Swallen, dois *P. yaguaronense* Henrard, um *P. atratum* Swallen e 31 *Paspalum* sp. Todos os acessos analisados apresentaram $2n=40$ cromossomos, com exceção de um dos acessos de *P. yaguaronense* que teve $2n=60$ cromossomos.

O número cromossômico de acessos do germoplasma do Brasil, de *P. hydrophilum* Henrard, *P. modestum* Mez e *P. palustre* Mez foi estudado por Pozzobon & Valls (2003). O nível diplóide predominou em *P. modestum*. Para *P. hydrophilum*, somente um acesso foi tetraplóide, cinco acessos do Brasil foram diplóides. O estudo desta espécie é muito interessante para a citogenética, pois inclui diplóides com meiose regular, indicativo de sexualidade e tetraplóides possivelmente apomíticos. Em *P. palustre* todos os acessos foram diplóides.

Machado *et al.*, (2005) analisaram novos biótipos do grupo Dilatata que ocorrem no sul do Brasil. Todos os acessos tiveram $2n=50$ cromossomos, sendo que três destes acessos mostraram características morfológicas intermediárias entre os biótipos “Virasoro” (4x, sexual) e “Uruguaiana” (6x, apomítico). Os outros acessos são, provavelmente, híbridos naturais entre *P. dilatatum* “Torres” e *P. urvillei*. Estes acessos mostram a inflorescência com eixo mais longo e com mais ramos que as plantas típicas do biótipo “Torres”. Sugere-se a origem destes novos biótipos pentaplóides distintos do “Comum”, a partir de cruzamentos ocorridos no sul do Brasil entre outros dois biótipos e espécies do grupo.

Em *P. quadrifarium* Lam. há uma dificuldade em trabalhar com a

citogenética, devido aos cromossomos serem muito pequenos e parecidos. Neste grupo ocorrem citotipos diplóides, triplóides, tetraplóides e hexaplóides. A análise do cariótipo pode fornecer informações importantes sobre a arquitetura destes poliplóides. Speranza *et al.* (2003) estudando dois citótipos de *P. quadrifarium*, utilizaram uma técnica que favoreceu visualiza-los em pro - metáfase onde os cromossomos estão menos condensados, ou seja, mais alongados, portanto melhorando a visualização.

Segundo Speranza *et al.*, (2003) & Vaio *et al.*, (2005) os cromossomos de *Paspalum* são muito pequenos e parecidos morfologicamente o que dificulta sua diferenciação.

Vaio *et al.*, (2005), utilizaram FISH e cpDNA para caracterizar o genoma I de alguns citótipos diplóides e tetraplóides de cinco espécies de *Paspalum* pertencentes ao Grupo Quadrifaria (*P. haumanii* Parodi 2x, *P. intermedium* Munro. 2x, *P. quadrifarium* 4x e *P. exaltatum* Presl. 4x e *P. quarinii* Morrone & Zuloaga 4x) e estabeleceram as relações filogenéticas entre eles. Os resultados mostram que os padrões de condensação foram altamente conservados entre acessos diplóides e tetraplóides estudados permitindo a identificação de quase todos os pares de cromossomos rDNA marcados.

Quanto a *P. notatum*, Pozzobon & Valls (1997) relataram o número cromossômico de 127 acessos, sendo a maioria do sul do Brasil. O nível tetraplóide $2n=40$ foi observado em 116 acessos sendo que, onze acessos apresentaram $2n=20$ cromossomos que, segundo os autores, são escapes de Pensacola.

Tentando correlacionar número cromossômico e modo de reprodução Valls (2000), separou as espécies brasileiras de *Paspalum* em

categorias classificadas como: espécies sexuais alógamas apenas diplóides (*P. bertonii* Hack., *P. densum* Poir., *P. chacoense* Parodi, *P. equitans* Mez, *P. fasciculatum* Willd. e *P. indecorum* Mez.); espécies sexuais autógamas (apenas diplóides: *P. jurgensii* Hackel, *P. paniculatum* L. e *P. pumilum* Nees, apenas tetraplóides: *P. boschianum* Flügge, *P. regnellii* Mez. e *P. urvillei*, apenas hexaplóides: *P. inaequivale*); espécies apomíticas tetraplóides (*P. atratum*, *P. guenoarum*, *P. nicorae*, *P. exaltatum* Presl. e *P. malacophyllum* Trin.); espécies apomíticas apenas hexaplóides (*P. jesuiticum* Parodi, *P. ramboi* Barreto, *P. dilatatum* “Uruguaio (Chirú)”, *P. dilatatum* “Uruguaiana” e *P. dilatatum* “Torres”. *P. jesuiticum* e *P. ramboi* não mostram problemas taxonômicos, mas as formas apomíticas de *P. dilatatum* necessitam de revisão de nomenclatura) espécies com citótipos sexuais e apomíticos, incluindo tanto citotipos $2n=2x (+ 3x) + 4x$, quanto $2n=4x + 8x$ (*P. brunneum* Mez, *P. coryphaeum* Trin., *P. haumanii*, *P. intermedium*, *P. quadrifarium*, *P. rufum* Nees, *P. cromyorrhizon* Trin., *P. ionanthum* Chase, *P. maculosum* Trin, *P. ligulare* Nees, *P. pleostachyum* Doll, *P. dedeccae* Quarin, *P. hydrophilum*, *P. modestum*, *P. palustre*, *P. simplex*, *P. plicatum* e *P. glaucescens* Hack além de *P. compressifolium*). Neste contexto, *P. alnum* inclui *P. hexastachyum* Parodi e *P. notatum* inclui *P. notatum saurae* (Parodi, 1969; Pozzobon & Valls, 1997). Não são conhecidas formas apomíticas diplóides.

Segundo Dall’ Agnol *et al.*, (2006) as espécies do gênero *Paspalum* no Brasil, apesar de, serem tão valiosas sob aspectos produtivos e qualitativos, além de serem adaptadas às condições regionais, continuam sendo aceitas como promissoras ao invés de serem mais uma opção em termos comerciais. A limitação, segundo os mesmos autores, para uma maior utilização de

espécies nativas, não é de ordem técnica, mas cultural, em função do preconceito e da falta de conhecimento existentes sobre seu verdadeiro potencial produtivo.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho experimental foi desenvolvido no Laboratório de Citogenética e Eletroforese, casa de vegetação e telado do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia, da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

3.1 Material Utilizado

O material utilizado foi proveniente de coletas em diferentes locais do Brasil. *P. notatum* “típico” foi coletado nos estados do Rio Grande do Sul (RS), Santa Catarina (SC), Paraná (PR), São Paulo (SP) e Mato Grosso do Sul (MS). Algumas plantas foram coletadas na Argentina e Uruguai. O biótipo André da Rocha foi obtido no município de André da Rocha (RS), o Bagual coletado na Região das Missões do (RS) e a cultivar Pensacola em Viamão (RS).(Figura 1).

No Rio Grande do Sul são encontrados biótipos de *P. notatum*, bastante distintos em morfologia, todos tetraplóides e, provavelmente, apomíticos. Os biótipos André da Rocha e Bagual, foram assim denominados pelos coletores por possuírem características que os diferenciam morfológicamente das demais plantas de *P. notatum* coletadas, o que foi confirmado por Steiner (2005), características essas que predominam na região

de coleta. Também foram denominadas de *P. notatum* “típico” as plantas que possuíam características morfológicas predominante entre os *P. notatum*.

As mudas coletadas foram plantadas em vasos de 40 cm de diâmetro e 60 cm de altura com terra de floricultura e mantidas sob telado. Foi analisada uma planta de cada acesso, com exceção do acesso (Valls14244) que foi clonado e plantado em três vasos com identificação (vaso 01“A”, vaso 02“E” e vaso 03 “H”). A numeração dos acessos foi feita conforme o material ia sendo obtido e esta identificação se encontrava nos vasos. A maioria das coletas foi realizada pelos professores Miguel Dall’Agnol e Carlos Nabinger do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia da UFRGS e professor José Francisco Montenegro Valls do CENARGEN/EMBRAPA, Brasília.

As plantas foram coletadas e identificadas pelos coletores e estão sendo mantidas amostras vivas das mesmas no Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia. A relação do material coletado e dados do coletor se encontram na Tabela 1. Como esta Tabela também compreende os resultados de número cromossômico, ela se encontra na seção Resultados e Discussão.

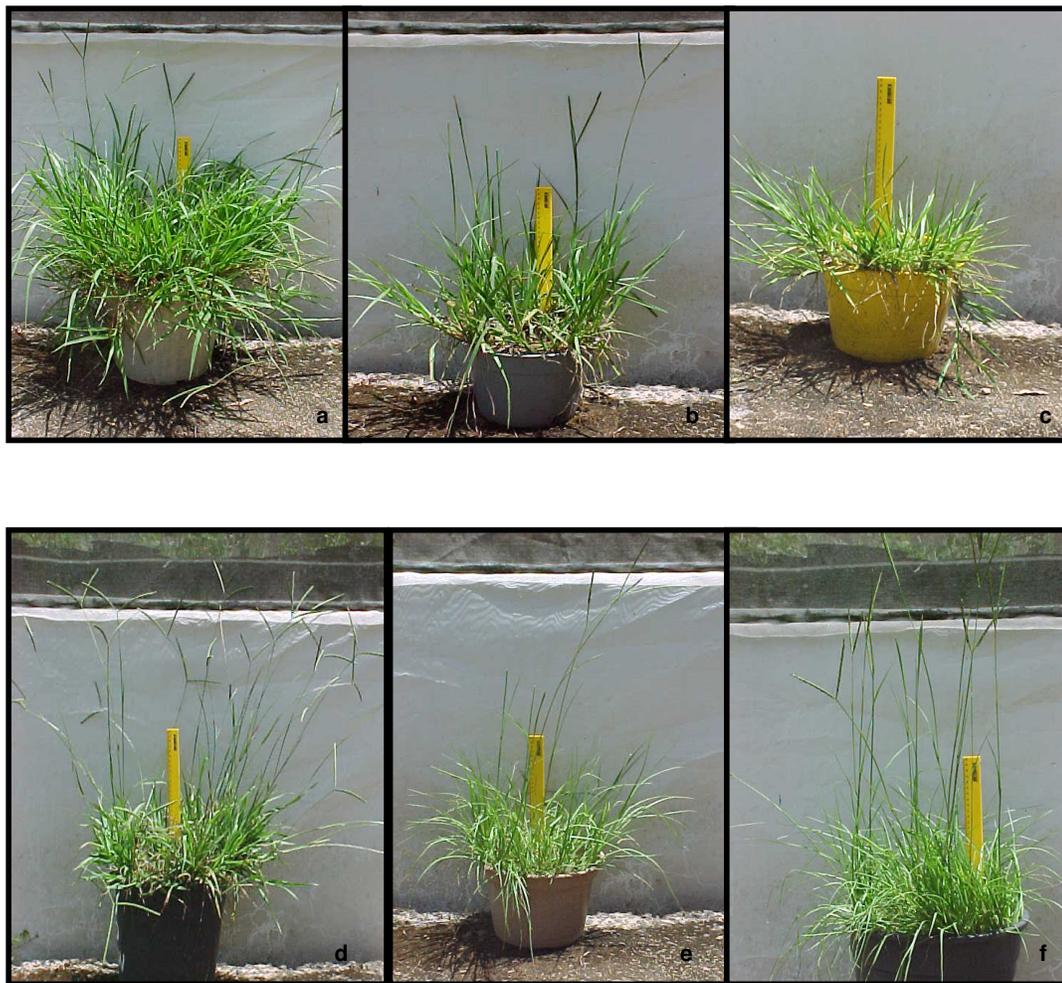


FIGURA 1 a) *P. notatum* "típico" (vaso 11); b) *P. notatum* "Bagual"; c) *P. notatum* "André da Rocha" ; d) *P. notatum* (vaso 09); e) Pensacola (vaso10); f) *P. notatum* (vaso 12).

3.2 Métodos

3.2.1 Número Cromossômico

O número cromossômico foi determinado em células de ponta de raiz (mitose) ou em células-mãe-de-pólen.

Para determinação do número cromossômico somático foram utilizados tecidos de ponta de raiz, obtidas de plantas mantidas nos vasos. As plantas eram retiradas delicadamente dos vasos e lavadas para retirada do solo e para que as raízes pudessem ser coletadas da planta desejada, sem risco de haver mistura com plantas invasoras, o que é comum nestas condições.

As raízes, entre 0,5 e um cm, foram lavadas com água destilada e pré-tratadas com solução saturada de Paradiclorobenzeno (PDB) durante 24 horas a 4°C. Após isso, foram lavadas novamente e fixadas em Carnoy 3:1 (etanol:ácido-acético) por mais 24 horas a 4°C.

Para preparação das lâminas primeiramente era feito hidrólise em HCl 1N (ácido clorídrico um normal), durante 10 minutos em banho-maria a 60°C. Em seguida as raízes eram coradas com Feulgen por um tempo que variava entre 15 minutos à uma hora, sendo após maceradas com uma gota de carmim propiônico e seladas com luto (breu e cera na proporção 3:1).

As lâminas eram analisadas imediatamente ou armazenadas na geladeira em caixas especiais para análise no dia seguinte. No mínimo 10 células por planta, com bom espalhamento e sem sobreposição cromossômica foram analisadas.

3.2.2 Número gamético e estudo do comportamento meiótico

Para determinação do número cromossômico gamético e para análise do comportamento meiótico, foram coletadas inflorescências diretamente dos vasos quando ainda se encontravam na bainha. As coletas foram feitas nos períodos de novembro de 2005 a janeiro de 2006. As inflorescências foram fixadas em Carnoy 3:1 (etanol:ácido-acético) por 24 horas em temperatura ambiente (20 – 25°C) e após estocadas em álcool 70% até a análise.

As lâminas foram preparadas por maceração das anteras com uma gota de carmim propiônico 2% e seladas com luto. No mínimo 20 células por planta, em diacinese e metáfase I foram examinadas para observação do número cromossômico e do pareamento cromossômico, sendo registrados as associações em bivalentes (II), ou outras possíveis associações como univalentes (I), trivalentes (III) e quadrivalentes (IV). Além de diacinese e metáfase, sempre que possível, foram analisadas células em anáfase I, para observar regularidade ou não da segregação cromossômica.

3.2.3. Estimativa da viabilidade dos grãos de pólen

Foram analisados grãos de pólen maduros, coletados de inflorescências mais velhas. As anteras maduras foram cortadas, colocado sobre a lâmina, adicionado uma gota de carmim propiônico e batido suavemente sobre a antera para expulsar os grãos de pólen. Em seguida o excesso de material foi retirado e mais uma gota de corante adicionado, após a lâmina foi coberta com lamínula e fechada com luto.

Os grãos de pólen viáveis coram-se em rosa forte, enquanto os não

viáveis não coram. Para a estimativa da viabilidade de pólen, foram analisados, por acesso, 1500 grãos de pólen (500 em cada lâmina). Também foram feitas medições dos eixos maior (P) e menor (E) de 20 grãos de pólen por planta. A viabilidade foi estimada, dividindo-se o número de grãos corados pelo total de grãos observados e multiplicando-se por 100, obtendo-se, assim, o percentual de grãos de pólen viáveis. A contagem dos grãos foi feita por varredura, percorrendo-se todo o tamanho da lamínula.

3.2.4. Análise do material

Todas as análises microscópicas foram feitas com ajuda do microscópio óptico Nikon, com sistema de fotografia tradicional e de um microscópio óptico com sistema de captação de imagem. As melhores células foram fotografadas e/ou capturadas digitalmente.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir dos estudos citogenéticos básicos realizados neste trabalho são apresentados nos seguintes tópicos: número cromossômico, análise do comportamento meiótico e estimativa da viabilidade de pólen. No apêndice encontram-se os dados detalhados das análises de viabilidade de pólen por lâmina.

4.1 Número Cromossômico

O número cromossômico foi determinado em 93 acessos de *P. notatum*. Dentre esses acessos 84 acessos analisados foram de *P. notatum* típico, um de *P. notatum* André da Rocha (AR), um *P. notatum* Bagual (BAG) e sete acessos de *P. notatum* var. *saurae* (Pensacola). O número cromossômico de todos os acessos pode ser verificado na Tabela 1.

O número cromossômico encontrado para 82 acessos de *P. notatum* foi $2n=40$ (figuras 2b, 2e), um acesso com $2n=20$, *P. notatum* 12, Valls14829, Candói – PR (figura 2f) e um $2n=60$, *P. notatum* 09, Valls14783, Vale do Sol – RS (figuras 2a, 2d). Para o acesso de *P. notatum* Bagual foi $2n=40$, bem como para o acesso de *P. notatum* André da Rocha (figura 2c). Para a cultivar Pensacola foi observado $2n=20$ cromossomos para todos os sete acessos.

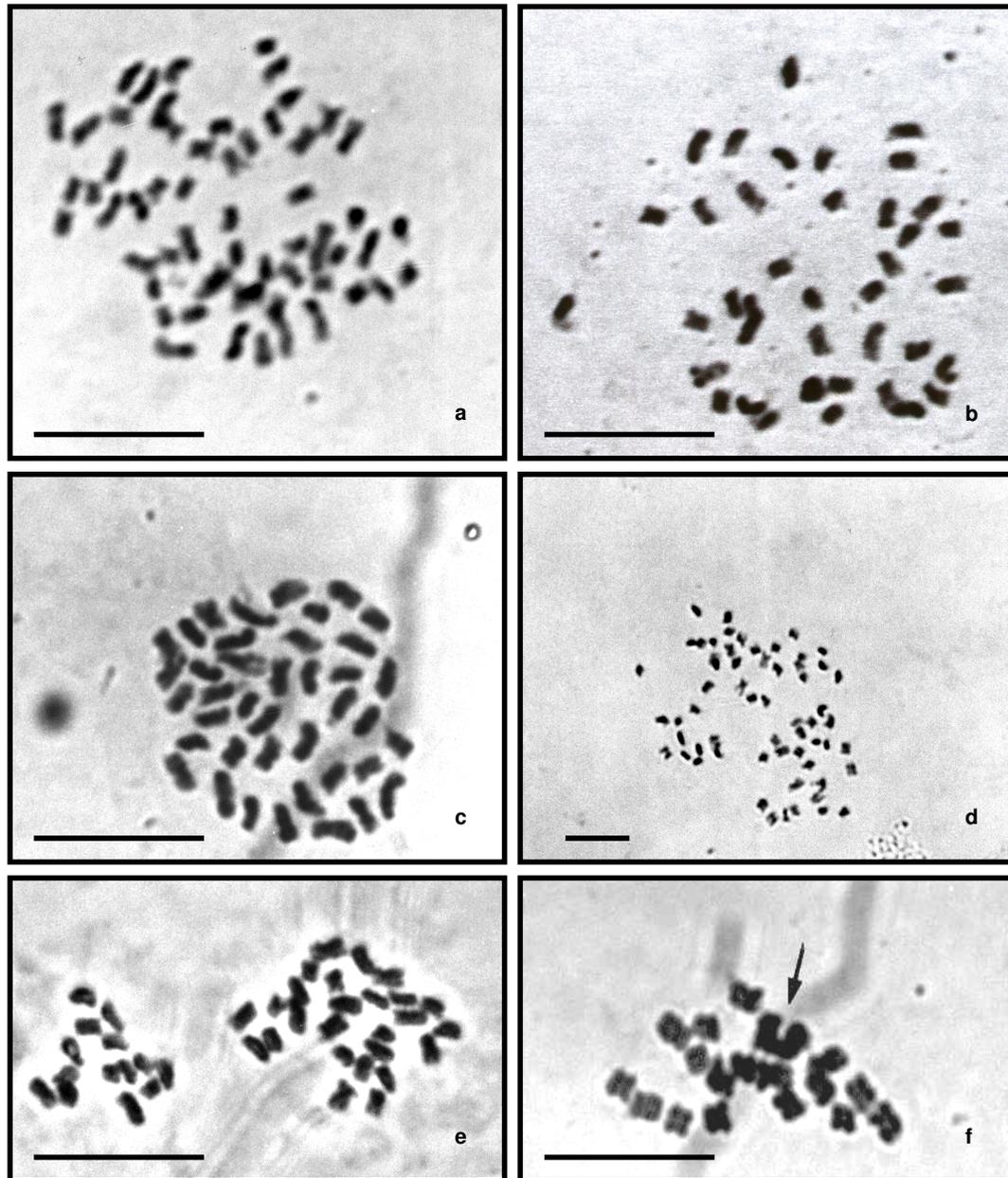


FIGURA 02: Metáfases mitóticas de *P. notatum*. a) *P. notatum* 09 ($2n=60$); b) *P. notatum* 87 ($2n=40$); c) *P. notatum* André da Rocha ($2n=40$); d) *P. notatum* 09 ($2n=60$) e) *P. notatum* 13 ($2n=40$); f) *P. notatum* 12 ($2n=20$, a seta indica sobreposição de três cromossomos). Escala: $10\mu\text{m}$.

P. notatum 12, (Valls14829) foi considerado ser escape de Pensacola, apesar de parecer morfológicamente com *P. notatum*. Este mesmo acesso foi analisado por Pozzobon (Embrapa/Cenargen – Centro Nacional de Recursos Genéticos), e o resultado foi o mesmo ($2n=2x=20$), também sendo considerado escape de Pensacola (comunicação pessoal). Pozzobon & Valls (1997) relataram a ocorrência de $2n=20$ em onze acessos de um total de 127 acessos de *P. notatum*, sendo a maioria do sul do Brasil. O nível tetraplóide $2n=40$ predominou em (91%) dos acessos, confirmando ser esta a situação mais freqüente para a espécie. Segundo os autores os onze acessos com $2n=20$ cromossomos, embora coletados na natureza, provavelmente, descendem da cultivar Pensacola.

P. notatum 09 ($2n=60$) apesar de apresentar morfologia semelhante aos demais *P. notatum* analisados, apresenta um grande número de inflorescências e maior período de florescimento comparado com as outras plantas analisadas sob as mesmas condições das demais.

Este acesso requer uma análise botânica mais detalhada. Apesar de ter sido confirmado (Boldrini & Miotto, comunicação pessoal) ser *P. notatum*, supõe-se que pode ter ocorrido hibridação natural. Machado *et al.* (2005) analisaram novos biótipos do grupo Dilatata que ocorrem no sul do Brasil. Seis acessos de classificação taxonômica não definida apresentaram morfologia distinta dos demais. Os autores acreditam que sejam resultantes de processos de hibridação natural em combinações antes desconhecidas. Todos os acessos tiveram $2n=50$ cromossomos, sendo que três destes acessos mostraram características morfológicas intermediárias entre os biótipos “Virasoro” (4x, sexual) e “Uruguaiana” (6x, apomítico). Os autores afirmam que

a ocorrência geográfica próxima reforça a hipótese de hibridação e evidencia uma ampliação da área de ocorrência do biótipo sexual envolvido neste cruzamento. Os outros acessos são, provavelmente, híbridos naturais entre *P. dilatatum* “Torres” e *P. urvillei*, estes acessos mostram a inflorescência com eixo mais longo e com mais ramos que as plantas típicas do biótipo “Torres”. Sugere-se a origem destes novos biótipos pentaplóides distintos do “Comum”, a partir de cruzamentos ocorridos no sul do Brasil entre outros dois biótipos e espécies do grupo. Fato semelhante, ou seja, hibridação natural, poderia explicar o nível hexaplóide na planta 09.

Cidade (2006) utilizou a técnica de citometria de fluxo para caracterizar os acessos de *P. notatum* quanto ao nível de ploidia, para contribuir em parte ao tratamento taxonômico dado ao Complexo *P. notatum* e a unidade espécie. A autora relata a ocorrência de dois indivíduos diplóides. Um indivíduo de Uruguaiana (fronteira do Brasil e Argentina) acesso V14244 e outro de Capivari do Sul (Região do Litoral do Rio Grande do Sul – Brasil) que poderia ser V14326, V14329, V14327, V14870 ou V14871. A autora não especifica no trabalho qual dos acessos de Capivari do Sul teve $2n=20$ cromossomos.

Todos estes acessos foram analisados no presente trabalho e, como pode ser visto na Tabela 1, todos eles têm $2n=40$. Portanto, os resultados de Cidade (2006) estão equivocados. Não se coloca em dúvida a exatidão da técnica em si, o que provavelmente aconteceu é que houve coleta errada do material para análise, ou seja, o material que a autora coletou não era de *P. notatum* acessos V14244, V14326, V14329, V14327, V14870 ou V14871. É bom também ressaltar que praticamente todos os trabalhos de citometria de

fluxo encontrados na literatura, sempre checaram os resultados discrepantes através de uma contagem cromossômica, o que infelizmente não foi um cuidado tomado pelo autor citado.

As análises citogenéticas destes acessos realizadas neste trabalho, corroboram com os resultados de Pozzobon & Valls (1997), citados anteriormente, e Moraes-Fernandes (1971), que verificou a existência de *P. notatum* “típico” com $2n=40$ cromossomos, sendo os indivíduos diplóides escape de Pensacola.

Moraes-Fernandes (1971) não encontrou variação no número cromossômico de *P. notatum* ($2n=40$), o que segundo a autora já havia sido observado em outros locais. As formas “Cativari” e “Uruguaiana” não haviam sido mencionadas na literatura e também apresentaram $2n=4x=40$ cromossomos.

Até o momento, indivíduos diplóides de *P. notatum* ($2n=2x=20$) apenas foram indubitavelmente encontrados na região nordeste e centro-leste da Argentina, local de origem do Pensacola e todos eles se encaixam botanicamente na var. *saurae* de *P. notatum*. Nesta região, híbridos triplóides entre os dois citótipos são encontrados (Daurélio *et al.*, 2004).

Portanto, com base na literatura e nos nossos dados, pode-se afirmar com um grau razoável de segurança que o citótipo diplóide de *P. notatum* está provavelmente restrito a uma região específica da Argentina. Entretanto, isto não exclui a necessidade de ampliar-se as análises para toda a zona de distribuição de *P. notatum*.

TABELA 1: Acesso, coletor, local de coleta e número cromossômico.

<i>Acesso</i>	<i>Identificação</i>	<i>Coletor^a</i>	<i>Local da coleta^b</i>	<i>2n</i>
<i>P.notatum</i>	Vaso 01 ^{d e}	Valls14244 "A"	Uruguaiana – RS	40
	Vaso 02 ^d	Valls14244 "E"	Uruguaiana – RS	40
	Vaso 03 ^d	Valls14244 "H"	Uruguaiana – RS	40
	Vaso 04 ^{d e}	Valls14310	Barra do Quaraí – RS	40
	Vaso 05 ^{d e}	Valls14326	Capivari do Sul – RS	40
	Vaso 06 ^{d e}	Valls14329	Capivari do Sul – RS	40
	Vaso 07 ^{d e}	Valls14327	Capivari do Sul – RS	40
	Vaso 08 ^{d e}	Valls14614	Itaquiraí – MS	40
	Vaso 09 ^{d e}	Valls14783	Vale do Sol – RS	60
	Vaso 10 ^d	Valls14827	Candói – PR	40
	Vaso 11 ^{d e}	Valls14828	Candói – PR	40
	Vaso 12 ^{d e}	Valls14829	Candói – PR	20
	Vaso 13 ^{d e}	Valls14865	Capivari do Sul – RS	40
	Vaso 14 ^{d e}	Valls14866	Capivari do Sul – RS	40
	Vaso 16 ^{d e}	Valls14869	Capivari do Sul – RS	40
	Vaso 17 ^{d e}	Valls14870	Capivari do Sul – RS	40
	Vaso 18 ^{d e}	Valls14871	Capivari do Sul – RS	40
	Vaso 23 ^d	MD s/n	Eldorado do Sul - RS	40
	Vaso 24 ^d	MD s/n	Eldorado do Sul - RS	40
	Vaso 25 ^{d e}	MD s/n	Lavras do Sul -RS	40
	Vaso 26 ^{d e}	MD s/n	Lavras do Sul -RS	40
	Vaso 27 ^{d e}	MD s/n	Lavras do Sul -RS	40
	Vaso 28 ^{d e}	MD s/n	Caçapava do Sul - RS	40
	Vaso 29 ^{d e}	MD s/n	Caçapava do Sul - RS	40
	Vaso 30 ^{d e}	MD s/n	Bagé – RS	40
	Vaso 31 ^d	MD s/n	André da Rocha - RS	40
	Vaso 32 ^{d e}	MD s/n	Barretos – SP	40
	Vaso 33 ^{d e}	MD s/n	Vacaria – RS	40
	Vaso 34 ^d	MD s/n	Vacaria – RS	40
	Vaso 35 ^{d e}	MD s/n	São Borja – RS	40
	Vaso 36 ^{d e}	CN s/n	Arapeí 01 - Argentina	40
	Vaso 37 ^{d e}	CN s/n	Arapeí 02 - Argentina	40
	Vaso 38 ^d	CN s/n	Arapeí 03 - Argentina	40

Continuação...

TABELA 1: Acesso, coletor, local de coleta e número cromossômico.

<i>Acesso</i>	<i>Identificação</i>	<i>Coletor^a</i>	<i>Local da coleta^b</i>	<i>2n</i>
<i>P.notatum</i>	Vaso 39 ^d	CN s/n	Arapeí 04 - Argentina	40
	Vaso 41 ^{d e}	CN s/n	Arapeí 06 - Argentina	40
	Vaso 42 ^{d e}	CN s/n	Arapeí 07 - Argentina	40
	Vaso 43 ^d	CN s/n	Arapeí 08 - Argentina	40
	Vaso 44 ^{d e}	CN s/n	Arapeí 09 - Argentina	40
	Vaso 46 ^{d e}	CN s/n	Arapeí 11 - Argentina	40
	Vaso 47 ^d	CN s/n	Arapeí 12 - Argentina	40
	Vaso 49 ^{d e}	MD s/n	Mostardas - RS	40
	Vaso 50 ^{d e}	CN s/n	Piracicaba - SP	40
	Vaso 51 ^d	MD s/n	Possadas - Argentina	40
	Vaso 52 ^d	Stainer s/n	Santiago – RS	40
	Vaso 53 ^d	MD s/n	Água Doce – SC	40
	Vaso 54 ^{d e}	MD s/n	EEA	40
	Vaso 55 ^{d e}	Valls14921	Quaraí – RS	40
	Vaso 56 ^{d e}	Valls14931	Alegrete – RS	40
	Vaso 66 ^{d e}	MD s/n	Uruguai	40
	Vaso 67 ^{d e}	MD s/n	Uruguai	40
	Vaso 69 ^{d e}	MD s/n	São José do Hortêncio-RS	40
	Vaso 70 ^d	ND s/n	Porto Lucena - RS	40
	Vaso 71	ND s/n	Três de Maio - RS	40
	Vaso 72	ND s/n	Três de Maio - RS	40
	Vaso 73	ND s/n	Cruz Alta - RS	40
	Vaso 74	MD, CN s/n	Tapes – RS	40
	Vaso 75	MD, CN s/n	Cristal – RS	40
	Vaso 76	MD, CN s/n	São Lourenço do Sul - RS	40
	Vaso 77	MD, CN s/n	Capão do Leão – RS	40
	Vaso 78	MD, CN s/n	Capão do Leão – RS	40
	Vaso 79	MD, CN s/n	Pinheiro Machado/RS	40
	Vaso 80	MD, CN s/n	Pinheiro Machado - RS	40
	Vaso 81	MD, CN s/n	Pinheiro Machado - RS	40
	Vaso 82	MD, CN s/n	Candiota – RS	40
	Vaso 83	MD, CN s/n	Hulha Negra - RS	40

Continuação...

TABELA 1: Acesso, coletor, local de coleta e número cromossômico.

<i>Acesso</i>	<i>Identificação</i>	<i>Coletor^a</i>	<i>Local da coleta^b</i>	<i>2n</i>
<i>P.notatum</i>	Vaso 84	MD, CN s/n	Bexigoso - RS	40
	Vaso 85	MD, CN s/n	Dom Pedrito - RS	40
	Vaso 86	MD, CN s/n	Dom Pedrito - RS	40
	Vaso 87	MD, CN s/n	Dom Pedrito - RS	40
	Vaso 88	MD, CN s/n	Santana do Livramento - RS	40
	Vaso 89	MD, CN s/n	Santana do Livramento - RS	40
	Vaso 90	MD, CN s/n	Santana do Livramento - RS	40
	Vaso 92	MD, CN s/n	Areial – RS	40
	Vaso 93	MD, CN s/n	Areial – RS	40
	Vaso 95	MD, CN s/n	Alegrete – RS	40
	Vaso 96	MD, CN s/n	Alegrete – RS	40
	Vaso 97	MD, CN s/n	Alegrete – RS	40
	Vaso 98	MD, CN s/n	Alegrete – RS	40
	Vaso 100	MD, CN s/n	Rosário do Sul - RS	40
	Vaso 101	MD, CN s/n	São Gabriel - RS	40
	Vaso 102	MD, CN s/n	São Gabriel - RS	40
	Vaso 105	MD, CN s/n	Vila Nova do Sul - RS	40
	Vaso 106	MD, CN s/n	Vila Nova do Sul - RS	40
	Vaso 673	MD, CN s/n	EEA	40
Bagual	Vaso 01 ^{d e}	MD, CN s/n	Missões – RS	40
André da Rocha	Vaso 01 ^{d e}	MD, CN s/n	André da Rocha – RS	40
Pensacola	Vaso 02 ^{d e}	MD s/n	Viamão – RS	20
	Vaso 03 ^{d e}	MD s/n	Viamão – RS	20
	Vaso 04 ^d	MD s/n	Viamão – RS	20
	Vaso 05 ^{d e}	MD s/n	Viamão – RS	20

LEGENDA:

^a Valls – José Francisco M. Valls- EMBRAPA – CENARGEN – Brasília/DF

MD - Miguel Dall’Agnol - UFRGS – Porto Alegre – RS

CN - Carlos Nabinger - UFRGS – Porto Alegre – RS

Stainer - Marcelo Steiner - UFRGS – Porto Alegre – RS

ND – Nair Dahmer - UFRGS – Porto Alegre – RS

^b RS - Estado do Rio Grande do Sul

SC - Estado de Santa Catarina

SP - Estado de São Paulo

MS - Estado do Mato Grosso do Sul

^dacessos feito análise meiótica

^eacessos feito viabilidade de pólen

4.2. Comportamento Meiótico

Neste trabalho foram avaliados, quanto ao comportamento meiótico, 44 acessos de *P. notatum*, dentre esses seis acessos de Pensacola. Os acessos de *P. notatum* “típico” apresentaram as seguintes associações cromossômicas: 20II; 18II + 1 IV; 16II + 2IV; 14II + 3IV; 12II + 4IV ; 10II + 5IV ; 17II + 3I + 1III ; com exceção do acesso 12 que apresentou meiose regular para todas as células analisadas, ou seja, 10II. (Tabela 02).

P. notatum “Bagual” apresentou 20II; 18II + 1 IV; 12II + 4IV; 10II + 5IV; 8II + 6IV; 6II + 7IV. *P. notatum* “André da Rocha” apresentou 20II; 18II + 1 IV; 16II + 2IV; 14II + 3IV; 12II + 4IV; 10II + 5IV. Para a cultivar Pensacola foram observadas associações cromossômicas 10II em todas as células analisadas.

Em alguns acessos predominam associações em bivalentes, por exemplo, *P. notatum* 16. Neste acesso de 57 células analisadas 61,40% apresentaram associações bivalentes na metáfase I e 35% com anáfase I (20+20) e apenas 3,50% com 18II+2IV. Alta percentagem de bivalentes foi observada em 88,88% de células analisadas em *P. notatum* 01, em 82,05% de *P. notatum* 05 (figura 3a), em 90,00% de *P. notatum* 18, em 85,00% de *P. notatum* 28, em 87,50% de *P. notatum* 32, em 90,47% de *P. notatum* 35 e em 89,28% de *P. notatum* 42. Outros acessos apresentaram somente associações bivalentes nas células analisadas, como é o caso de *P. notatum* 12 (figura 3d, 4f) e também os *P. notatum* 06, 07, 13, 17 e 49 todos com 100% de bivalentes nas associações diacinese e metáfase I. Associações em anáfase foram observados em poucos acessos, por exemplo, *P. notatum* 41 com 18+22 univalentes, (figura 4a) .

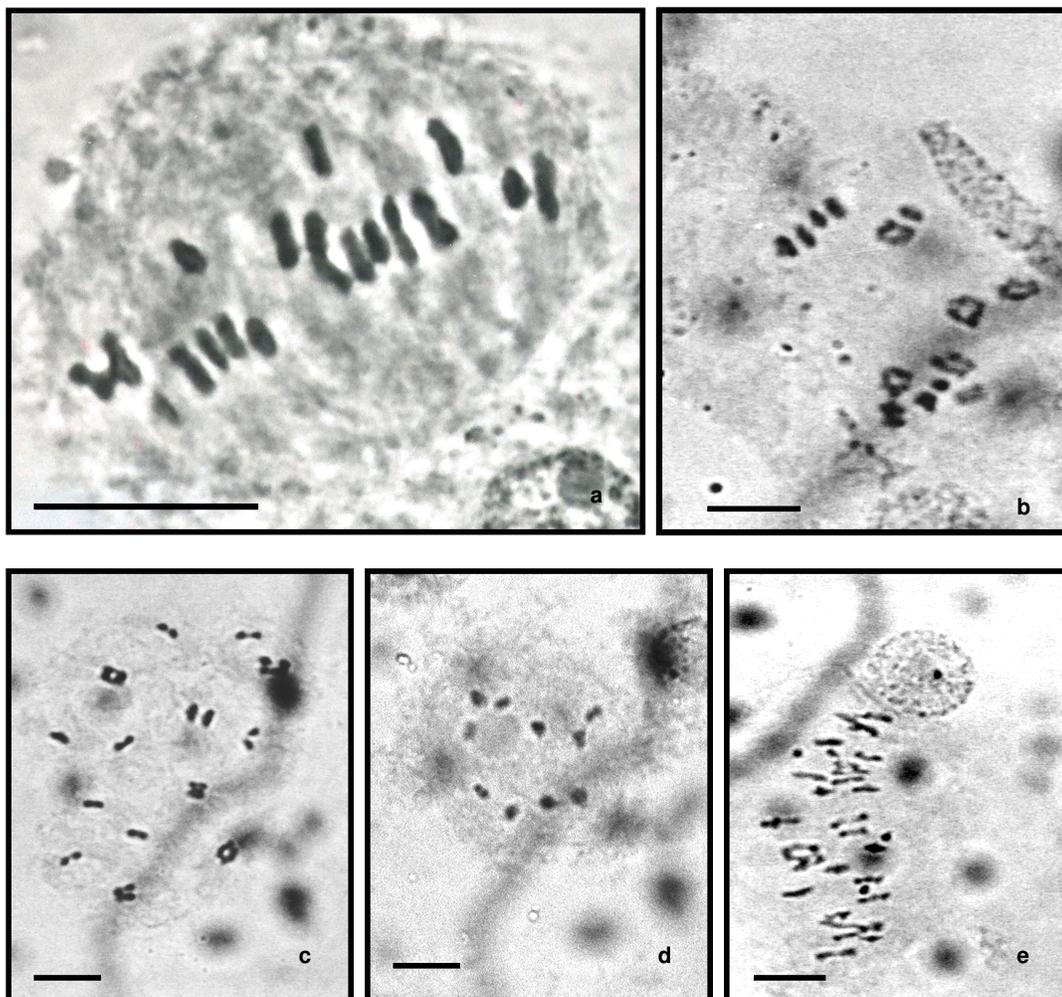


FIGURA 03. Células meióticas. a) *P. notatum* 05, metáfase I (20II); b) *P. notatum* Bagual, metáfase (6II + 7IV); c) *P. notatum* André da Rocha, metáfase (10II + 5IV); d) *P. notatum* 12, diacinese (10II); e) *P. notatum* 09, metáfase I (23II + 2I + 3 IV). Escala 10 μ m.

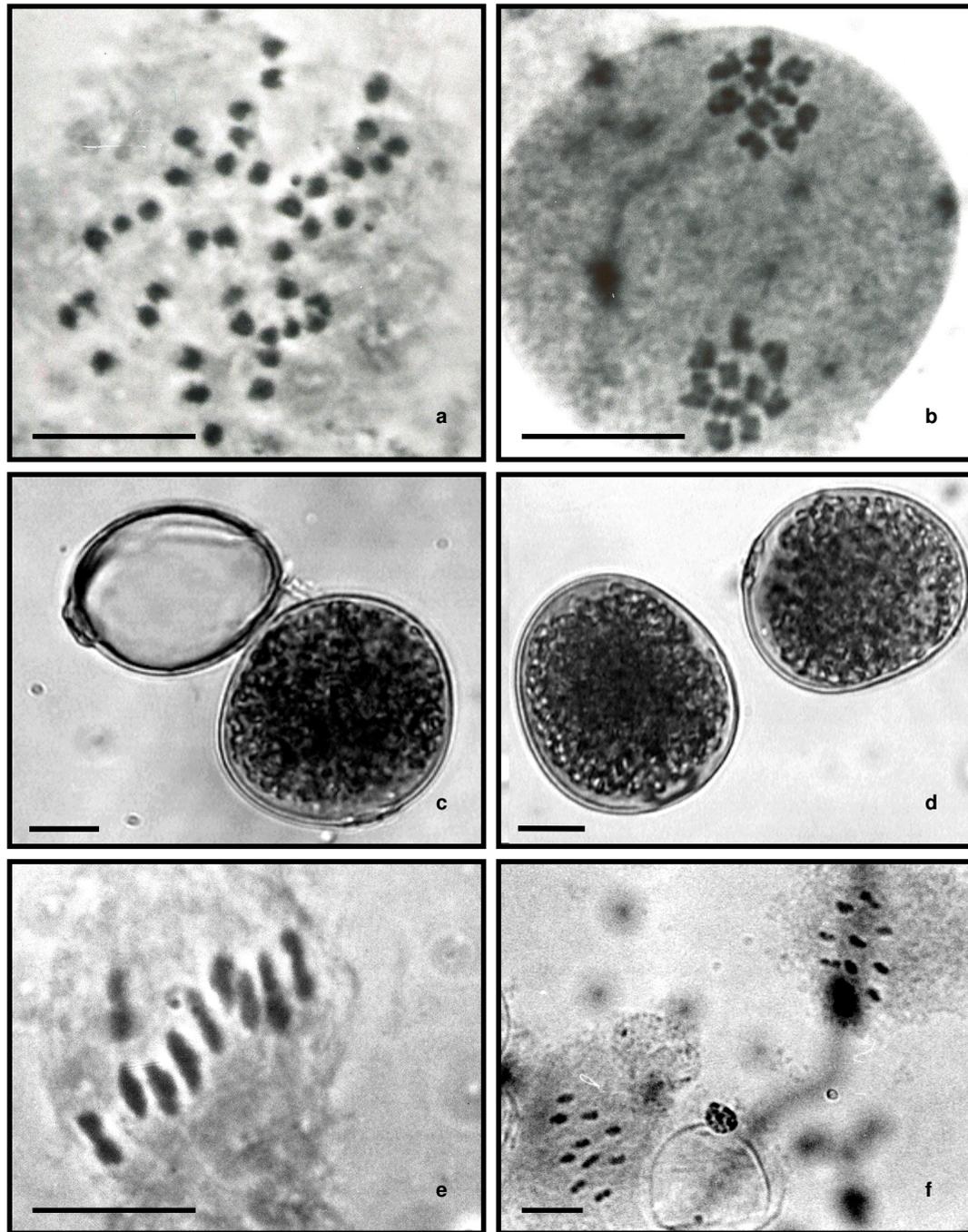


FIGURA 04: Células meióticas. a) *P. notatum* 41, anáfase I inicial (18+22); b) Pensacola 05, metáfase II (10+10); c) *P. notatum* 25, grãos de pólen viável e inviável; d) *P. notatum* 25, grãos de pólen viáveis; e) Pensacola 09, metáfase I (10II); f) *P. notatum* 12, diacinese (10II). Escala 10 μ m.

A taxa de irregularidades foi relativamente alta em *P. notatum* 14 (75% das células), *P. notatum* 33 (93,10% das células), *P. notatum* Bagual (80,95% das células) (figura 3b), *P. notatum* André da Rocha (85,00% das células) (figura 3c). O acesso *P. notatum* 09 mostrou $n=30$ e associações como 30II (3 células); 26II + 2I + 1II (2 células); 23II + 2I + 3IV (5 células) (figura 3e); 21II + 15I + 3II (7 células). A cultivar Pensacola apresentou 20II em todas as células analisadas (figuras 4b, 4e).

A variabilidade para configurações cromossômicas entre as diferentes classes de diferentes espécies de *Paspalum* já foi relatada por outros autores.

Moraes-Fernandes (1971), analisando *Paspalum*, constatou pareamento anormal em 60% das espécies tetraplóides estudadas. Bivalentes, trivalentes e quadrivalentes foram observados em espécies tetraplóides por Pagliarini (2001). É comum tetraplóides apomíticos apresentarem associações de cromossomos quadrivalentes na meiose.

Moraes-Fernandes *et al.*, (1968) analisaram o número cromossômico somático e comportamento meiótico em cinco formas de *P. dilatatum*. Os dados mostraram: $2n=40$ cromossomos e comportamento meiótico essencialmente regular no tipo sexual a forma comum ($2n=50$) apresentou 20II e 10I em cerca de 85% das células analisadas em diacinese e metáfase I. Os mesmos autores analisaram *P. pauciciliatum* ($2n=40$) e Uruguaiana ($2n=60$) os quais mostraram ampla variação de configurações cromossômicas, univalentes, trivalentes e quadrivalentes, e a forma Torres mostrou uniformemente 60 univalentes em todas as células analisadas.

O número cromossômico somático, comportamento meiótico,

morfologia e ecologia de cinco formas de *P. notatum* foram registrados por Moraes-Fernandes *et al* (1973). Todas as formas mostraram número cromossômico de $2n=40$, e em 4 das 5 formas mostraram cerca de 2-3 IV e 14-16 II nas configurações cromossômicas meióticas, sendo que o tipo Capivari apresentou 1IV e 18II, diferenciando-se em relação às outras formas. Os dados morfológicos e ecológicos em geral concordaram com os estudos meióticos, onde 12 das 25 características examinadas estavam em concordância quando Capivari foi comparado com a forma Comum e Comum/Uruguaiana e uma relação 19/25 para a comparação Gigante/Uruguaiana.

Pelos dados apresentados pode ser verificado que, apesar de não haver (com exceção de um caso a ser melhor analisado, a planta 09) variabilidade quanto ao número cromossômico entre os acessos de *P. notatum* examinados, há uma grande variabilidade em relação à frequência de diferentes associações cromossômicas. Isto pode ser explicado pelo modo de reprodução da espécie. Como *P. notatum* tetraplóide é apomítico e também se reproduz por propagação vegetativa, os quadrivalentes residuais do processo de poliploidização podem ser mantidos (sem haver necessidade de “diploidização” cromossômica, fato comum em diplóides sexuais). Além das eventuais mutações e aberrações cromossômicas (como translocação, inversões etc.) que ocorram, podem ser mantidas pelos acessos sem prejuízo de sua fertilidade.

Ao mesmo tempo, como *P. notatum* é pseudógama, há necessidade de um mínimo de regularidade meiótica para assegurar sua fertilidade de pólen suficiente para formar o endosperma, como será discutido na seção seguinte.

TABELA 2: Análise do comportamento meiótico

Acesso	N ^o do vaso	n	Meiose I Associações Diacinese e Metáfase I	Segregação Anáfase I	Total Células
<i>P. notatum</i> típico	01	20	20II (40) 18II + 1IV (5)	—	45
	04	20	20II (20) 18II + 1IV (7)	17-23 (4)	31
	05	20	20II (28) 18II + 1IV (5) 14II + 3IV (2)	20-20 (4)	39
	06	20	20II (9)	20-20 (10)	29
	07	20	20II (19)	20-20 (2)	21
	08	20	20II (13) 18II + 1IV (3) 14II + 3IV (2)	20-20 (10)	28
	09	30	30II (3) 26II + 2I + 1II (2) 23II + 2I + 3IV (5) 21II + 15I + 3III (7)	33-27 (7) 35-25 (2)	26
	11	20	18II + 1IV (11) 16II + 2IV (8) 2II + 8IV (2)	-	21
	12	10	10II (26) 8II + 1IV (2)	10-10 (12)	40
	13	20	20II (23)	20-20 (4) 19-21 (2)	29
	14	20	20II (6) 18II + 1IV (10) 16II + 2IV (5) 8II + 6IV (3)	-	24
	16	20	20II (35) 18II + 1IV (2)	20-20 (20)	57
	17	20	20II (45)	20-20(2)	47

Continuação...

TABELA 2: Análise do comportamento meiótico

Acesso	N vaso	n	Meiose I Associações Diacinese e Metáfase I	Segregação Anáfase I	Total Células
<i>P. notatum</i> típico	18	20	20II (65) 18II + 1IV (2)	-	67
	25	20	20II (15) 18II + 1IV (4) 16II + 2IV (2)	20-20 (2)	23
	26	20	20II (5) 18II + 1IV (9) 16II + 2IV (3)	20-20 (2) 21-19 (3)	22
	27	20	20II (7) 18II + 1IV (3) 16II + 2IV (4) 14II + 3IV (2)	20-20 (4) 23-17 (2)	22
	28	20	20II (17) 18II + 1IV (3)	-	20
	29	20	20II (18) 18II + 1IV (8) 16II + 2IV (7) 14II + 3IV (5)	20-20 (3)	42
	30	20	20II (17) 18II + 1IV (2) 16II + 2IV (5)	-	24
	32	20	20II (21) 18II + 1IV (3)	-	24
	33	20	20II (2) 18II + 1IV (5) 14II + 3IV (3) 16II + 2IV (19)	-	29
	35	20	20II (19) 16II + 2IV (2)	-	21

Continuação...

TABELA 2: Análise do comportamento meiótico

Acesso	N vaso	n	Meiose I Associações Diacinese e Metáfase I	Segregação Anáfase I	Total Células
<i>P.notatum</i> típico	37	20	20II (33) 18II + 1IV (3) 17II + 3I + 1III (7) 16II + 2IV (5) 14II + 3IV (4) 10II + 5IV (2)	-	54
	41	20	20II (7) 18II + 1IV (10) 16II + 2IV (2)	18-22 (3)	22
	42	20	20II (19) 18II + 2IV (3)	20-20 (6)	28
	44	20	20II (11) 18II + 1IV (3) 17II + 3I + 1III (2) 16II + 2IV (2) 10II + 5IV (2)	-	20
	46	20	20II (17) 18II + 1IV (3) 16II + 2IV (5)	-	25
	49	20	20II (42)	20-20 (4)	46
	50	20	20II (16) 18II + 1IV (6) 12II + 4IV (3)	-	25
	54	20	20II (32) 18II + 1IV (2) 16II + 2IV (10)	20-20 (2)	46
	55	20	20II (4) 18II + 1IV (2) 16II + 2IV (4) 14II + 3IV (10) 12II + 4IV (4)	-	24

Continuação...

TABELA 2: Análise do comportamento meiótico

Acesso	N vaso	n	Meiose I Associações Diacinese e Metáfase I	Segregação Anáfase I	Total Células
<i>P. notatum</i> típico	56	20	20II (12) 18II + 1IV (2) 16II + 2IV (2) 14II + 3IV (2) 10II + 5IV (4)	-	22
	66	20	20II (15) 16II + 2IV (9)	20-20 (4)	28
	67	20	20II (12) 18II + 1IV (22) 16II + 2IV (7)	22+18 (2)	43
	69	20	20II (12) 18II + 1IV (4) 16II + 2IV (13)	20-20 (7)	36
<i>P. notatum</i> Bagual	01	20	20II (11) 18II + 1IV (6) 12II + 4IV (2) 10II + 5IV (12) 8II + 6IV (10) 6II + 7IV (5)	20-20 (4) 21-19 (2)	52
<i>P. notatum</i> André da Rocha	01	20	20II (26) 18II + 1IV (12) 16II + 2IV (6) 14II + 3IV (12) 12II + 4IV (3) 10II + 5IV (6)	-	65
<i>P. notatum</i> Pensacola	02	10	10II (21)	10-10 (3)	23
	03	10	10II (33)	10-10 (4)	37
	05	10	10II (23)	10-10 (3)	26
	06	10	10II (40)	10-10 (2)	42
	09	10	10II (35)	10-10 (8)	43
	10	10	10II (35)	10-10 (3)	38

4.3. Estimativa da Viabilidade de Pólen

Uma das técnicas mais utilizadas para observar a viabilidade de pólen é a técnica com a coloração de carmim (Boff & Schifino-Wittmann., 2002; Conterato & Schifino-Wittmann, 2006). Esta técnica foi utilizada neste trabalho onde os grãos completamente corados foram considerados viáveis e inviáveis quando parcialmente corados ou vazios (figuras 4c, 4d). Uma alta percentagem de pólen viáveis indica alta fertilidade masculina.

Neste trabalho foi realizada uma estimativa da viabilidade de pólen em 64 acessos de *P. notatum*. Para a maioria dos acessos a viabilidade foi relativamente alta. A viabilidade de pólen variou de 72,40 a 98,00% em *P. notatum* “típico”, 81,00 a 91,47% em *P. notatum* “Bagual”, 98,00 a 86,00% em *P. notatum* “André da Rocha” O tamanho dos grãos de pólen analisados em *P. notatum* “típico” variou de 30,88 a 51,05 μ m (eixo maior) e, de 27,50 a 48,13 μ m (eixo menor), em *P. notatum* “Bagual” variou de 33,63 a 51,10 μ m (eixo maior) e, de 30,38 a 48,55 μ m (eixo menor) em *P. notatum* “André da Rocha” variou de 36,63 a 51,10 μ m (eixo maior) e, de 33,13 a 48,55 μ m (eixo menor); em Pensacola (*P. notatum* var. *saurae*) de 28,13 a 35,13 μ m (eixo maior) e 24,25 a 29,38 μ m (eixo menor). O acesso 12 chamou atenção pelos pequenos eixos, tendo semelhança aos observados em Pensacola.

Em algumas espécies apomíticas dos gêneros *Paspalum* e *Brachiaria*, a formação de sementes viáveis só ocorre se houver fecundação dos núcleos polares do saco embrionário por um dos núcleos gaméticos do grão de pólen, fenômeno conhecido como pseudogamia, neste caso acessos apomíticos 4x com fertilidade de pólen de média a alta podem ser usados como

parentais masculinos em cruzamentos com fêmeas sexuais 2x, tetraploidizadas artificialmente (4x). Os acessos tetraplóides com alta taxa de anormalidades meióticas e baixa fertilidade de pólen devem ser descartados (Pagliarini & Pozzobon, 2004).

A estimativa da viabilidade de pólen e medidas dos eixos maior e menor, encontram-se na Tabela 3, com maiores detalhes no apêndice 1.

Portanto, apesar de *P. notatum*, como apomítico, suportar uma certa taxa de anormalidades meióticas, que variam entre os diferentes acessos, deve haver ao mesmo tempo, uma razoável fertilidade de pólen que permite a formação do endosperma. Isto foi verificado no presente trabalho.

Poder-se-ia, portanto, especular que há um possível “conflito” genético e evolutivo entre a possibilidade de *P. notatum* acumular anormalidades meióticas, mas, ao mesmo tempo, ter necessidade de certa fertilidade de pólen. Este é um ponto que poderia servir para futuros trabalhos com cunho evolutivo e genético.

TABELA 3. Estimativa da viabilidade e média dos eixos maior (P) e menor (E) de grãos de pólen

Acesso	Nº do vaso	Viabilidade do pólen (%)	P (μm)	E (μm)
<i>P. notatum</i> típico	2	86,53	34,50	31,34
	3	82,80	35,25	30,88
	4	96,00	41,38	38,38
	5	74,33	35,63	33,25
	6	83,87	47,63	44,50
	7	72,40	45,25	42,63
	8	88,40	40,38	37,00
	9	82,20	40,25	36,38
	10	97,93	41,63	30,75
	11	85,80	43,50	38,25
	12	91,20	30,88	27,50
	13	82,53	35,75	32,00
	14	84,47	39,38	35,75
	16	97,40	50,75	48,13
	17	91,07	31,88	29,00
	18	90,07	37,13	31,25
	23	73,93	36,25	33,25
	24	88,87	36,13	30,13
	25	89,60	36,25	33,38
	26	84,67	48,13	42,25
	27	91,93	34,38	30,88
	28	88,27	38,63	34,00
	29	97,13	37,50	32,00
	30	78,87	39,25	35,63
	31	94,07	32,38	28,88
	32	79,60	36,88	31,63
	33	83,27	41,88	39,13
	36	88,00	44,13	36,00
	37	93,60	38,50	34,75
	38	86,73	36,00	32,63
	39	90,47	38,75	34,25
	41	82,13	42,38	36,13
	42	84,60	36,88	32,50
	43	93,60	38,38	34,75
	44	89,73	39,25	36,50
46	83,27	42,25	39,75	
47	89,20	33,50	30,38	
49	91,87	38,75	36,13	
50	90,00	46,50	44,00	
51	73,00	38,13	32,00	
52	89,53	37,63	33,75	
54	84,93	44,50	37,63	
55	81,80	44,25	41,38	
66	88,93	44,75	39,13	
67	89,73	36,88	33,00	
69	76,93	40,38	33,25	
70	91,00	51,05	47,50	

Continuação...

TABELA 3. Estimativa da viabilidade e média dos eixos maior (P) e menor (E) de grãos de pólen

Identificação	Acesso	Viabilidade do pólen (%)	P (μm)	E (μm)
<i>P.notatum</i>				
Bagual	1	81,00	37,75	33,13
	2	87,00	51,10	48,55
	3	86,00	47,80	45,00
	4	91,47	33,63	30,38
	5	86,33	38,38	35,50
<i>P.notatum</i> A.				
Rocha	1	90,33	38,75	35,75
	2	98,00	35,00	33,13
	3	87,00	51,10	48,55
	4	86,00	47,80	45,00
	5	95,73	36,63	33,38
Pensacola	2	94,00	32,13	28,63
	3	88,60	28,13	24,25
	4	87,27	28,63	25,00
	5	89,73	30,25	25,63
	6	92,53	35,13	29,38
	9	82,47	31,63	26,88
	10	95,93	29,38	26,13

5. CONCLUSÕES

1. Até o momento, não foi possível identificar com certeza a existência de indivíduos diplóides em populações naturais de *P. notatum*, além da zona de origem do Pensacola na Argentina. Se existem, são muito raros.

2. Apesar de não haver variabilidade no número cromossômico dos acessos de *P. notatum* analisados, existe uma variabilidade citogenética no nível de associações cromossômicas entre os acessos.

3. A relativamente alta estimativa da fertilidade de pólen, sugere que estes acessos de *P. notatum* poderiam ser usados em programas de melhoramento como progenitores masculinos em eventuais cruzamentos, caso sejam encontrados indivíduos diplóides sexuais.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADAMOWSKI, E. V.; PAGLIARINI, M.S.; BONATO, A. B.; BATISTA, L. A. R.; VALLS, J. F. M. Chromosome numbers and meiotic behavior of some *Paspalum* accessions. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.28, p.773-780, 2005.
- ALISCIONI, S.S. Contribución a la filogenia del género *Paspalum* (POACEAE: PANICOIDEAE: PANICEAE). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 89, n. 4, p. 504-523, 2002.
- BARRETO, I.L. **O gênero *Paspalum* (Gramineae) no Rio Grande do Sul**. 1974. 258 f. Dissertação (Livre Docência-Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1974.
- BENNETT, H. W.; BASHAW, E.C. Interspecific hybridization with *Paspalum* spp. **Crop Science**, Madison, v.6, p.52-54, 1966.
- BOFF, T.; SCHIFINO- WITTMANN, M.T. Pollen fertility and meiotic behavior in accessions and species of *Leucena*. **Tropical Grassland**, Brisbane, v.36, p.54-58, 2002.
- BOLDRINI, I.I. **Dinâmica de vegetação de uma pastagem natural sob diferentes níveis de oferta de forragem e tipos de solos. Depressão Central, RS**. 1993. 262 f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1993.
- BONILLA, J.R.; QUARÍN, C.L. Diplosporous and aposporous apomixis in a pentaploid race of *Paspalum minus*. **Plant Science**, Chicago, v. 127, p.94 – 104, 1997.
- BURSON, B.L. Cytology of some apomictic *Paspalum* species. **Crop Science**, Madison, v.15, p.229-232, 1975.
- BURSON, B.L. Genome relations among four diploid *Paspalum* species. **Botanical Gazette**, Chicago, v.142, p.592-596, 1981.
- BURSON B.L. Apomixis and sexuality in some *Paspalum* species. **Crop Science**, Madison, v.37, p.1347 – 1351, 1997.

BURTON, G.W. A cytological study of some species in the genus *Paspalum*. **Journal of Agricultural Research**, Washington, v.60, n.3, p.193-197, 1940.

BURTON, G.W, The method of reproduction of common bahiagrass, *Paspalum notatum*. **Journal American Society of Agronomic**, Madison, v.40, p.443-452, 1948.

BURTON, G.W, A search for the origin of Pensacola bahiagrass. **Economic Botanic**, New York, v.21, p.319-382, 1967.

BURTON, G.W, FORBES, I. Genetics and manipulation of obligate apomixis in common Bahia grass (*Paspalum notatum* Flügge). In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 8., 1960, Georgia, United States **Proceedings...** Georgia, United States, 1960. p.66-71.

BURTON, G.W, Recurrent restricted phenotypic selection increases forage yields of Pensacola bahiagrass. **Crop Science**, Madison, v.14, p.831-835, 1974.

CÁCERES, M.E.; MARTZK, F.; BUSTI, A.; PUPILLI, F.; ARCIONE, S. Apomixis and sexuality in *Paspalum simplex*: characterization of mode of reproduction in segregation progenies by different methods. **Sexual Plant Reproduction**, Berling, v.14, p.201-206. 2001.

CANTO-DOROW, T. S. **Revisão taxonômica das espécies sul-rio-grandenses de *Paspalum* I. (Grupo Notata) Poaceae – Paniceae, com ênfase na análise da variação intra-específica de *Paspalum notatum* Flügge.** 1993. 172f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1993.

CANTO-DOROW, T.S.; LONGHI-WAGNER, H.M.; VALLS, J.F.M. Revisão taxonômica das espécies de *Paspalum* L. grupo Notata (Poaceae – Paniceae) do Rio Grande do Sul, Brasil. **Iheringia**, Porto Alegre, v.47, p.3-44, 1996.

CIDADE, F. W. **Análise da variabilidade Genética de *Paspalum notatum* Flügge (Poaceae, Panicoideae) com o uso de marcadores moleculares, morfológicos e citometria de fluxo.** 2006. 75f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.

CONTERATO, I. F.; SCHIFINO- WITTMANN, M.T. New Chromosome numbers, meiotic behaviour and pollen fertility in American taxa of *Lupinus* (Leguminosae): contributions to taxonomic and evolutionary studies. **Botanic Journal of the Linnean Society**, London, v.150, p.229-240, 2006.

DALL' AGNOL, M.; STEINER, M. G.; BARÉA, K.; SCHEFFER-BASSO, SIMONE. M. Perspectiva de Lançamento de Cultivares de Espécies Forrageiras Nativas: o Gênero *Paspalum*. In: SIMPÓSIO DE FORRAGEIRAS E PRODUÇÃO ANIMAL, 2006, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS,

2006. p.149-162.

DAURELIO, L. D.; ESPINOZA, F.; QUARIN C. L.; PESSINO, S. C. Genetic diversity in sexual diploid and apomictic tetraploid populations of *Paspalum notatum* situated in sympatry or allopatry. **Plant systematic and Evolution**, New York, v.244, p.189–199, 2004.

DUSI, D.A.; ARAUJO, A.C.G.; CARNEIRO, V.T.C. Apomixia: reprodução assexual nas angiospermas. **Universa**, Brasília, v.8, p.133-148, 2000.

ESPINOZA, F.; DAURELIO, L.D.; PESSINO, S. C.; VALLE, E.M.; QUARÍN, C.L. Genetic characterization of *Paspalum notatum* accessions by AFLP markers. **Plant Systematic and Evolution**, New York, v.258, p.147-159, 2006.

FERREIRA, M.E.; SOUZA-CHIES, T. T. Genetic diversity among *Paspalum* L. species (Poaceae) belonging to the Notata and Linearia groups based on fragment length polymorphism analyses. **Genetics**, Austin, v.125, p.133-145, 2005.

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

GUERRA, M. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. 142p.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como analisar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC, 2002. 131p.

HADDAD, C. M.; DOMINGUES. J. L.; CASTRO, F. G. F.; TAMASSIA, L.F.M. Características de produção e valor nutritivo do capim Pensacola (*Paspalum notatum* Flügge var. *saurae* Parodi) em função da idade de corte. **Scientia Agrícola**, Piracicaba v.56, n.3, 1999.

JARRET, R.L.; LIU, Z. W.; WEBSTER, R.W. Genetic diversity among *Paspalum* spp. as determined by RFLPs. **Euphytica**, Wageningen, v.104, p.119–125, 1998.

MACHADO, A.C.C.; VALLS, J.F.M.; PEÑALOZA, A. P.S.; SANTOS, S. Novos biótipos pentaplóides do grupo Dilatata de *Paspalum* L. (Gramineae) no Sul do Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.35, n.1, 2005.

MACIEL, H. S.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T. First Chromosome numbers, determinations, in south-eastern South American species of *Lupinus* L. Leguminosae). **Botanic Journal of the Linnean Society**, London, v. 139, p.395-400, 2002.

MARTÍNEZ, E.J.; HOPP, E.H.; STEIN, J.; ORTIZ, J.P.A.; QUARÍN, C.L.

Genetic characterization of apospory in tetraplóide *Paspalum notatum* based on the identification of linked molecular markers. **Molecular Breeding**, Berlin, v.12, p. 319-327, 2003.

MARASCHIN, G.E. A planta forrageira no sistema de produção: grama batatais, forquilha e bahiagrass. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 17., 2001, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 2001. 393 p.

MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**, New York, v.92, p.309-316, 2003.

MISLEVY, P.; DUNAVIN, L.S. Management and utilization of Bermudagrass and Bahiagrass in South Florida. In: FLORIDA BEEF CATTLE SHORT COURSE, 42., 1993, Gainesville. **Proceedings...** Gainesville: IFAS: University of Florida, 1993. p. 84-95.

MIZ, R. B.; SOUZA-CHIES, T.T. Genetic Relationships and Variation among Biotypes of Dallisgrass (*Paspalum dilatatum* Poir.) and Related Species Using Random Amplified Polymorphic DNA Markers. **Genetic Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v.53, n.3, p.541-552, 2006.

MORAES-FERNANDES, M.I.B. **Genética e evolução do gênero *Paspalum* (gramineae): contribuição ao estudo das espécies naturais do Rio Grande do Sul.** 1971. 193f. Tese (Doutorado) – Pós-Graduação em Genética, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 1971.

MORAES-FERNANDES, M.I.B.; BARRETO, I.L.; SALZANO, F.M. Cytogenetic, ecologic and morphologic studies in Brazilian forms of *Paspalum dilatatum*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v.10, n.131-138, 1968.

MORAES-FERNANDES, M.I.B.; BARRETO, I. L.; SALZANO, F. M. Cytogenetic, ecologic and morphologic studies in Brazilian forms of *Paspalum notatum*. **Canadian Journal of Genetics and Cytology**, Ottawa, v.15, p.523-531, 1973.

ORTIZ, J.P.A.; PESSINO, S.C.; BHAT, V.; HAYWARD, M.D.; QUARIN, C. A. L. A genetic linkage map of diploid *Paspalum notatum*. **Crop Science**, Madison, v.41, n.3, 2001.

OTERO, J.R. **Informações sobre algumas plantas forrageiras.** Rio de Janeiro; Serviço de Informação Agrícola do Ministério da Agricultura, 1961. n.11, p.334.

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**, Lund, v.135, p.27-34, 2001.

PAGLIARINI, M. S.; POZZOBON, M. T. Meiose vegetal: um enfoque para a

caracterização de germoplasma. In: CURSO DE CITOGENÉTICA APLICADA A RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS, 2.,2004, Brasília. **Anais...** Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. p.24-41.

PARODI, L. R. Estudios sistemáticos sobre las Gramineae-Paniceae Argentinas y Uruguayas. **Darwiniana**, Buenos Aires, v.15, p.65-109, 1969.

POZZOBON, M. T.; VALLS, J. F. M. Chromosome number in germplasm accessions of *Paspalum notatum* (Gramineae). **Brazilian Journal of Genetics**, Ribeirão Preto, v.20, n.1, 1997.

POZZOBON, M. T.; VALLS, J. F. M. Cytogeography and variation of stomatal size of *Paspalum Glaucescens* (Gramineae; Paniceae) in Southern Brazil. **Euphytica**, Wageningen, v. 116, p. 251–256, 2000.

POZZOBON, M. T.; VALLS, J. F. M. Chromosome number in Brazilian germplasm accessions of *Paspalum hydrophilum*, *P. modestum* and *P. palustre* (Gramineae; Paniceae). **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.26, n.3, p.365-368, 2003.

POZZOBON, M. T. **Caracterização citogenética de acessos de germoplasmas de espécies silvestres e semidomesticadas do gênero *Capsicum* (Solanaceae)**. 2005. 152f. Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

POZZOBON, M. T.; SCHIFINO- WITTMANN, M.T; BIANCHETTI, L.B. Chromosome numbers in wild and semidomesticated Brazilian *Capsicum* L. (Solanaceae) species: do $x=12$ and $x=13$ represent two evolutionary lines? **Botanic Journal of the Linnean Society**, London, v.151, p.259-269, 2006.

PUPILLI, F.; LABOMBARDA, P.; CACERES, M.E.; QUARÍN, C.L.; ARCIONI, S. The chromosome segment related to apomixis in *Paspalum simplex* is homeologous to the telomeric region of the long arm of rice chromosome 12. **Molecular Breeding**, Berlin, n.8, p. 53-61, 2001.

PRATES, E. R. Efeito de nitrogênio e de intervalos entre cortes sobre a produção e composição de dois ecótipos de *Paspalum notatum* Flügg e da cultivar Pensacola *Paspalum notatum* Flügg var. *saurae* Parodi, **Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas “Francisco Osório”**, Porto Alegre, v.4, p.267-307, 1977.

PRESTES, P. J. Q.; FREITAS, E. A. G.; BARRETO, I. L. Hábito vegetativo e variação estacional do valor nutritivo das principais gramíneas da pastagem do Rio Grande do Sul. **Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas “Francisco Osório”**, Porto Alegre, v.3, p.516-531, 1976.

QUARÍN, C. L.; HANNA, W. W.; FERNANDEZ, A. Genetic studies in diploid and tetraploid *Paspalum* species. **The Journal of Heredity**, Bazel Suíça, v.73,

p.254-256, 1982.

QUARIN, C. L.; BURSON, B. L. Cytogenetic relations among *Paspalum notatum* var. *saurae*, *P. pumilum*, *P. indecorum* and *P. vaginatum*. **Botanical Gazette**, Chicago, v.144, p.433-438, 1983.

QUARÍN, C. L.; NORRMANN, G. A. Interspecific hybrids between five *Paspalum* species. **Botanical Gazette**, Chicago, v. 151, n.3, p. 366-369, 1990.

QUARÍN, C. L. The nature of apomixis and its origin in Panicoideae grasses. **Apomixis Newsletter**, México, v. 5, p. 8-15, 1992.

QUARIN, C.L. Effect of pollen source and pollen ploidy on endosperm formation and seed set in pseudogamous apomictic *Paspalum notatum*. **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v.11, p.331-335, 1999.

SOUZA-CHIES, T.; ESSI, L.; RUA, G. H.; VALLS, J. F. M.; MIZ, R. A preliminary approach to the phylogeny of the genus *Paspalum* (Poaceae). **Genetic**, Austin, v.126, p.15-32, 2006.

SPERANZA P.; VAIO M. VAZZELLA C. Karyotypes of two cytotypes of *Paspalum quadrifarium* Lam. (Poaceae). An alternative techniques for small chromosomes in plants. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v.26, p. 499-503, 2003.

STEIN J.; QUARIN. C. L.; MARTINEZ, E. J.; PESSINO. S C.; ORTIZ, J. P. A. Tetraploid races of *Paspalum notatum* show polysomic inheritance and preferential chromosome pairing around the apospory-controlling locus **Theoretical and Applied Genetics**, Berling, v. 109, p.186-191, 2004.

STEINER, M. G. **Caracterização agrônômica, Molecular e Morfológica de acessos de *Paspalum notatum* Flügge e *Paspalum guenoarum* Arech.** 2005. 138f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

STRAPASSON, E.; VENCOSKY, R.; BATISTA, L.A.R. Seleção de Descritores na Comparação de Germoplasma de *Paspalum sp.* por meio de Componentes Principais. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v.29, p.373-381, 2000.

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 of Brazil. **Euphytica**, Wageningen, v.99, p. 89-94, 1998.

VAIO, M.; SPERANZA, P.; VALLS, J. F.; GUERRA, M.; MAZZELLA, C. Localization of the 5S and 45S rDNA Sites and cp DNA Sequence Analysis in Species of the Quadrifaria Group of *Paspalum* (Poaceae, Paniceae). **Annals of Botany**, Oxford, v.96, p.191-200, 2005.

VALLS, J. F. M.; POZZOBON, M. T. Variação apresentada pelos principais grupos taxonômicos de *Paspalum* com interesse forrageiro no Brasil. In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO GENÉTICO DE PASPALUM, 1987, Nova Odessa. **Anais...** Nova Odessa: SAPZ/IZ, 1987. p.15-21.

VALLS, J. F. M. Impacto do conhecimento citogenético na taxonomia de *Paspalum* e *Axonopus* (Gramineae). In: CAVALCANTI, T. B.; WALTER, B. M. T. et al. (Ed.) **Tópicos Atuais em Botânica**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia: Sociedade Botânica do Brasil, 2000. p.57-60.

7. APÊNDICE

APÊNDICE 1. Estimativa da viabilidade e média dos eixos maior (P) e menor (E) de grãos de pólen

Biótipos	Nº vaso	Nº da lâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>P.notatum</i> típico	1	1	493	7
		2	451	49
		3	487	13
<i>P.notatum</i> típico	2	1	435	65
		2	436	64
		3	427	73
<i>P.notatum</i> típico	3	1	430	70
		2	409	91
		3	403	97
<i>P.notatum</i> típico	4	1	472	28
		2	478	22
		3	490	10
<i>P.notatum</i> típico	5	1	311	189
		2	392	108
		3	412	88
<i>P.notatum</i> típico	6	1	451	49
		2	403	97
		3	404	96
<i>P.notatum</i> típico	7	1	338	162
		2	354	46
		3	394	6

APÊNDICE 1.Continuação

Acesso	Nº vaso	Nº da lâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>P.notatum</i> típico	8	1	439	61
		2	433	67
		3	454	46
<i>P.notatum</i> típico	9	1	380	20
		2	439	59
		3	414	86
<i>P.notatum</i> típico	10	1	493	7
		2	484	16
		3	492	8
<i>P.notatum</i> típico	11	1	407	93
		2	425	75
		3	455	45
<i>P.notatum</i> típico	12	1	496	4
		2	458	42
		3	446	54
<i>P.notatum</i> típico	13	1	378	12
		2	437	63
		3	423	77
<i>P.notatum</i> típico	14	1	446	54
		2	435	65
		3	416	84

APÊNDICE 1.Continuação

Acesso	Nº vaso	Nº da lâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>P.notatum</i> típico	16	1	484	16
		2	490	10
		3	487	13
<i>P.notatum</i> típico	17	1	468	32
		2	472	28
		3	426	74
<i>P.notatum</i> típico	18	1	452	48
		2	463	37
		3	436	64
<i>P.notatum</i> típico	23	1	371	29
		2	337	63
		3	401	99
<i>P.notatum</i> típico	24	1	461	39
		2	440	60
		3	432	58
<i>P.notatum</i> típico	25	1	462	38
		2	439	61
		3	443	57
<i>P.notatum</i> típico	26	1	447	53
		2	419	81
		3	404	96

APÊNDICE 1.Continuação

Acesso	Nº vaso	Nº da lâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>P.notatum</i> típico	27	1	438	62
		2	474	26
		3	467	33
<i>P.notatum</i> típico	28	1	446	54
		2	432	68
		3	446	54
<i>P.notatum</i> típico	29	1	489	11
		2	479	21
		3	489	11
<i>P.notatum</i> típico	30	1	398	102
		2	384	16
		3	401	99
<i>P.notatum</i> típico	31	1	473	27
		2	482	18
		3	456	44
<i>P.notatum</i> típico	32	1	409	91
		2	407	93
		3	378	22
<i>P.notatum</i> típico	33	1	418	82
		2	398	102
		3	433	67

APÊNDICE 1.Continuação

Acesso	Nº vaso	Nº da lâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>P.notatum</i> típico	36	1	441	59
		2	457	43
		3	422	78
<i>P.notatum</i> típico	39	1	452	48
		2	473	27
		3	432	68
<i>P.notatum</i> típico	41	1	388	12
		2	434	66
		3	410	90
<i>P.notatum</i> típico	42	1	420	80
		2	406	94
		3	443	57
<i>P.notatum</i> típico	43	1	482	18
		2	482	18
		3	440	60
<i>P.notatum</i> típico	44	1	456	64
		2	440	60
		3	450	50
<i>P.notatum</i> típico	46	1	434	66
		2	414	86
		3	401	99

APÊNDICE 1.Continuação

Acesso	Nº vaso	Nº da lâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>P.notatum</i> típico	47	1	446	54
		2	461	39
		3	431	69
<i>P.notatum</i> típico	49	1	477	23
		2	486	14
		3	415	85
<i>P.notatum</i> típico	50	1	447	53
		2	450	50
		3	453	47
<i>P.notatum</i> típico	51	1	397	3
		2	363	37
		3	335	65
<i>P.notatum</i> típico	52	1	469	31
		2	443	57
		3	431	69
<i>P.notatum</i> típico	54	1	425	75
		2	421	79
		3	428	72
<i>P.notatum</i> típico	55	1	401	99
		2	412	88
		3	414	86

APÊNDICE 1.Continuação

Acesso	Nº vaso	Nº da lâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>P.notatum</i> típico	55	1	401	99
		2	412	88
		3	414	86
<i>P.notatum</i> típico	66	1	400	100
		2	466	36
		3	458	42
<i>P.notatum</i> típico	67	1	432	68
		2	459	41
		3	455	45
<i>P.notatum</i> típico	69	1	404	96
		2	335	165
		3	415	85
<i>P.notatum</i> típico	70	1	467	33
		2	436	64
		3	447	53
<i>P.notatum</i> BAG	1	1	434	66
		2	445	55
		3	432	68
<i>P.notatum</i> AR	1	1	460	40
		2	451	49
		3	460	40

APÊNDICE 1.Continuação

Acesso	Nº vaso	Nº da lâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
Pensacola	2	1	464	36
		2	472	28
		3	474	26
Pensacola	3	1	440	60
		2	440	60
		3	449	51
Pensacola	4	1	465	35
		2	427	73
		3	417	83
Pensacola	5	1	449	51
		2	446	54
		3	451	49
Pensacola	6	1	434	66
		2	467	33
		3	487	13
Pensacola	9	1	426	74
		2	417	83
		3	394	106
Pensacola	10	1	471	29
		2	480	20
		3	488	12

8. VITA

Nair Dahmer Balbinot, filha de Fredolino Dahmer e Otelina Schmitt Dahmer nasceu em 26 de setembro de 1975. Estudou da primeira a quinta série na Escola Estadual de 1º Grau Incompleto Monteiro Lobato e da sexta ao primeiro ano do 2º Grau na Escola Estadual de 1º e 2º graus República Argentina, ambas de Porto Lucena. Em 1994 concluiu o 2º Grau no Colégio Getúlio Vargas de Três de Maio.

Em 1998 ingressou na Faculdade de Ciências Biológicas da Universidade de Santa Maria. Trancou o curso por dois anos, iniciando em 2000 e graduando-se em 2003. Neste período participou de atividades relacionadas a pesquisa no Jardim Botânico da UFSM e no Laboratório de Citogenética e Biotecnologia Vegetal.

Em março de 2005 iniciou o Mestrado no curso de Zootecnia, Área de Concentração Plantas Forrageiras no Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.