

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS



Maria Tereza Bolzon Soster

**“Caracterização morfológica e citogenética de acessos de *Paspalum*  
coletados no sul do Brasil”**

Tese apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de DOUTOR EM CIÊNCIAS, Área de Concentração Recursos Genéticos Vegetais.

Orientador. Prof. PhD. José Francisco Montenegro Valls

FLORIANÓPOLIS, 2009.

‘ Estudar para aprender...  
Aprender para trabalhar e  
Trabalhar para servir sempre mais ...’

## AGRADECIMENTOS

À professora Simone Meredith Scheffer-Basso, da Universidade de Passo Fundo e à pesquisadora Sandra Patussi Brammer, da Embrapa Trigo, e suas equipes de estagiários e ajudantes pelo apoio na manutenção e operacionalização dos experimentos; sem essa ajuda não haveria observações.

Aos alunos que passaram por mim no decorrer desse trabalho, mais de trezentos, entre profissionalizantes (Serviço Nacional de Aprendizagem Rural-SENAR-RS), técnicos e tecnólogos (Centro Federal de Educação Tecnológica de Bento Gonçalves-CEFET-BG) e Tecnólogos e Bacharéis (Universidade Estadual do Rio Grande do Sul), pela oportunidade da experiência na docência e pela esperança na educação brasileira, afinal, educar é um ato de amor.

À todos os professores presentes na minha formação, da graduação e de todos os níveis da pós-graduação, pelo espelho e inspiração, e sobretudo, ao meu orientador, professor José Francisco Montenegro Valls, pelo exemplo de conduta, integridade e pelas palavras de confiança e crédito a mim concedido na realização de todo o trabalho.

E finalmente, a minha família, reduzida no decorrer desse trabalho, me privando de algumas existências, agradeço a todos que sempre me apoiaram incondicionalmente nas minhas escolhas, por requererem minha presença e suportarem minha ausência.

“Senhor! Em tudo quanto eu te peça, conquanto agradeça a infinita bondade com que me atendes. Não consideres o que eu te rogue, mas aquilo que eu mais necessite. E quando me concederes aquilo de que eu mais precise, ensina-me a usar a tua concessão, não só em meu proveito, mas em benefício dos outros, a fim de que eu seja feliz com a tua dádiva, sem prejudicar a ninguém.” (André Luiz).

## LISTA DE FIGURAS

### Seção 2 – Capítulo I

1. Esquema de avaliação da inflorescência de <i>Paspalum</i> : 1) Distância entre o ramo basal e o ramo apical (distância média dos ramos); 2) Comprimento do eixo da folha bandeira ao ramo basal e 3) comprimento total do eixo floral 4) Imagem da Panícula de <i>Paspalum</i> sp. ....	22
2. <b>a.</b> <i>Paspalum urvillei</i> (Conforme IFAS, Center for Aquatic Plants- University of Florida, Gainesville, 1996); <b>b.</b> <i>Paspalum dilatatum</i> : 1) Hábito de crescimento; 2) Lígula; 3) Inflorescência e 4) espigueta. ....	27
3. Afilhos totais e afilhos reprodutivos em acessos de <i>Paspalum</i> no estágio de florescimento. ....	29
4. Estolões em V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?) e V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”) ....	30
5. Inflorescências a) aspecto piramidal do biótipo “Torres” e b) inserção oposta dos ramos (foto do acesso V14289 <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?). ....	35
6. Aspecto do eixo floral do acesso V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?) e do biótipo Torres (V14401) ....	39
7. Aspecto da panícula dos acessos pentaplóides ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?) V14860, V14285 e V14289 e <i>P. urvillei</i> (V14392) ....	39
8. Dendrograma de agrupamento através do Método de Ligação Completa- pelo vizinho mais distante dos acessos de <i>P. urvillei</i> e de <i>P. dilatatum</i> derivados do biótipo “Torres” ....	42
9. Micrósporos de V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?) com dimorfismo.....	47
10. Afilho reprodutivo de V14349 ( <i>P. dilatatum</i> “Comum”) com duas inflorescências ....	56
11. Acesso V14253 ( <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” ?) e Acesso V14349 ( <i>P. dilatatum</i> “Comum”) dimorfismo ....	60
12. Final da meiose do acesso do biótipo “Virasoro” com formação de tétrades normais e anormais ....	61
13. Dendrograma de agrupamento através do Método de Ligação Completa- pelo vizinho mais distante dos acessos biótipos de <i>P. dilatatum</i> ....	63
14. Aspecto das ramificações de V14570 ( <i>P. pauciciliatum</i> ) podendo propagar-se vegetativamente ....	64
15. Aspecto aplanado da inflorescência de <i>P. pauciciliatum</i> (V14570). ....	66
16. Aspecto piramidal da inflorescência de a) V14779 ( <i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> ?) e b) de V14811 ( <i>P. juergensii</i> X <i>P. urvillei</i> ?). ....	69
17. Espiguetas e cariopses de <i>P. paniculatum</i> ....	70
18. Dendrograma de agrupamento através do Método de Ligação Completa- pelo vizinho mais distante dos acessos biótipos de <i>P. dilatatum</i> ....	72
19. Prófase (1), Metáfase (2) e Anáfase (3) de <i>P. urvillei</i> ....	74
20. Aspecto da inflorescência de V14201 ( <i>P. dilatatum</i> “Comum” heptaplóide), espigueta e germinação da semente ....	76
21. Fases da meiose irregular de V14201 ( <i>P. dilatatum</i> “Comum” heptaplóide) ....	78
22. Arranjos celulares encontrados no acesso V14201 heptaplóide ....	78

## LISTA DE TABELAS

### Seção 2-Capítulo I

1. Contagem cromossômica para espécie e possíveis híbridos de <i>Paspalum</i> e locais de coleta dos acessos .....	20
2. Identificação e contagem cromossômica dos acessos de <i>Paspalum</i> agrupados para comparações morfológicas .....	24
3. Cronograma de atividades .....	25
4. Contagem cromossômica de acessos de <i>Paspalum</i> e amplitude térmica até o início do florescimento no ano de implantação .....	26
5. Altura do primeiro nó visível, número de nós nos afilhos reprodutivos e estatura dos acessos de <i>Paspalum</i> .....	31
6. Disposição de macropêlos e micropêlos na lâmina foliar dos acessos .....	31
7. Pilosidade das Bainhas de acessos de <i>Paspalum</i> .....	32
8. Largura e comprimento médio da lâmina da folha bandeira e relação comprimento da bainha e da lâmina da folha bandeira de acessos de <i>Paspalum</i> .....	33
9. Características referentes às inflorescências de <i>Paspalum</i> .....	34
10. Antese das flores quanto à exposição da inflorescência em <i>Paspalum</i> .....	35
11. Descrição do eixo da inflorescência de acessos de <i>Paspalum</i> .....	36
12. Características dos ramos e espiguetas de inflorescências de acessos de <i>Paspalum</i> ....	38
13. Facilidade de desprendimento das espiguetas de <i>Paspalum</i> .....	40
14. Matriz de distância do vizinho mais próximo e mais distante (Mah) .....	41
15. Altura do primeiro nó visível, número de nós nos afilhos reprodutivos e estatura dos acessos pentaplóides de <i>Paspalum</i> .....	51
16. Largura, comprimento médio da lâmina da folha bandeira e relação bainha/ lâmina da folha bandeira de acessos de <i>Paspalum</i> .....	52
17. Características do eixo da inflorescência de acessos de <i>Paspalum</i> .....	54
18. Características dos ramos e espiguetas de inflorescências de acessos de <i>Paspalum</i> ....	55
19. Matriz de distância do vizinho mais próximo e mais distante pela distância de (Mah)	62
20. Altura do primeiro nó, número de nós nos afilhos reprodutivos e estatura dos acessos de <i>Paspalum</i> .....	65
21. Largura, comprimento médio da lâmina da folha bandeira e relação bainha/ lâmina da folha bandeira de acessos de <i>Paspalum</i> .....	66
22. Características do eixo da inflorescência de acessos de <i>Paspalum</i> .....	67
23. Número de ramos, comprimento do ramo basal, número de espiguetas e comprimento das espiguetas de inflorescências de acessos de <i>Paspalum</i> .....	68
24. Matriz de distância do vizinho mais próximo e mais distante pela distância de (Mah)	70
25. Características morfológicas do acesso heptaplóide (V14201) encontrado no Sul do Brasil .....	76
26. Características morfológicas relativas a inflorescência do acesso heptaplóide (V14201) encontrado no Sul do Brasil .....	77

## INDICE

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>iv</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>v</b>
<b>SEÇÃO 1 – Introdução e Justificativa</b>	<b>2</b>
1.1 Introdução .....	4
1.2 Justificativa.....	5
1.3 Revisão Bibliográfica.....	16
1.4 Hipóteses .....	16
1.5 Objetivos .....	
<b>SEÇÃO 2 – Capítulo I “Caracterização morfológica e citogenética de acessos de</b>	<b>17</b>
<i>Paspalum</i> coletados no Sul do Brasil” .....	18
2.1 Resumo .....	18
2.2 Abstract.....	20
2.3 Material e Métodos.....	25
2.4 Resultados e Discussão.....	79
2.5 Conclusões.....	81
2.6 Considerações Finais.....	
	85
<b>5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	

# **SEÇÃO 1**

## **Introdução e Justificativa**

## INTRODUÇÃO

O gênero *Paspalum* vêm sendo estudado por seu valor ecológico, forrageiro e ornamental, e principalmente por apresentar grande heterogeneidade interna, como apomixia, aloploidia, autoploidia e hibridações nas espécies. Desde 1929, Chase considera aspectos taxonômicos, subdividindo *Paspalum* em subgêneros, e dentro desses, em grupos informais. Tais grupos, embora não possuam categoria taxonômica definida, são amplamente utilizados pelos especialistas e são considerados artificiais, embora já possa ser discutido monofilia de alguns deles.

Para *Paspalum dilatatum* Poiret, hipóteses filogenéticas são reportadas quanto à composição da espécie; no entanto, alguns biótipos ainda possuem origem filogenética desconhecida. Nesta espécie, considera-se existir relação entre a coloração das anteras, o nível de ploidia e o comportamento sexual, onde anteras amarelas eram relacionadas a biótipos que apresentam reprodução sexual, anteras roxas eram relacionadas aos apomíticos. No entanto, a descrição do biótipo “Torres”, com anteras roxas por fora e amarelas na parte mais interna, e que apresentava apomixia e meiose irregular, reforça a grande heterogeneidade do grupo. Esse biótipo é originado de dois genomas conhecidos (II e JJ) e de outro(s) genoma(s) que ainda são se sabe quais são, porém obviamente distintos daqueles dos outros hexaplóides da espécie, denominados de biótipos “Uruguaiana” e o “Uruguaio” (Chirú).

Essa variação tem sido estudada de forma que haja representatividade de cada novo evento em acessos coletados na natureza, e sua manutenção em bancos de germoplasma para conservação. Muitas variações decorrentes da evolução adaptativa da espécie, sobretudo sob ação antrópica, podem estar sendo perdidas ou não ‘desvendadas’ dada a velocidade da destruição de zonas em que predominam essas espécies forrageiras, com a implantação de

novos cultivos exóticos e pela exploração inadequada de áreas. Sendo assim, a caracterização do germoplasma é importante para a conservação das espécies e quanto mais dados levantados sobre eles, maior a contribuição para a sua conservação, sendo otimizada a busca pela representatividade dentro de um banco ativo de germoplasma.

Vários acessos de *Paspalum* foram coletados no sul do Brasil, onde verificou-se números de cromossomos diferente do esperado para representar o biótipo Torres. Desses acessos, pentaplóides ao invés de hexaplóides, verificou-se formas intermediárias entre as espécies, e concomitantemente a isso, outros pentaplóides foram descobertos, possivelmente de origem distinta do então ‘único’ pentaplóide descrito para *P. dilatatum*, chamado de biótipo “Comum”.

O fato de haver rotas diferentes na formação de biótipos dentro de uma mesma espécie, por hora utilizando-se de hibridações entre espécies diferentes, com o passar do tempo, pode se tornar uma rota evolutiva na formação e consolidação de novas espécies, tendo em vista que em muitas espécies de *Paspalum*, o material que as originou é semelhante, como evidenciado pela presença dos genomas de *P. juergensii* Hack. e de *P. intermedium* Munro ex Morong & Britton em espécies dos grupos informais Dilatata e Virgata.

Resta-nos investigar as semelhanças e diferenças entre os acessos de *P. dilatatum* e relacioná-las com outras espécies, para melhor entender esses caminhos desenvolvidos pelas plantas na tentativa de persistirem em seus ambientes naturais apesar da ação antrópica, e para isso, aspectos morfofisiológicos e citogenéticos continuam sendo estudados, para inferir sobre o tema, sendo a problemática relacionada à grande diversidade da espécie e seus mecanismos de sobrevivência, associados ao modo de reprodução e hibridação, e à necessidade da continuidade dos estudos.

## JUSTIFICATIVA

Pelas observações que concernem hibridações, por eventos citogenéticos e ou morfofisiológicos, percebe-se distintas linhas evolutivas nas espécies de *Paspalum*, e a quantificação e caracterização desses eventos somente é possível pela triagem e coleta de germoplasma, de modo que a representatividade das espécies seja ampliada e cada vez mais fiel aos eventos naturais, nos bancos de germoplasma. Assim a descrição e a incorporação do maior número de materiais coletados em expedições contribuem para ampliar o conhecimento das espécies, sendo o objetivo geral, aplicando-se a presente pesquisa à busca de informações para a melhor destinação do germoplasma, o que justifica sua realização. Assim a descrição e a incorporação do maior número de materiais coletados em expedições contribuem para ampliar o conhecimento das espécies, sendo o objetivo geral, aplicando-se a presente pesquisa à busca de informações para a melhor destinação do germoplasma, o que justifica sua realização.

## REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O gênero *Paspalum* compreende cerca de 330 espécies, das quais 200 ocorrem no Brasil, envolvendo várias das principais gramíneas forrageiras nativas regionais. Algumas, como *P. atratum* Swallen e *P. notatum* Flüggé, têm permitido o lançamento de cultivares. A análise da diversidade das espécies de *Paspalum* tem recebido atenção especial. Vários autores subdividiram o gênero em grupos informais, com base morfológica, o que tem sido muito questionado, principalmente por ter-se atualmente o instrumento dos marcadores moleculares, que permitem comparações genéticas mais acuradas (Valls, 2005). De acordo com Batista (2005), o Banco Ativo de Germoplasma de *Paspalum* (BAG-*Paspalum*), localizado em São Carlos, SP, tem a finalidade de preservar, multiplicar e caracterizar acessos, para que possam ser usados em atividades de pesquisa, principalmente em melhoramento genético, e a característica base desse tipo de coleção é sua dinâmica, pela qual busca sempre atender às principais demandas por parte dos programas de pesquisa. Dentro da família Poaceae, *Paspalum* destaca-se em variabilidade genética, tendo suas espécies e ecótipos distribuídos principalmente nas regiões Centro-oeste e Sul do Brasil, leste da Bolívia, norte da Argentina, Paraguai e Uruguai.

Os acessos mantidos no BAG representam 13 unidades federativas do Brasil, sendo 31% coletados no Rio Grande do Sul, e apresentam múltiplos usos. Além da produção de forragem para a alimentação animal, podem ser utilizados para fixação de dunas, na contenção da erosão em encostas de rodovias e em aplicações ornamentais, além de serem responsáveis pela alimentação de diversas espécies de aves migratórias. Um pouco de espécies são classificadas como plantas invasoras. Embora haja grande número de

metodologias para estimativa da variabilidade nas espécies vegetais, nenhuma tem sido tão usada para apoiar a classificação sistemática como a aplicação de descritores morfológicos, que ainda podem ser associados a marcadores moleculares e ao fenótipo, sendo esse último, resultante da expressão gênica, do ambiente e da expressão e interação de ambos (Batista, 2005).

Os campos nativos do sul do Brasil apresentam uma maior performance estival em detrimento à hiberna, fato evidente pela presença mais comum de gramíneas do tipo C4, que contribuem de 75 % a 95 % da biomassa da área (Milot, 2001). A quase totalidade da produção pecuária dos estados do Sul provém dessas pastagens, compostas, em sua maior parte, por espécies estivais, que paralisam seu crescimento e perdem a qualidade com o frio no período de inverno, gerando uma redução quali-quantitativa, e significativas perdas no peso dos animais, redução das taxas de fertilidade, elevação da mortalidade, reduzindo o desfrute com grande prejuízo econômico (Silva *et al.*, 2001). No entanto, existem espécies mais resistentes ao frio, com rápida regeneração após a ocorrência de geadas, e com grande potencial forrageiro, que são passíveis de serem melhoradas.

Neste panorama, um conjunto de recursos genéticos vegetais importantes são aquelas espécies fáceis de serem domesticadas e/ou utilizadas *in situ*, tal como é o caso das forrageiras, frutíferas, aromáticas, medicinais, dentre outras, das quais já se investigam algumas espécies, que têm sido domesticadas em outras regiões do mundo, com base em materiais genéticos coletados no Cone Sul da América do Sul (Ferrer & Clausen, 2001), incluindo o *Paspalum dilatatum*.

As gramíneas estivais, que fazem parte das pastagens nativas do sul do Brasil, pertencem, em grande parte, ao gênero *Paspalum*, o qual inclui cerca de 200 espécies, amplamente dispersas em regiões tropicais e temperadas, especialmente no continente

americano (Burson, 1997). *Paspalum dilatatum*, capim melador, é uma gramínea forrageira cespitosa perene, com rizomas curtos, ciclo estival, originária da América do Sul, especificamente do Sul do Brasil, Uruguai e Argentina, tendo seu cultivo estendido para outros países como a Nova Zelândia, Austrália, Estados Unidos e outros países tropicais e subtropicais, principalmente por apresentar a produção de forragem altamente apreciável por ruminantes (Burson, 1991). Dentro do gênero, o grupo “Dilatata” tem especial importância para a área subtropical, por seu valor como gramínea forrageira e ampla distribuição na região. Este grupo está formado por quatro espécies e sete biótipos, sendo que diferentes níveis de ploidia e comportamento reprodutivo foram descritos para as espécies e formas que o compõe (Pereira *et al.*, 2002).

O modo de reprodução é um dos fatores principais que determinam a estrutura genética das populações. De acordo com a espécie, que pode ser predominantemente autógama, alógama, apomítica ou de reprodução vegetativa, a diversidade genética entre e dentro de populações se estrutura de forma diferente. As atividades em recursos genéticos vegetais, melhoramento e multiplicação de sementes requerem o conhecimento do sistema reprodutivo para a conservação adequada, utilização e manutenção da diversidade genética de espécies consideradas (Rivas, 2001), sendo a pesquisa nesse sentido, extremamente relevante.

Conforme Garcia *et al.* (2000/2001), *P. dilatatum* é uma espécie de alto valor forrageiro, possui grande variabilidade, tendo formas sexuais e apomíticas, e pode ser subdividido em diferentes biótipos. Duas subespécies são distinguidas por algumas características morfológicas e pelo grau de ploidia. Plantas que se enquadram no biótipo considerado “Comum”, *Paspalum dilatatum* subsp. *dilatatum*, de anteras roxas, usualmente são pentaplóides ( $2n=50$ ) e apomíticas, enquanto as da subsp. *flavescens*, de anteras amarelas, são tetraplóides ( $2n=40$ ) e sexuais.

O genótipo mais freqüente é o chamado biótipo “Comum”, que apresenta pareamento irregular, apomixia e formação de múltiplos sacos embrionários, baixa viabilidade de pólen e sementes de baixa qualidade, fato que limita a expansão de seu cultivo como planta forrageira comercial (Souza-Chies & Cavalli-Molina, 1995). Gauer *et al.* (2002) também se referem aos biótipos com “anteras roxas” ou “Comum” e “Torres” como tendo reprodução assexual por apomixia, comprovada em análises citológicas do saco embrionário e também, testes de progênie. Uma das conseqüências da apomixia é a perpetuação de genótipos bem adaptados a seu nicho ecológico, apresentando escassa flexibilidade evolutiva e alta especialização local (Garcia *et al.*, 2000/2001). Pentaplóides originados por hibridações de tetraplóides (IIJJ) com hexaplóides (IIJJXX) têm sido sugeridos como possível estratégia de melhoramento do grupo. Porém, conforme Speranza (2005), teriam sido originados naturalmente da união de um tetraplóide (IIJJ) com um diplóide não relatado (XX), ou então, de pentaplóides com habilidades de transmitir gametas euplóides (IJX) que ao cruzarem com um tetraplóide (IIJJ), teriam formado novamente um pentaplóide.

O processo denominado de apomixia é a formação de sementes assexualmente, onde a fertilização e a meiose podem não estar envolvidas, e é um método geneticamente controlado de reprodução de plantas. Nesse tipo de reprodução, o embrião desenvolve-se no ovário a partir de uma célula somática do óvulo, ocorrendo a formação de sementes férteis, sem haver a união do gameta feminino com o masculino, como ocorre na reprodução sexual. A apomixia pode seguir três mecanismos básicos: diplosporia, aposporia e embrionia adventícia, baseada no sítio de origem e subsequente padrão de desenvolvimento da célula que dará origem ao embrião. Para análises de ocorrência de apomixia, existem várias metodologias já testadas ou em teste no grupo *Dilatata*, como: 1) estudos citológicos da megasporogênese e do desenvolvimento do saco embrionário; 2) análise de progênies; 3) análise eletroforética de

isoenzimas; 4) análise do número cromossômico e comportamento meiótico; 5) análise da frequência de plântulas-gêmeas; 6) análise de marcadores morfogenéticos específicos; 7) teste de auxinas (Gauer & Cavalli-Molina, 2000).

Segundo Quarín *et al.* (1996) é comum na tribo Paniceae, em especial no gênero *Paspalum*, a coexistência na natureza de citotipos diplóides e tetraplóides da mesma espécie, sendo os diplóides sexuais alógamos e os tetraplóides apomíticos, ou com algum potencial para a sexualidade, em casos de apomixia facultativa.

Para os biótipos de *P. dilatatum* com anteras amarelas, segundo Souza-Chies & Cavalli-Molina (1995), há três formas, o biótipo “Vacaria”, “Virasoro” e a subsp. “*Flavescens*”, todas com 40 cromossomos, pareamento regular e reprodução sexual. Entretanto, esses biótipos ocorrem em locais diferentes e apresentam diferentes morfologias, além de mostrarem comportamento distinto, quanto à formação de híbridos naturais, por exemplo, com a espécie *P. urvillei*. Três formas hexaplóides, com 60 cromossomos, meiose irregular e predominantemente apomíticos, têm sido descritas para o sul do Brasil: *P. dilatatum* “Uruguaiana”, com anteras roxas, a forma conhecida como típico *P. dilatatum* “Torres”, com anteras amarelas e roxas, e o “Torres armado”, com diferença desse último, principalmente na forma da inflorescência e espiguetas, e na distribuição geográfica.

No Uruguai, ocorre outro hexaplóide, do qual descende a cultivar comercial “Chirú”. Klastornick *et al.* (2002) citam que todos os biótipos são alopoliplóides. A espécie inclui citótipos tetraplóides sexuais ( $2n=4x=40$ ), com fórmula genômica IIJJ- biótipo “Virasoro”- e citótipos pentaplóides ( $2n=5x=50$ , IIJX - tipo “comum”) e hexaplóide ( $2n=6x=60$ , IIJXX, biótipo “Chirú”) de reprodução apomítica, sendo o biótipo pentaplóide o mais frequente. Nos anos de 1997, 1998 e 1999, os autores testaram a hibridação de três clones  $2n=4x=40$ , sexuais, com o polinizador do biótipo hexaplóide, os quais produziram híbridos pentaplóides,

conforme o esperado, mas também, heptaplóides ( $2n=7x=70$ ). Esses híbridos heptaplóides se originaram provavelmente por fecundação de um saco embrionário  $2n$  de um dos clones sexuais e constituem uma forte evidência de que há gametas não reduzidos e partenogênese haplóide em formas sexuais de *P. dilatatum*, e que a hibridação acontece também naturalmente, sendo possível a hibridação conduzida em programas de melhoramento.

Técnicas moleculares têm ajudado a identificar os genótipos e suas principais variações. É o caso de marcadores RAPD, pelos quais, Casa *et al.* (1996) puderam estabelecer diferenças entre representantes de tipos apomíticos e sexuais de *P. dilatatum*, verificando grande similaridade entre as bandas diferenciais. As bandas diferenciais encontradas no biótipo “Torres” devem ser originárias do genoma desconhecido X, ausente no tetraplóide (IIJJ) e presente nos pentaplóides (IIJJX) e nos hexaplóides (IIJJXX). Por sua vez, a análise citogenética demonstra que, enquanto os biótipos “Uruguaiana” e o “Uruguaio” (Chirú) apresentam variações de fórmula IIJJXX, o biótipo “Torres”, parece ter fórmula bastante distinta (Burson, 1991), ainda não conhecida.

Entretanto, Speranza (2005) relata que o biótipo “Torres” ( $2n=6x=60$ ), assináptico, pode ter sido originado de um tetraplóide de *P. dilatatum* e um citótipo octoplóide *P. virgatum* L. simpátrico, sem considerar perdas de cromossomos no pareamento de “Torres”, o que causaria variações na fórmula genômica, notada em *P. dilatatum* sexuais e no tetraplóide *P. virgatum*.

Como importante recurso forrageiro, Carámbula (2002) destaca as características de resistência ao pisoteio e pastoreio, quando em solo com boa fertilidade, resistência à estiagem e também à excessos de água, devido ao seu sistema radical extenso, capacidade de rebrotar vigorosamente após períodos de secas em resposta às chuvas, grande persistência e demora em se extinguir em condições de degradação das pastagens. No entanto, a produção de

sementes é comprometida pela suscetibilidade ao “ergot”, causado pelo fungo *Claviceps paspali*, que destrói as cariopses e ataca mais frequentemente a subespécie *dilatatum* (Garcia *et al.*, 2000/2001), denominada de anteras roxas por Souza-Chies & Cavalli-Molina (1995).

A deficiente qualidade das sementes produzidas por *P. dilatatum* é uma das principais causas que limitam sua difusão comercial e a busca de resistência a esse fungo tem sido por muito tempo o objetivo mais importante do melhoramento da espécie, pois ao atacar as inflorescências da planta, o fungo produz grande quantidade de esclerócios, que além de recontaminar, compromete a semente, e pode resultar em toxicidade para o gado (Schrauf, 2002).

Souza-Chies & Cavalli-Molina (1995) também citam o aumento da qualidade das sementes de *P. dilatatum* como um dos maiores objetivos de programas de melhoramento genético da espécie, já que seu potencial forrageiro é bem conhecido. Em seus ensaios, representantes do biótipo de anteras roxas apresentaram produção de sementes viáveis inferior aos biótipos de anteras amarelas, aproximadamente 40% contra 75%. No entanto, a germinação global de todos os biótipos testados do grupo Dilatata, em dois períodos diferentes: novembro/dezembro/janeiro e março/abril, foi inferior a 20%, taxa considerada extremamente baixa. Além da susceptibilidade ao ergot, hipóteses, como a esterilidade causada por perdas de desenvolvimento nucelar para a formação de sacos apospóricos, a polinização inadequada, a ocorrência de múltiplos sacos apospóricos em um único ovário, dentre outras, podem ser levantadas para a baixa eficiência na formação de cariopses.

A reprodução por apomixia permite, segundo Usbert Filho (1981), especialmente em condições naturais, a fixação de genótipos poliplóides altamente heterozigotos (que geralmente são vigorosos e com grande capacidade de adaptação às condições ambientais vigentes), os quais, por sua esterilidade sexual, seriam incapazes de sobreviver a não ser por

este processo. Também permite o aparecimento de populações enormes de indivíduos geneticamente semelhantes para a rápida colonização de habitats recém disponíveis.

Como alternativa de melhoramento da qualidade das sementes de *P. dilatatum* é a hibridação com *P. urvillei* Steudel, tendo a possibilidade de que esse cruzamento confira alguma resistência ao “ergot”, já que esse evento é observado naturalmente em populações naturais e produz sementes com níveis variados de viabilidade, ou mesmo, interespecífica, com o biótipo “Virasoro”, visto que este, não tem apresentado “ergot” (Costa & Scheffer-Basso, 2003). Uma das limitações a serem superadas em *P. urvillei* é o seu prolongado período de florescimento, conforme resultados de Scheffer-Basso *et al.* (2002), o que sugere a necessidade de estudo de práticas de manejo que concentrem o florescimento em menor período de tempo, de forma a manter as plantas em contínua emissão de folhas.

A poliploidia e a hibridação interespecífica são modos de especiação de plantas sumamente difundidos, sendo que 30 a 35 % das angiospermas são poliplóides, e destes, a maioria é alopoliplóide, que tem origem da duplicação espontânea ou produção de gametas não reduzidos. Speranza (2002) utilizou como estratégia de melhoramento a hibridação do biótipo “Virasoso”, tetraplóide (IIJJ) com o cultivar “Chirú”, hexaplóide (IIJJXX), e obteve 14 híbridos, os quais além de apresentarem diferentes taxas de cruzamentos para os acessos usados como mãe (biótipo “Virasoro”), produziram tanto híbridos pentaplóides, como o esperado, e híbridos heptaplóides, com meiose totalmente irregular.

A produção de híbridos heptaplóides pode indicar a primeira evidência de não redução dos gametas e partenogênese haplóide em *P. dilatatum*, e por outro lado, a maior cruzabilidade observada na planta produtora de gametas  $2n$  sugere a presença de um mecanismo de *balance* endospermico como barreira a hibridação entre materiais com distintos níveis de ploidia nesta espécie.

Klastornick *et al.* (2002), em busca de acessos diferentes no Uruguai, em populações naturais de *P. dilatatum* na localidade de Villa Serrana (Lavalleja) encontrou um biótipo heptaplóide, antes não descrito para a espécie, que demonstrou ser altamente estéril e com meiose irregular, mas apresentando aposporia.

Gametas não reduzidos (gametas  $2n$ ), gametas com número cromossômico somático ou ainda gametas com número cromossômico esporofítico são gametas que contêm o mesmo número de cromossomos que as células somáticas do indivíduo não sendo por tanto, haplóides (Schiffino-Wittmann & Dall'Agnol, 2001). Gametas não reduzidos são resultados de processo meiótico anormal, não ocorrendo redução do número cromossômico, e esse evento pode ocorrer basicamente de duas formas, na meiose I, pela restituição na primeira divisão (RPD), em que os cromossomos não se dirigem para os pólos na anáfase e em vez de duas células com número haplóide de cromossomos na telófase I, há formação de uma célula com números diplóide; ou na meiose II, que ocorre normalmente, mas resulta em uma díade ao contrário da tétrade esperada. Outra forma de surgimento dos gametas  $2n$  é na meiose II pela restituição na segunda divisão (RSD), em que há falta de citocinese e restituição de núcleos diplóides com formação de díades e tríades. A produção desses gametas não reduzidos pode ser influenciada por fatores ambientais, como a temperatura, estresse hídrico ou nutricional.

A maioria dos trabalhos relata a detecção de gametas não reduzidos na parte masculina, na microsporogênese, devido a facilidade de acesso ao estudo das células mãe do grão de pólen. No melhoramento, os gametas  $2n$  podem permitir a introgressão de genes em espécies diplóides silvestres para o conjunto gênico cultivado, aumentando a variabilidade das espécies de uma maneira geral (Schiffino-Wittmann & Dall'Agnol, 2001).

Segundo Ferrer & Clausen (2001) as coletas de germoplasma são realizadas por várias razões: 1) dispor de materiais para os programas de melhoramento dos usuários; 2) obter

materiais de espécies de interesse atual ou potencial que estão em perigo de extinção ou submetidas a processos erosivos e 3) para obter amostras representativas da diversidade genética que se encontra insuficientemente representada nas coleções *ex situ*. Nas atividades de prospecção estão previstas as coletas sistemáticas, tendo por objetivo o conhecimento das distribuições geográficas e ecológicas dos recursos genéticos vegetais, a diversidade genética e nas espécies com valor potencial, realizar um primeiro parecer sobre seu valor real, como é o caso de *P. dilatatum*.

Em coleções de germoplasma, as cinco regiões do Brasil são representadas. No entanto, a grande maioria dos acessos reunidos provém do Sul e Centro-Oeste, onde o gênero *Paspalum* tem maior importância na composição florística das comunidades vegetais. A grande diferença de preferências ecológicas apresentadas pelas espécies envolvidas fez com que o germoplasma fosse disperso em uma série de coleções vivas e bancos ativos, onde melhor se adaptasse, incluindo também, acessos disponíveis apenas como sementes, conservadas em câmaras frias. Atualmente, a maior parte do germoplasma de espécies do grupo Dilatata, encontra-se reunida em bancos ativos de germoplasma de plantas forrageiras da Epagri, em Lages-SC, com a maioria dos acessos armazenados por sementes (Valls, 1987).

Muitos esforços de simples seleção entre espécies forrageiras nativas, para incorporação das melhores à matriz forrageira comercial, têm levado à descoberta de genótipos promissores que, eventualmente, até chegam ao lançamento, mas nem sempre alcançam adoção entusiástica (Valls, 2005).

Contudo, dentre tantas características importantes para a produção animal apresentada pela espécie, o conhecimento da ecologia e estado evolutivo de alguns biótipos ainda é vago, e é possível que os dados agrônômicos venham sendo encarados como representativos de toda a variabilidade da espécie, o que não é realista. Seguindo esquema para a investigação do

histórico autoecológico da vida das espécies, conforme West (1967), destacando-se seis classes de informação a serem buscadas na pesquisa, que são a taxonomia, a genecologia, a história do desenvolvimento, relações ecológicas, fisiologia e valor econômico. Nesse sentido, os estudos com *P. dilatatum*, além de sua importância econômica, posto que é uma gramínea nativa perene, devem abranger também, devido a sua ampla variabilidade, tanto genética quanto morfológica, estudos mais aprofundados e que objetivem desvendar sua história autoecológica e a consequência da variação dos biótipos quanto à morfologia, níveis de ploidia e sistemas reprodutivos sobre sua constituição genética, preferências ecológicas, fenologia e potencial de produção de forragem.

É necessário que as plantas, com destaque especial para as plantas forrageiras que ocorrem naturalmente no Brasil, sejam caracterizadas em todos os seus aspectos possíveis, tendo em vista a importância da caracterização do germoplasma nativo do Brasil (Tedesco *et al.*, 1999). Com isto, o estabelecimento de linhas de pesquisa em melhoramento genético, que tratem de incorporar resistências a patógenos em materiais com bom potencial, passa a exigir a busca mais intensa por diversidade, o estabelecimento de coleções amplas, as triagens acuradas de resistência a fatores adversos e, enfim, os métodos de melhoramento muito mais sofisticados que a simples seleção entre espécies forrageiras potenciais distintas ou entre acessos variados de uma mesma espécie para difusão imediata (Valls, 2005), o que somente faz sentido quando for baseado em coleções representativas da variabilidade natural existente na espécie.

## **HIPÓTESES**

- Há eventos de hibridação não descritos anteriormente em *Paspalum dilatatum* compreendendo a variabilidade da espécie passível de serem representados no banco de germoplasma;
- Biótipos de *P. dilatatum* apomíticos considerados obrigatórios podem ter originado híbridos através de gametas não reduzidos;
- Existem características morfofisiológicas intermediárias nos possíveis híbridos interespecíficos entre *P. dilatatum* e *P. urvillei*;
- Há uma ampla variabilidade no Biótipo Torres quanto à sua capacidade de hibridação e de outros indivíduos do grupo Dilatata, ainda não conhecidos completamente;

## **OBJETIVOS**

- Caracterizar morfológica e citogeneticamente materiais discrepantes que compõe o BAG de *Paspalum*, para a composição de parâmetros seguros para a diferenciação, permitindo a inclusão adequada em categorias taxonômicas.
- Viabilizar um banco de dados, possibilitando que a manipulação destas plantas contribuía para o desenvolvimento de tecnologias emergentes.
- Para atingir tais objetivos, ensaios foram conduzidos em casa de vegetação através de acessos coletados no Sul do Brasil, onde verificou-se características morfológicas e citogenéticas.

# SEÇÃO 2

## Capítulo I

“Caracterização morfológica e citogenética de acessos de *Paspalum*  
coletados no sul do Brasil”

**RESUMO** - Em coletas realizadas no sul do Brasil, acessos de *Paspalum* foram caracterizados e comparados entre si, a partir da análise de grupos distintos, que sugerem a ocorrência de diferentes hibridações na origem dos materiais com distintos níveis de ploidia. Para pentaplóides supostamente oriundos de hibridações naturais interespecíficas, foram levantadas características que aproximam os acessos V14285, V14289 e V14860 de *Paspalum dilatatum* biótipo “Torres” (V14401) ou de *P. urvillei* (V14392), com valores intermediários para o número de filhotes e a altura do primeiro entrenó visível. Verificou-se também, a presença de grãos de pólen não corados ou dimórficos em todos os pentaplóides deste primeiro grupo. Já nos pentaplóides supostamente oriundos de hibridações intraespecíficas, foram encontrados valores intermediários para as características morfológicas. Quanto aos aspectos citogenéticos, verificou-se desbalanço na divisão celular nos pentaplóides, com dimorfismo e baixa viabilidade de pólen. Um acesso heptaplóide, reportado pela primeira vez do Brasil, apresentou vários arranjos celulares, formando díades, políades e tétrades normais, configurando irregularidades na meiose. No entanto, houve formação de sementes, com germinação superior a 50%.

**ABSTRACT** – In germplasm collections undertaken in Southern Brazil, accessions of *Paspalum* have been characterized and compared, according to distinct groups, that suggest the occurrence of distinct hybridizations in the origin of materials with distinct ploidy levels. Morphological features were surveyed for pentaploids supposed originated from interspecific natural crosses, which locate the accessions V14285, V14289 e V14860 closer to the *Paspalum dilatatum* “Torres” biotype (V14401) or to *P. urvillei* (V14392), with some features presenting intermediate values, such as the number of shoots, and the height of the first visible node. Unstained and dimorphic pollen grains were observed in all pentaploids of this

group. As concerns pentaploid accessions supposedly originated from intraspecific natural hybridizations, intermediate values were found for morphological features. Concerning cytogenetic aspects, unbalanced cell division, dimorphic pollen, and low pollen viability estimates were observed in pentaploids. A heptaploid accession, for the first time reported from Brazil, has shown variable and abnormal meiotic behavior, forming diads, polyads, and normal tetrads. However, normal seed was developed, with germination above 50%.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Universidade de Passo Fundo, na Embrapa Trigo no Rio Grande do Sul e em campo experimental particular, em parceria com a Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia/Cenargen e Universidade Federal de Santa Catarina, e conta com acessos do Banco Ativo de Germoplasma/BAG de *Paspalum*, além de um acesso tetraplóide do biótipo “Virasoro”, coletado localmente, em Passo Fundo-RS, de população com número cromossômico  $2n=2x=40$  contado anteriormente por Hickenbick *et al.*(1992), conforme a listagem na tabela 1:

Tabela 1. Contagem cromossômica para espécie e possíveis híbridos de *Paspalum* e locais de coleta dos acessos

Espécie ou híbrido de <i>Paspalum</i>	Número de coleta	2n*	Local de coleta	Lat S	Long W
<i>P. dilatatum</i> “Comum”	V14349	50	São José do Herval, RS, Brasil	29° 02'	52° 17'
<i>P. dilatatum</i> “Comum”	V14371	50	Passo Fundo, RS, Brasil	28° 13'	52° 22'
<i>P. dilatatum</i> “Comum”	V14201	70	Passo Fundo, RS, Brasil	28° 16'	52° 27'
<i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana”	V14251	60	Uruguaiana, RS, Brasil	29° 52'	57° 13'
<i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” (?)	V14253	50	Uruguaiana, RS, Brasil	29° 52'	57° 13'
<i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” (?)	V14930	50	Alegrete, RS, Brasil	29° 58'	56° 08'
<i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” (?)	V14949	50	Alegrete, RS, Brasil	29° 58'	56° 08'
<i>P. dilatatum</i> “Torres”	V14401	60	Bom Jardim da Serra, SC, Brasil	28° 23'	49° 32'
<i>P. dilatatum</i> “Torres”	V14887	60	Florianópolis, SC, Brasil	27° 41'	48° 32'
<i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> (?)	V14285	50	Xangri-lá, RS, Brasil	29° 46'	50° 02'
<i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> (?)	V14289	50	Torres, RS, Brasil	29° 20'	49° 43'
<i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> (?)	V14860	50	Porto Alegre, RS, Brasil	30° 04'	51° 07'
<i>P. juergensii</i> X <i>P. Urvillei</i> (?)	V14811	30	Erechim, RS, Brasil	27° 38'	52° 14'
<i>P. paniculatum</i> L.	V14347	20	Bom Retiro do Sul, RS, Brasil	29° 34'	51° 50'
<i>P. paniculatum</i> X <i>P. urvillei</i> (?)	V14294	30	Dom Pedro de Alcântara, RS, Brasil	29° 22'	49° 50'
<i>P. pauciciliatum</i> Parodi	V14570	40	Ponta Porã, MS, Brasil	22° 21'	55° 13'
<i>P. regnellii</i> Mez. X <i>P. urvillei</i> (?)	V14348	40	Bom Retiro do Sul, RS, Brasil	29° 34'	51° 50'
<i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> (?)	V14779	40	Santa Cruz do Sul, RS, Brasil	29° 41'	52° 24'
<i>P. dilatatum</i> “Virasoro”	Virasoro	40	Passo Fundo, RS, Brasil	28° 16'	52° 27'
<i>P. urvillei</i> Steudel	V14392	40	Lages, SC, Brasil	27° 49'	50° 14'

\*Números de cromossomos somáticos fornecidos pela Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, DF.

Os acessos foram coletados por José F. M. Valls e colaboradores, originalmente mantidos na Embrapa Cenargen, em Brasília, Distrito Federal, em diversos pontos do Rio Grande do Sul e em Santa Catarina, e submetidos à contagem cromossômica em mitose (Machado *et al*, 2005), pelo protocolo descrito por Pozzobon & Valls (1987).

Os acessos foram enviados em março de 2005 e clonados, mantidos em vasos com 4 kg de solo corrigido, em casa de vegetação, até o final de seu período reprodutivo, em delineamento completamente casualizado, com três repetições, onde alguns indivíduos perdidos, em decorrência de geadas no período de inverno, foram repostos posteriormente, sendo que tomou-se 5 repetições para as medidas de tendência central para dados morfológicos.

No estágio de florescimento e frutificação das plantas, foram feitas avaliações relativas à morfofisiologia, verificando-se as temperaturas médias diárias até o florescimento considerando a temperatura basal de 10 °C desde o estágio vegetativo ao reprodutivo (dados obtidos através do site da Embrapa Trigo: [www.cnpt.embrapa.br](http://www.cnpt.embrapa.br)) para a cidade de Passo Fundo-RS.

Foram medidos também, caracteres morfológicos como a estatura das plantas, número de afilhos, número de afilhos reprodutivos, comprimento e largura da lâmina da folha bandeira, número de entrenós e altura do primeiro entrenó nos afilhos, utilizando-se medidas de tendência central para a composição de tabelas descritivas, um método adotado pela facilidade das comparações.

Em relação à morfologia das inflorescências, foram avaliados aspectos do eixo floral, com observações quanto à exposição das panículas, anteras, estigmas e espiguetas, mediu-se o comprimento do eixo floral a partir do entrenó original da inflorescência e o comprimento a partir do ramo basal, o comprimento do ramo basal, número de ramos por

inflorescência, número de espiguetas no ramo basal, e comprimento médio das espiguetas do ramo basal, conforme esquema apresentado na figura 1.

Para essas avaliações, foram consideradas inflorescências das plantas à medida que estas eram expostas, sendo algumas coletadas, fotocopiadas e herborizadas para avaliações e comparações entre si, através de médias desbalanceadas. O município de Passo Fundo, onde os experimentos foram conduzidos está localizado a 28°15'S e 52°24"W e a 687 m de altitude, na região do Planalto Médio do Rio Grande do Sul, com clima do tipo fundamental úmido (f) e variedade específica subtropical (Cfa), com chuvas bem distribuídas durante o ano e temperatura média do mês mais quente superior a 22 °C (Moreno, 1961).

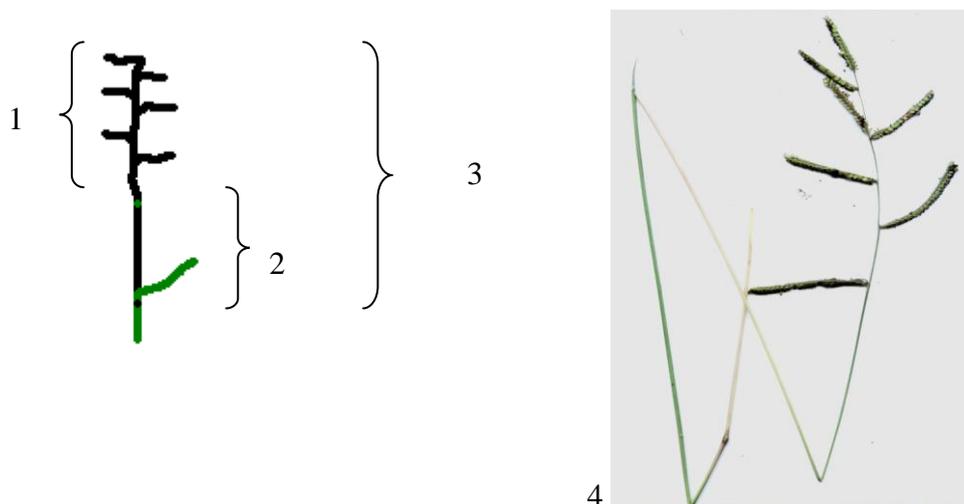


Figura 1. Esquema de avaliação da inflorescência de *Paspalum*: 1) Distância entre o ramo basal e o ramo apical (distância média dos ramos); 2) Comprimento do eixo da folha bandeira ao ramo basal e 3) comprimento total do eixo floral 4) Imagem da Panícula de *Paspalum* sp.

Os ângulos e formatos das panículas também foram observados, descritos e ilustrados por exemplares fotografados e herborizados. Também foram feitas análises comparativas descritivas, em tabelas, utilizando-se medidas de tendência central. Para fins de análises estatísticas, realizou-se Análise de Variância (ANOVA) para 14 variáveis, com 5 repetições, comparados grupos de biótipos e comparando todos os biótipos avaliados nesse trabalho, e as

médias foram comparadas pelo teste Tukey a 5% de significância. Também usou-se uma análise multivariada, em que uma matriz de dados de dissimilaridades pela Distância de Mahalanobis, Análises de Agrupamento pelo Método Hierárquico com Ligação Completa, onde gerou-se um Dendograma para cada comparação entre biótipos e com todos os biótipos, bem como, uma Análise de Caracteres com maior Contribuição (Singh), enfatizando a importância dos caracteres, que segundo Cruz (2006) avalia a importância de cada caracter para a diversidade e facilitando o descarte de caracteres para futuros estudos com os acessos.

Para análises citogenéticas, para verificação das meioses dos acessos, utilizou-se a técnica de esmagamento de anteras com corante Carmim Acético a 1%. As inflorescências foram coletadas no momento em que se encontravam dentro da folha bandeira, antes da antese, sendo fixadas em Álcool Absoluto (Etanol): Ácido Acético (Glacial) nas proporções (3:1) por 24 horas, e mantidas em Álcool (Etanol) 70 % para conservar. Preparou-se as anteras das espiguetas, três por lâmina, e foram observadas em microscópio óptico.

Os materiais associados ao Biótipo “Torres”, que originalmente, haviam sido coletados como representantes do biótipo “Torres” de *P. dilatatum*, são apresentados na Tabela 2, assim como um acesso que representa *P. urvillei*, V14392, com o respectivo número de coleta e número de cromossomos. Em contagens cromossômicas indicaram número diferente daquele observado no biótipo “Torres” (60 cromossomos) sugerindo a presença de pentaplóides com origem distinta do biótipo “Comum”, até então único pentaplóide conhecido na espécie e o mais amplamente difundido. Os dados citológicos, associados à análise morfológica preliminar ainda sugeriram a possibilidade de hibridação natural de plantas do biótipo “Torres” com *P. urvillei*, espécie simpátrica aos acessos em pauta.

Os materiais associados a hibridações intraespecíficas, assim como os associados a hibridações interespecíficas também são relacionados na Tabela 2, com respectivo número de coleta e número de cromossomos.

Tabela 2. Identificação e contagem cromossômica dos acessos de *Paspalum* agrupados para comparação morfológica

<b>Espécie ou híbrido de <i>Paspalum</i> associados ao biótipo “Torres”</b>	<b>Número de coleta</b>	<b>2n</b>
<i>P. dilatatum</i> “Torres”	V14401	60
<i>P. dilatatum</i> “Torres”	V14887	60
<i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?	V14285	50
<i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?	V14289	50
<i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?	V14860	50
<i>P. urvillei</i>	V14392	40
	<b>Número de coleta</b>	<b>2n</b>
<b>Acessos intraespecíficos comparados</b>		
<i>P. dilatatum</i> “Comum”	V14349	50
<i>P. dilatatum</i> “Comum”	V14371	50
<i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana”	V14251	60
<i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” ?	V14253	50
<i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” ?	V14930	50
<i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” ?	V14949	50
<i>P. dilatatum</i> “Virasoro”	Virasoro	40
	<b>Número da coleta</b>	<b>2n</b>
<b>Acessos Interespecíficos comparados</b>		
<i>P. juergensii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	V14811	30
<i>P. paniculatum</i>	V14347	20
<i>P. paniculatum</i> X <i>P. urvillei</i> ?	V14294	30
<i>P. pauciciliatum</i>	V14570	40
<i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	V14348	40
<i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	V14779	40
<i>P. urvillei</i>	V14392	40
<i>P. dilatatum</i> *	V14201	70

\* Acesso descrito separadamente, primeiro heptaplóide descrito para o Brasil.

O cronograma de atividades no ensaio é apresentado na Tabela 3, onde as atividades são descritas, bem como, o período de realização das mesmas.

Tabela 3. Cronograma de Atividades

<b>Atividade</b>	<b>Período</b>
Recepção dos acessos, transplante e condução dos ensaios	Março de 2005 à maio de 2008.
Corte de uniformização das plantas Adubação e escolha de substrato	Anual, após o florescimento das plantas (março/abril) Utilizou-se substrato comercial com a seguinte análise de solo: M.O. (g.kg <sup>-1</sup> )= 35, pH (H <sub>2</sub> O)= 5,5; P. disponível (mg.dm <sup>-3</sup> )= 36; K. disponível (mg.dm <sup>-3</sup> )= 120; Al trocável (cmolc.dm <sup>-3</sup> )= 0; Ca trocável (cmolc.dm <sup>-3</sup> )= 4,5; Mg trocável (cmolc.dm <sup>-3</sup> )= 1,8; CTC (cmolc.dm <sup>-3</sup> ) = 12; Teor de Argila= < 30%.  - Utilizou-se Nitrogênio, 50 kg/ha no terceiro ano, em setembro de 2007, para estimular a floração dos acessos.
<u>Coletas e medições</u> -Estádio Vegetativo -Estádio Reprodutivo	- data: a partir de novembro de 2005. - de acordo com o desenvolvimento dos acessos (sem data precisa)
Análises citogenéticas Análises e comparações (descrições)	A partir de outubro de 2006 A partir de março de 2006

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Caracterização morfológica de novos pentaplóides de Paspalum dilatatum Poir. associados ao biótipo “Torres”: colmos, folhas e inflorescências*

Foram avaliados acessos de *Paspalum dilatatum* (Poaceae - grupo Dilatata), os quais, em análise mitótica, apresentaram comportamento distinto dos demais, com cinquenta cromossomos, e de origem provavelmente diferente do biótipo pentaplóide de *P. dilatatum* conhecido por “Comum”, conforme dados dispostos na tabela 4.

Conforme Machado *et al.* (2005) o biótipo “Comum” era o único pentaplóide descrito para a espécie e de interesse agrônomo e há indícios de ter sido formado por um cruzamento entre *P. dilatatum* subsp. *flavecens* (tetraplóide) com um biótipo Uruguaio hexaplóide, e que tal hibridação natural teria originalmente ocorrido no Uruguai. No entanto, esses novos pentaplóides encontrados no Brasil não parecem ter a mesma origem, por terem sido

encontrados em local distinto da ocorrência dos primeiros, que deram origem ao pentaplóide “Comum” e por apresentarem características morfológicas discrepantes, sugerindo que a hibridação natural que os originou tenha sido com genitores diferentes, no caso o biótipo “Torres”, que é hexaplóide, com *P. urvillei*, tetraplóide sexual.

Tabela 4. Contagem cromossômica de acessos de *Paspalum* e amplitude térmica até o início do florescimento no ano de implantação

Espécie ou híbrido de <i>Paspalum</i>	Número de coleta	2n	Amplitude térmica até o início do florescimento ( $\Sigma^{\circ}\text{C}$ )
<i>P. dilatatum</i> “Torres”	V14401	60	2169,2 a 3395,7
<i>P. dilatatum</i> “Torres”	V14887	60	*
<i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i>	V14285	50	2917,5 a 3857,9
<i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i>	V14289	50	2917,5
<i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i>	V14860	50	3325,8 a 4519,9
<i>P. urvillei</i>	V14392	40	2030,3 a 2169,2

No segundo ano de implantação esses genótipos apresentaram grande sincronia no florescimento \* Acesso não floresceu no primeiro ano, floresceu apenas no 3º ano da condução do ensaio e não foi estimado a soma térmica mas coincidiu com a época de florescimento dos demais acessos estudados.

A distribuição geográfica desses novos acessos pentaplóides e a ocorrência simpátrica do biótipo “Torres” com *P. urvillei* reforçam a hipótese do evento ter ocorrido, pois o acesso V14285 e V14289 foram coletados no Litoral Atlântico e o acesso V14860, na Depressão Central (ambas do Rio Grande do Sul), áreas associadas geográfica e morfológicamente ao biótipo hexaplóide “Torres” e onde ocorre abundantemente *P. urvillei* (Machado *et al.*, 2005)

*P. urvillei* (Figura 2a) possui inflorescências ricas, nós salientes, glabros, bainhas glabras na porção superior e hirsuta na parte inferior, ao passo que *P. dilatatum* possui grande diversidade morfológica, e é conhecido por ser uma gramínea cespitosa com rizomas curtos (Figura 2b) (Araújo, 1971). Com relação aos números de cromossomos, um levantamento realizado por Pagliarini (2005), apontou que pelo menos 110 espécies de *Paspalum*, abrangendo cerca de 560 acessos pertencentes a diferentes grupos taxonômicos já foram citologicamente estudadas. Esse levantamento revelou que há uma predominância do número

básico  $x = 10$ , e dentre os acessos estudados, 20,10 % mostraram-se diplóides, enquanto 63,17 % foram tetraplóides.

Mesmo sendo as repetições compostas por indivíduos clonais, elas parecem ter sofrido influências do ambiente para iniciarem o processo de florescimento. Os acessos que apresentaram maior sincronismo no início do florescimento foram o V14289, variando de 2030 a 2170 GD de soma térmica e o V14392 (*P. urvillei*), com média de 2900 GD, ao passo que o acesso V14887 não apresentou florescimento em nenhuma repetição (Tabela 4). Observou-se a formação extemporânea de uma inflorescência, mal formada, no acesso V14285, que pode ser uma resposta à poda drástica para uniformização dos acessos, no início do estabelecimento, ou ao frio intenso, ocorrido nessa mesma época e capaz de inviabilizar as cariopses.

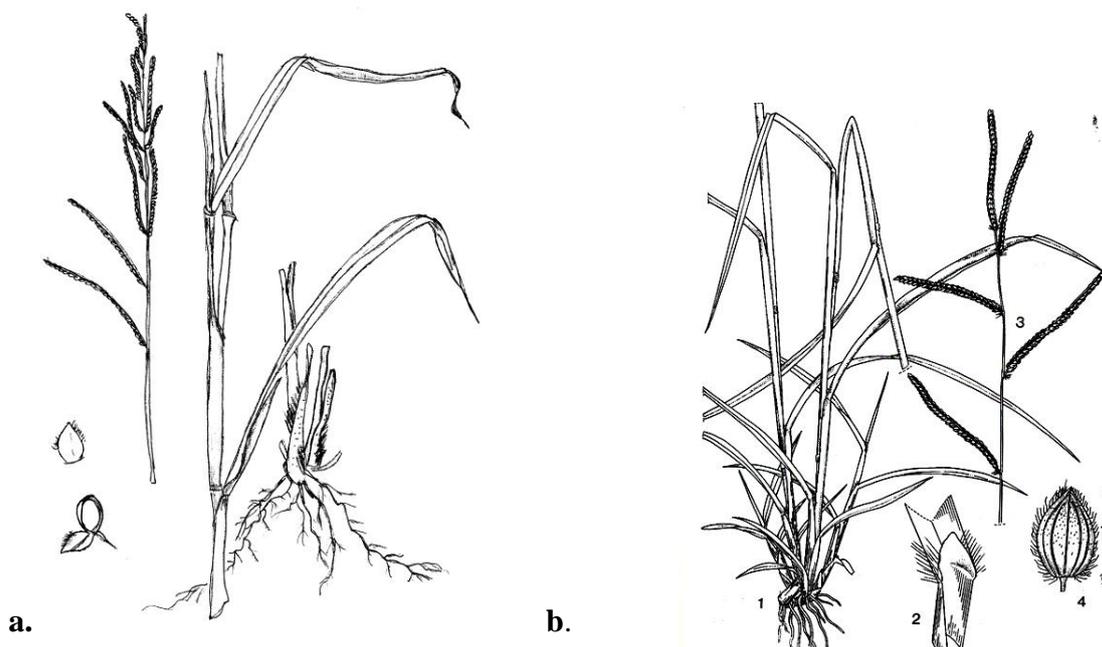


Figura 2. **a.** *Paspalum urvillei* (Conforme IFAS, Center for Aquatic Plants- University of Florida, Gainesville, 1996); **b.** *Paspalum dilatatum*: 1) Hábito de crescimento; 2) Lígula; 3) Inflorescência e 4) espiguetas.

Aguado-Santacruz *et al.* (2004) referem-se ao número cromossômico de gramíneas temperadas, que têm o número básico de sete cromossomos, comum também em cereais como trigo, cevada, aveia e centeio. Porém, em gramíneas tropicais, o genoma haplóide é de 8, 9 ou 10 cromossomos, mas ambos os tipos podem possuir poliploidia, sendo comum em pelo menos 70 % das gramíneas, um número considerado altíssimo, quando comparado com as demais famílias de plantas com flores, onde somente 30 a 35 % apresentam essa característica.

Grande parte das gramíneas apresenta comportamento reprodutivo alogâmico, poucas são autógamas e mais raras são apomíticas. Entretanto, entre estas últimas situa-se uma grande quantidade de linhagens das espécies já estudadas de *Paspalum* (Valls, 2005).

Em análise inicial, os acessos V14285 e V14289 parecem ser plantas mais robustas do que as demais, onde o comprimento e a largura de suas folhas são maiores.

A partir da estação de crescimento, verificou-se que o incremento de biomassa dos acessos foi aumentando de acordo com o aumento da temperatura, condizendo com seu ciclo estival, confirmando a citação de Bennett (1976) de que a temperatura ótima para o afilhamento de *P. dilatatum* é de 27 °C.

Quanto à resistência ao frio, Venuto *et al.* (2003) se referem à baixa resistência ao frio e por tanto, pouca persistência do biótipo “Torres” no Texas (EUA). Em geral, o biótipo “Uruguaio” apresentou melhores condições de produção, quando comparado aos biótipos “Torres”, “Uruguaiana” e “Comum” nas condições de frio do Texas e Louisiana, justificando, por contraste, a maior sensibilidade ao frio apresentada pelos acessos de V14887 e V14285. Já *P. urvillei* apresenta boa tolerância a geadas, aspecto desejável para a região sul do Brasil (Scheffer-Basso *et al.*, 2002).

Quanto a aspectos morfológicos, foi avaliado o número de afilhos totais e de afilhos reprodutivos no início do estágio de florescimento, ficando demonstrado haver maior número de afilhos vegetativos em relação aos reprodutivos (Figura 3). Os supostos genitores apresentam menor número de afilhos totais, evidenciando, no entanto, mais afilhos reprodutivos em média do que os acessos híbridos.

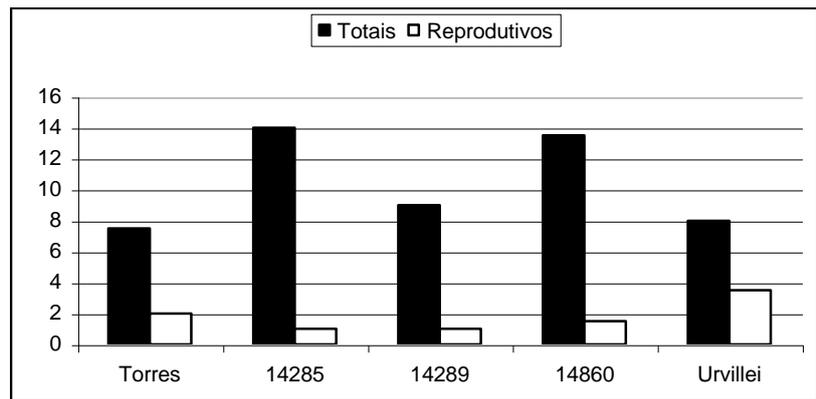


Figura 3. Afilhos totais e afilhos reprodutivos em acessos de *Paspalum* no estágio de florescimento.

Observou-se a presença de afilhos em nós afastados do solo (Figura 4) a partir do primeiro nó, na maioria dos acessos, exceto nas plantas de V14887 (que não atingiu florescimento) e V14860.

Já os acessos V14285 e V14860 apresentaram o aspecto da touceira mais aberta que as plantas dos demais acessos. O acesso V14887 não floresceu na época dos demais acessos, somente no terceiro ano de estabelecimento do ensaio, apresentando maior densidade de afilhos, não podendo ser comparada com os demais na época das avaliações por não obedecer aos mesmos padrões. Em geral o florescimento foi pouco denso, com inflorescência com poucos ramos, com aspecto do biótipo “Torres”.

Os acessos do biótipo “Torres” apresentaram afillhos oriundos de nós afastados do solo, com capacidade de enraizar-se, podendo ser considerado uma forma alternativa de propagação (Figura 4).

Conforme Venuto *et al.* (2003), o biótipo “Torres” é descrito como portador de hábito semi-prostrado, assim como o biótipo “Comum”, sugerindo que a presença de afillhos axilares contribua para essa característica, tendo em vista que colmos com afillhos em nós elevados do solo se tornam mais pesados e mais prostrados. Os autores referem-se também ao hábito mais ereto do biótipo “Uruguaio”, o qual produziu mais forragem e foi mais resistente ao frio do que os biótipos “Comum”, “Uruguaiana” e “Torres”, em ensaios realizados no Texas.



Figura 4. Estolões em V14860 (*P. dilatatum* “Torres” X *P. urvillei* ?) e V14401 (*P. dilatatum* “Torres”)

Já para *P. urvillei*, há descrição de estatura variando de 1 a 2,5 m (Scheffer-Basso *et al.*, 2002), assim como observado na média das plantas desse experimento. A estatura e a altura do 1º nó visível de *P. urvillei* foi significativamente maior que os demais acessos pelo Teste Tukey a 5%, ao passo que para o número médio de nós, não houve diferenças significativas (Tabela 5).

Garcia *et al.* (2000/2001) analisando populações naturais do biótipo “Comum” na Argentina, verificaram de 3 a 3,15 afillhos reprodutivos nós nos e estatura variando de 93,86 cm a 100,01 cm, porém não se referem à altura do primeiro nó. Encontrou-se pilosidade nas

lâminas foliares logo no início da emissão dos afilhos, onde apenas o acesso representante de *P. urvillei* foi glabro, agrupando os acessos do biótipo “Torres” (V14401 e 14887) com seus possíveis derivados V14285, V14289 e V14860.

Tabela 5. Altura do primeiro nó visível, número de nós nos afilhos reprodutivos e estatura dos acessos de *Paspalum*

Acessos	Altura do 1º nó (cm)*	Número médio de nós**	Estatura (m)***
V14392 ( <i>P. urvillei</i> )	20,20 a	4,50 ns	1,25 a
V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> )	14,00 b	4,00	0,89 c
V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> )	11,33 c	4,00	0,76 d
V14285 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> )	10,00 c	4,00	1,07 b
V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”)	10,00 c	4,50	1,04 b

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%. \*C.V. 7,41% \*\* C.V. 17,33% \*\*\* C.V. 5,08%

A posição dos pêlos na lâmina foliar e a intensidade da pilosidade encontrada nos acessos são apresentadas na Tabela 6, onde foram seccionados em macropêlos (pêlos geralmente longos e esparsos) e micropêlos (pêlos mais curtos e mais densos).

Observou-se que os acessos V14887, V14401, V14285, V14289 e V14860 apresentaram a borda da lâmina de coloração arroxeada, diferente de *P. urvillei* (V14392) e antocianinas (pigmentos avermelhados) nas lâminas foliares do acesso V14285, principalmente nas folhas próximas à base dos colmos, porém presente também em folhas novas.

Tabela 6. Disposição de macropêlos e micropêlos na lâmina foliar dos acessos

Pilosidade	Face da lâmina foliar	Acessos
Macropêlos	Ambas faces	14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?); 14285 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?)
	Abaxial	14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”)
Micropêlos	Abaxial	14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?); 14887 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”)

Em relação à bainha, considerou-se, separadamente, micropêlos (pilosidade curta e mais abundante, densa, comprimento inferior a 2 mm) e macropêlos (pilosidade esparsa e em geral pêlos mais longos, maiores que 2 mm) para medir a intensidade da pilosidade, apresentados na tabela 7.

O caráter observado referente à pilosidade das bainhas nos acessos coletados originalmente como representantes do biótipo “Torres” se assemelha com o observado em *P. urvillei* (V14392), inferindo na possibilidade da hibridação ter ocorrido.

Tabela 7. Pilosidade das Bainhas de acessos de *Paspalum*

Pilosidade	Acessos
Micropêlos	V14285 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?), V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?), V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?) V14392 ( <i>P. urvillei</i> )
Macropêlos	V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”) V14887 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”)

A pilosidade, próximo à lígula, apresenta grande variabilidade, conforme citado por Oliveira (2004), porém não apresenta grande importância taxonômica para a espécie.

Ainda em relação às folhas, percebe-se aproximação quanto à largura da lâmina foliar nos acessos V1489, V14285 e V14401, apresentando maiores larguras, ao passo que V14860 se aproxima de *P. urvillei* (V14392), sendo mais estreitas e com comprimento inferior. Verificou-se também a relação entre bainha e lâmina da folha bandeira, em que o acesso V14860 apresentou bainha maior em relação ao comprimento da lâmina da folha bandeira (Tabela 8).

Características relativas à morfologia dos acessos em estágio vegetativo e reprodutivo podem ser influenciadas pelo ambiente, e variabilidade natural entre os acessos pode ser considerada comum, no entanto as variações foram observadas a nível de ploidia nesses acessos (Machado *et al.*, 2005). Para pentaplóides de *P. dilatatum* do tipo “Comum”, Garcia

et al.(2000/2001) verificaram largura da folha bandeira variando de 0,68 cm a 0,72 cm e comprimento de 13,67 cm a 15,18 cm, indicando serem mais estreitas que as observadas nesse trabalho, porém com comprimento semelhante.

A largura da lâmina foliar foi significativamente menor em *P.urvillei* e no acesso V14860, bem como, o comprimento da lâmina foliar, significativamente menor no acesso “Torres” (V14401). Quanto à relação bainha/folha bandeira, em V14860, foi significativamente maior que nos demais acessos comparados, ao passo que V14285 e V14289 são semelhantes quando comparados pelo teste Tukey a 5%, diferentes significativamente do biótipo “Torres” (Tabela 8).

Tabela 8. Largura e comprimento médio da lâmina da folha bandeira e relação comprimento da bainha e da lâmina da folha bandeira de acessos de *Paspalum*

Acessos	Largura da lâmina foliar (cm)*	Comprimento da lâmina foliar (cm)**	Relação bainha/lâmina da folha bandeira***
V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?)	1,5 a	27 a	1,77 b
V14285 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?)	1,3 ab	21 b	1,69 bc
V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”)	1,15 b	9,0 d	1,00 d
V14392 ( <i>P. urvillei</i> )	0,90 c	16 c	1,57 c
V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?)	0,83 c	15,5 c	2,27 a

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%. \*C.V. 11,43. % \*\* C.V. 7,02 % \*\*\* C.V. 6,34%

Skinner & Nelson (1995) referem-se que a folha mais curta em *P. urvillei* é a bandeira. Os acessos V14887, V14285 e V14860 desprendem a bainha na porção basal das folhas, sendo que esses dois últimos ainda apresentam pigmentos vermelhos marcantes (antocianinas) e bastante pilosidade, o que parece ser uma característica comum que aproxima esses acessos coletados no Rio Grande do Sul.

Grande parte das diferenças entre os biótipos de *Paspalum* é observada nas inflorescências (Oliveira, 2004). Na Tabela 9 são apresentadas algumas características em relação às inflorescências dos acessos de *Paspalum* estudados, onde o acesso V14392 de *P.*

*urvillei* apresentou inflorescência diferente dos demais, caracterizada por ser ereta, tipo lança, ou seja, mais lineares.

Já os demais acessos apresentaram inflorescências inclinadas e em formato piramidal, característico do biótipo “Torres”. Ramos da panícula também foram observados, no que, dos acessos híbridos, apenas o V14285 não mostrou inserção oposta na ráquis, assim como *P. urvillei*, o que pode também ser um indício dessa hibridação.

Tabela 9. Características referentes às inflorescências de *Paspalum*

Características	Acessos
Inflorescência Ereta (Tipo Lança)	V14392 ( <i>P. urvillei</i> )
Inflorescência Inclinada (45 °) - piramidal	V14285 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?); V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?); V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?); V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”);
Inserção oposta dos ramos	V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”); V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?); V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ).

A coloração das anteras foi roxo-amarelada nos acessos exceto em *P. urvillei* (V14392), ao passo que para o acesso V14289, além dessa característica de anteras roxo-amareladas, mas também anteras amarelas vazias, sésseis, aparentemente sem pólen.

Pozzobon *et al.* (2000) refere-se a um acesso coletado em Bagé-RS, o qual apresentava anteras amarelas e um nível de ploidia que não coincidia com a referência morfológica relacionada à cor de anteras, mostrando 50 cromossomos.

Quanto à exposição das inflorescências, alguns acessos foram diferentes quanto ao momento de início da antese. Alguns acessos expõem as anteras e estigmas antes mesmo da inflorescência estar totalmente exposta da folha bandeira, e outros, apenas no momento em que a panícula já se encontrava exposta totalmente (Tabela 10).

O biótipo “Torres” é descrito por Burson *et al.* (1991) como apresentando inflorescências piramidais, ramos curtos e numerosos, assim como o observado nesse ensaio,

e nos supostos derivados desse biótipo: V14285, V14289 e V14860. Reconhecer essas diferenças é um ponto importante para diferenciar os acessos, já que grande parte das diferenças encontram-se nesse aspecto (Oliveira, 2004). O esquema da inserção oposta dos ramos na figura 5.



Figura 5. Inflorescências a) aspecto piramidal do biótipo “Torres” e b) inserção oposta dos ramos (foto do acesso V14289 *P. dilatatum* “Torres” X *P. urvillei* ?).

Tabela 10. Antese das flores quanto à exposição da inflorescência em *Paspalum*

<b>Eventos</b>	<b>Acessos</b>
Expõe estigmas e anteras após expor a panícula	V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”); V14285 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?);
Expõe estigmas e anteras antes de expor totalmente a panícula	V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?); V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?); V14392 ( <i>P. urvillei</i> );

As anteras, que antes era um forte marcador morfológico relacionado à sexualidade das plantas de *P. dilatatum* e também ao nível de ploidia, passaram a ser mais um ponto de

interrogação, pois não mais reflete o que se esperava, e sim, norteia algumas inferências evolutivas ou adaptativas da espécie relacionada com outras ocorrências simpátricas a essa.

O comprimento do eixo da inflorescência foi maior em *P. urvillei* (V14392), assim como o comprimento do eixo de onde parte o primeiro ramo (mais basal) até o último ramo (apical), caracterizando a espécie pelo longo eixo floral, e a diversidade apresentada pelos acessos, pode ser decorrência das segregações decorrentes da hibridação (Tabelas 11 e 12)

Para o número de ramos por panícula, Garcia *et. al.* (2000/2001) verificaram menos que 5 para o biótipo pentaplóide “Comum”, bem inferior ao apresentado pelos acessos estudados (Tabela 11). Os autores também se referem ao comprimento do ramo basal, variando de 7,18 cm a 8 cm, e ao número de espiguetas no ramo basal, denominados de sementes pelos autores, que variou de 85 a 91.

Tabela 11. Descrição do eixo da inflorescência de acessos de *Paspalum*

Acessos	Comprimento do eixo da inflorescência até a inserção do ramo basal (cm*)	Comprimento do eixo da inserção do ramo basal até a do ramo apical (cm)**	Distância média entre ramos ***	Comprimento total do eixo da inflorescência (cm) ****
V14392 ( <i>P. urvillei</i> );	50,57 a	19,57 a	1,83 a	70,14 a
V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”);	43,28 b	9,63 c	0,60 d	52,91 b
V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?);	40,96 bc	13,00 b	1,34 b	53,96 b
V14285( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?);	36,00 c	12,27 b	1,15 b	38,27 c
V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> - ?);	22,33 d	13,63 b	0,93 c	35,96 c

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 9,34. % \*\* C.V. 9,79 % \*\*\* C.V. 7,75% \*\*\*\* C.V. 6,44%

Garcia *et. al.* (2000/2001) verificaram o comprimento da panícula no biótipo “Comum” de 14,41 cm a 15,46 cm, maiores do que as apresentadas pelos acessos estudados. O maior comprimento da inflorescência foi de *P. urvillei*, diferente significativamente dos demais acessos, enquanto a comprimento da panícula (inserção do ramo basal até o ramo

apical) foi semelhante entre os possíveis híbridos, e significativamente diferentes do biótipo “Torres” e de *P. urvillei* (Tabela 11). O menor comprimento do eixo da inflorescência até a inserção do ramo basal observado foi do acesso V14289. O acesso V14401, além de apresentar formato piramidal e inserção oposta dos ramos, apresentou menor distância entre os ramos, caracterizando uma inflorescência mais adensada, significativamente diferente dos demais acessos, ao passo que V14860 e V14285 foram semelhantes pelo teste Tukey a 5% (Tabela 11 e Figura 6).

Em relação aos valores encontrados por Machado *et al.* (2005) para os acessos pentaplóides (V14285, V14289 e V14860), *P. urvillei* e biótipo “Torres”, houve concordância para o biótipo “Torres”, com panícula de 9,49 cm, contra 9,63 cm encontrados nesse ensaio (Tabela 12), enquanto os demais acessos avaliados no presente trabalho apresentaram valores superiores, porém, cabe destacar que em locais e anos distintos, visto que são os mesmos acessos.

Já para o número de ramos por inflorescências, os valores observados por Machado *et al.* (2005), condizem com os apresentados por *P. urvillei* (13 x 14 ramos /inflorescência) e pelo acesso V14285 (14 x 14,67 ramos /inflorescência). Essa variação pode ser atribuída a condições ambientais, entretanto, os valores encontrados neste ensaio concordam que os acessos V14285, V14289 e V14860 apresentam comprimento do eixo maior e maior número de ramos por inflorescência que o biótipo “Torres” (Tabela 11).

O acesso V14401 apresentou menor distância entre os ramos dentro da panícula e também o maior número de ramos por inflorescência (Tabela 11). O número médio de espiguetas no ramo basal foi superior em V14401, enquanto o menor número foi em V14860, porém, com espiguetas de maior tamanho que dos demais acessos (4,4 mm). O número de

espiguetas nos prováveis híbridos, coletados no Litoral do RS, foi intermediário em relação ao biótipo “Torres” e *P. urvillei*, exceto em V14860 (Tabela 12), sugerindo a hibridação.

O biótipo “Torres” foi significativamente diferente do acesso V14860 quanto ao número de ramos por inflorescência, apresentando em média, 5 ramos a mais, no entanto, não diferiu quanto ao comprimento do ramo basal. O número de espiguetas no ramo basal foi bem superior em *P. urvillei*, significativamente diferente dos demais. O comprimento médio das espiguetas foi significativamente superior no acesso V14860, onde há menor número de ramos na inflorescência, o comprimento do ramo basal não difere dos outros acessos derivados, mas, há menor número de espiguetas, porém, essas de maior tamanho (Tabela 12).

Tabela 12. Características dos ramos e espiguetas de inflorescências de acessos de *Paspalum*

Acesso	Número de ramos /inflorescência *	Comprimento do ramo basal (cm)**	Número de espiguetas no ramo basal***	Comprimento médio das espiguetas de ramos basais (mm)****-
V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”);	15,33 a	6,77 b	85 c	2,8 c
V14285 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> )	14,67 a	6,34 b	76 c	3,20 b
V14392 ( <i>P. urvillei</i> );	14,00 ab	8,11 a	200 a	2,05 d
V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> )	12,67 b	6,50 b	114 b	2,94 bc
V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> )	10,33 c	6,80 b	43 d	4,40 a

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 6,18. % \*\* C.V. 5,11 % \*\*\* C.V. 10,31% \*\*\*\* C.V. 6,04%

O biótipo “Torres” apresenta inflorescência mais densa com média de 14 ramos, enquanto para o biótipo “Comum” apresenta inflorescência mais laxa, assim como Garcia *et al.* (2000/2001) verificaram.

Aspectos das inflorescências dos acessos estudados são ilustrados na figura 6, mostrando características do eixo floral e figura 7, mostrando as panículas. Conforme Araújo (1971), *P. urvillei* possui de 15 a 25 ramos por panícula e o comprimento das espiguetas, em média é de 2,2 a 2,7 mm, superiores aos dados apresentados pelo material avaliado (V14392).

Burson (1979) classifica as inflorescências de *P. urvillei* como ricas, ramos numerosos, de comprimento decrescente para o ápice (Figura 7).

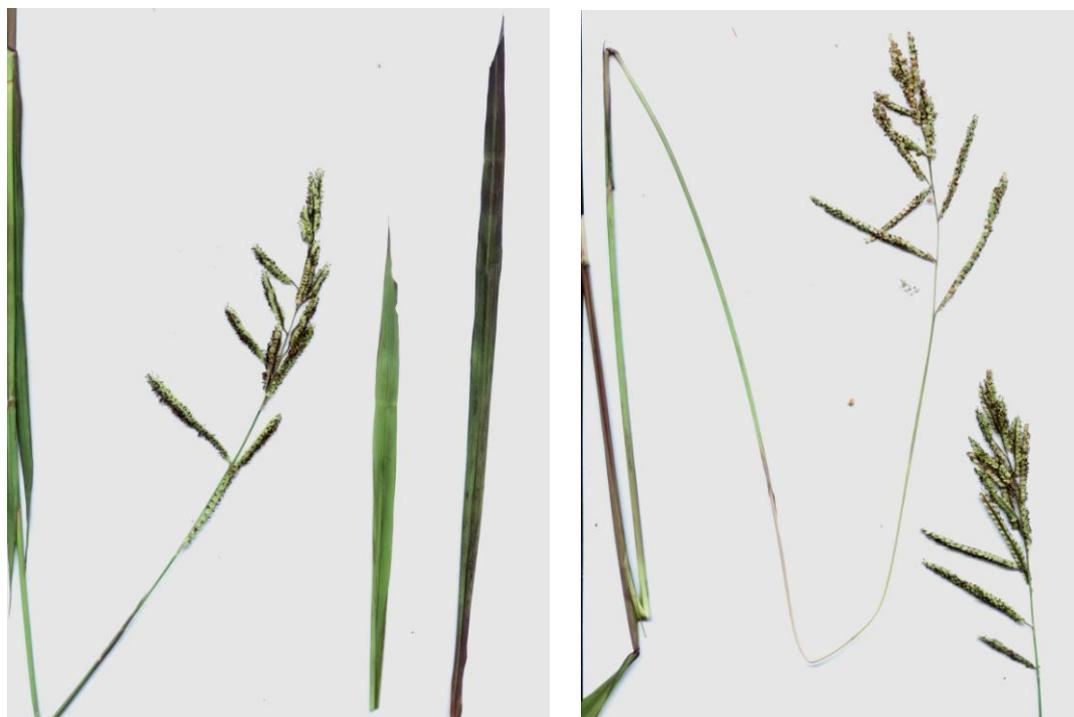


Figura 6. Aspecto do eixo floral do acesso V14289 (*P. dilatatum* “Torres” X *P. urvillei*?) e do biótipo “Torres” (V14401)



Figura 7. Aspecto da panícula dos acessos pentaplóides (*P. dilatatum* “Torres” X *P. urvillei* ?) V14860, V14285 e V14289 e *P. urvillei* (V14392)

No estágio de maturação dos frutos, observou-se que alguns acessos se apresentavam diferentes dos outros quanto à facilidade de desprendimento da espiguetas de seu pedicelo (Tabela 13).

Tabela 13. Facilidade de desprendimento das espiguetas de *Paspalum*

<b>Modo de desprendimento</b>	<b>Acessos</b>
Desprende as espiguetas facilmente	V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?) <sup>1</sup> V14860 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?)
Desprende parcialmente as espiguetas**	V14392 ( <i>P. urvillei</i> ) V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”) <sup>2</sup> V14289 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?) <sup>1</sup>
Retenção das espiguetas na ráquis *	V14401 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”) <sup>2*</sup> V14285 ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?)

\* há necessidade de interferência mecânica mais intensa para separar as espiguetas em algumas inflorescências

\*\* espiguetas permanecem aderidas na inflorescência mesmo após maturação

<sup>1</sup> apresentaram tanto inflorescências com fácil desprendimento das espiguetas quanto intermediárias ou persistentes na inflorescência <sup>2</sup> Cariopses podem ficar parcialmente ou totalmente retidas na ráquis

Avaliou-se a germinação dos acessos V14285 e V14289, sendo que o primeiro além de esparsas cariopses bem formadas, não apresentou germinação no período de 10 dias, ao passo que o segundo que é considerado originado de processo semelhante ao primeiro, obteve quase 50 % de germinação de suas sementes nesse período.

Para *Paspalum*, é comum a formação de sementes inferior a 50 % principalmente em apomíticos (Quarín *et al.*, 1997), semelhante ao que foi observado nesse experimento. No entanto, o vigor das sementes formadas tem-se mostrado alto, o que pode ser uma evidência de que os genótipos pentaplóides coletados podem ser estáveis na natureza, formando sementes e persistindo.

Pelo método de agrupamento através de ligação completa pelo vizinho mais distante, avaliados pela distância de Mahalanobis, onde 14 variáveis quantitativas foram comparadas para os acessos, verificou-se que os acessos de *P. urvillei* e o biótipo “Torres” estão mais próximos, ao passo que o acesso V14285 e V14289 são mais parecidos em relação ao acesso V14860, sendo, esse último, posicionado mais distante dos demais, ou seja, se agrupou com

maior distância com os possíveis híbridos de *P. urvillei* com o biótipo “Torres”, o que sugere um estágio de hibridação distinta dos demais (Figura 8).

O dendrograma é reforçado na Tabela 14, que apresenta a matriz de distância, baseada da distância de Mahalanobis, onde indica a proximidade dos acessos. A máxima distância ocorre entre o acesso V14680 e V14392, ou seja, entre um dos possíveis híbridos e *P. urvillei*, ao passo que os mais próximos foram os acessos V14285 e V14289, que pela semelhança morfológica, sugere origem semelhante.

O caracter que apresentou maior contribuição relativa para a divergência dos acessos foi o comprimento do ramo basal, com 15% de contribuição, seguido pela estatura (14,8%), comprimento médio da folha bandeira (14,6%) e pelo número de ramos por panícula, com 10,64% de contribuição.

Tabela 14. Matriz de distância do vizinho mais próximo e mais distante (Mah)

	<b>V14401</b>	<b>V14860</b>	<b>V14285</b>	<b>V14289</b>	<b>V14392</b>
<b>V14401</b> ( <i>P. dilatatum</i> “Torres”)		1808,93*	452,00**	1221,0	775,19
<b>V14860</b> ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?)	1808,93		1497,75**	1674,43	2218,0*
<b>V14285</b> ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?)	452,0	1497,75*		333,106**	1158,06
<b>V14289</b> ( <i>P. dilatatum</i> “Torres” X <i>P. urvillei</i> ?)	1221,67	1674,43**	333,10*		1158,06
<b>V14392</b> ( <i>P. urvillei</i> )	775,19*	2218,00**	1158,06	1947,72	

\* maior distância \*\* menor distância

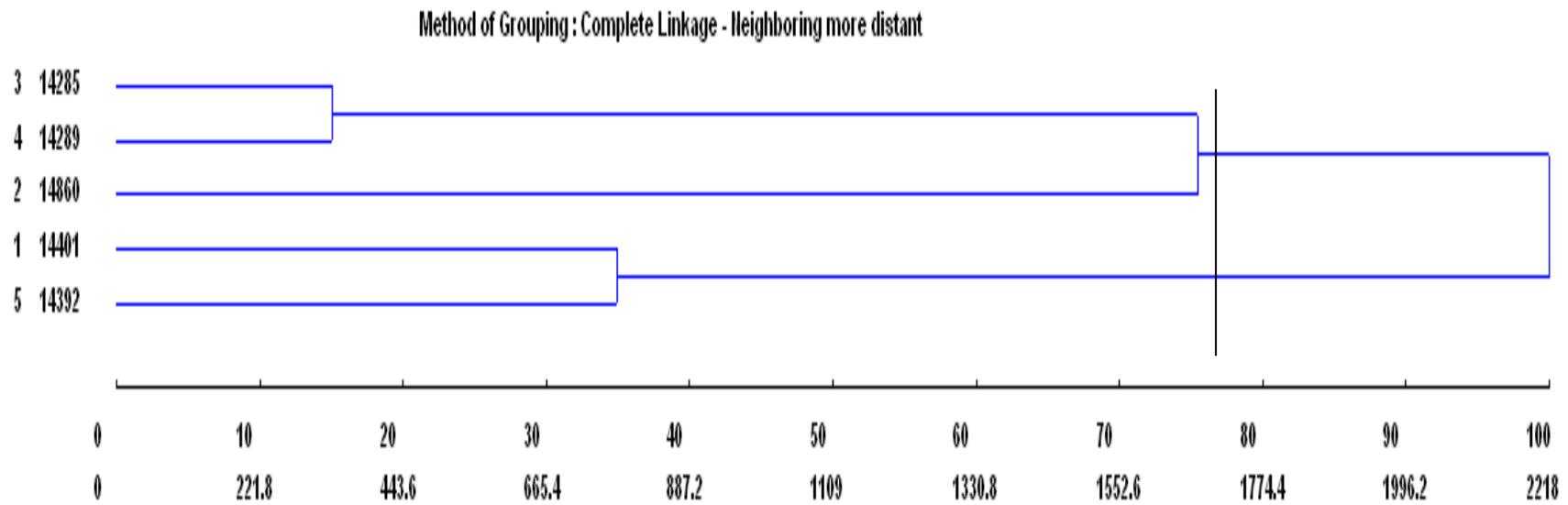


Figura 8. Dendrograma de agrupamento através do Método de Ligação Completa - pelo vizinho mais distante dos acessos de *P. urvillei* e de *P. dilatatum* derivados do biótipo “Torres”

*Caracterização morfológica de novos pentaplóides de Paspalum dilatatum Poir. associados ao biótipo “Torres”: citogenética*

Conforme Pagliarini (2005), os primeiros estudos citogenéticos no gênero *Paspalum* foram realizados na década de 20 por Marshall, Avdulov e Church, em 1920, 1928 e 1929 respectivamente, incluindo determinações do número de cromossomos e avaliações do comportamento meiótico. Os estudos citológicos sobre o gênero foram intensificados nas décadas de 60 e 70 por Byron Burson e colaboradores, em paralelo aos de Fernandes *et al.* (1974), no Brasil, e de Camilo Quarín, na Argentina. Nas últimas décadas, pesquisadores brasileiros e argentinos concentram seus esforços na análise de inúmeras espécies nativas, que em sua maioria, direcionam estudos para as contagens cromossômicas, ao passo que relatos sobre o comportamento meiótico são mais escassos.

Segundo Pagliarini (2005), a grande maioria das espécies de *Paspalum* tem revelado números cromossômicos múltiplos de 10, excepcionalmente incluem  $x=6$  e  $x=9$ . Outros números não múltiplos de 10 têm sido descritos em algumas espécies, sugerindo hibridações interespecíficas ou rearranjos cromossômicos (Peñaloza *et al.*, 2008). Vaio *et al.* (2005) referem-se aos níveis de ploidia observados que variam de diplóides a octoplóides, predominando as espécies tetraplóides.

As observações obtidas dos materiais indicaram formação do grão de pólen morfológicamente semelhantes aos de gramíneas, no entanto, funcionalmente, alguns acessos demonstraram maior viabilidade, inferida através da reação positiva ao Carmin Acético. Isso pode se dever a meiose que ocorre na microsporogênese, assináptica, com cromossomos retardatários, comprometendo a fertilização nos acessos atípicos de pentaplóides. No gênero *Paspalum*, há uma estreita correlação entre o nível de ploidia e modo de reprodução, onde a

diploidia está correlacionada com reprodução sexuada e alogamia por autoincompatibilidade, e a poliploidia está correlacionada com apomixia (Pagliarini, 2005).

Quarín *et al.* (1997) referem-se ao momento ideal para coleta das inflorescências antes da antese dos acessos de *Paspalum*, que seria entre 7 e 9 da manhã e onde as inflorescências se encontram  $2/3$  encobertas pela folha bandeira. O que se percebeu nesse trabalho é que nessa fase (anterior à antese), no ambiente de Passo Fundo e nos materiais em análise, as meioses já ocorreram, já sendo encontrados, na grande maioria, grãos de pólen já formados e com deposição de amido em seu interior. Antecipando essa coleta para o momento em que a inflorescência se encontra ainda envolvida pela folha bandeira, encontra-se já o grão de pólen em estágio avançado de formação, sendo necessário rastrear dentro das porções do ramo em que as espiguetas apresentam distintas fases de maturação.

A maioria das plantas superiores reproduz-se sexualmente através de um gameta feminino (oosfera) com um gameta masculino (núcleo espermático). Nesse processo a meiose é responsável pela redução no número cromossômico dos gametas, seguido da fertilização, propiciam a recombinação gênica e a conseqüente liberação da variabilidade genética. No entanto, em muitas espécies de plantas, a meiose e a fertilização não estão envolvidas na formação da semente, e esta é formada por um processo assexual denominado apomixia, e a progênie dessas plantas é, então, constituída por réplicas exatas da planta mãe, propiciando uma oportunidade única de clonagem de plantas através da semente, sendo uma boa ferramenta para o melhoramento de plantas.

Gauer e Cavalli-Mollina (2000) referem-se ao comportamento meiótico, que pode ser um indicador de apomixia. Um número cromossômico constante ou uma boa produção de sementes em plantas com grande irregularidade meiótica fornece fortes evidências de apomixia, ou seja, a fertilidade em plantas com meiose irregular sugere apomixia, assim como

o observado nesse trabalho. O modelo esperado pelos pentaplóides é apomítico, e isso pode ser estimado pela condução da meiose nesses acessos, que são irregulares, e apresentam sementes, que germinaram e originaram plântula.

Além das anormalidades típicas da poliploidia outras anormalidades meióticas têm sido encontradas em vários acessos e comprometeram sobremaneira a fertilidade do pólen. Pagliarini (2005) se refere à detecção de uma mutação nunca antes descrita para qualquer espécie vegetal, que ocorreu em *P. regnellii*, onde a meiose apresentou curso normal até a Metáfase I, quando 20 bivalentes organizaram-se corretamente na placa metafásica, visivelmente ligadas às fibras do fuso, e a partir desta fase, as fibras entraram precocemente em degeneração, de modo que a segregação de homólogos não ocorreu. Os bivalentes voltaram a ocupar o citoplasma, formando um número variado de micronúcleos, de acordo com a proximidade entre eles. Assim, pela falta de fibras do fuso a meiose II não ocorreu e o produto meiótico caracterizou-se pela formação de políades. Em outra espécie, a autora observou também aderência cromossômica, com pontes permanentes e de diferentes espessuras verificadas nas telófases, onde núcleos picnóticos, seguidos por degeneração cromatínica levaram à esterilidade do pólen.

Harlan & Wet (1975) mencionaram que a autoploidia é um evento freqüente que origina a poliploidia, mas que nem sempre oferece habilidades competitivas à planta para alcançar estabilidade do genótipo. O sucesso da poliploidia pode estar associado à capacidade de indivíduos em estabelecer cruzamentos com parentes próximos, como raças, ecotipos e citotipos com uma espécie biológica. Assim, poliplóides espontâneos surgem frequentemente, mas dependem do vigor e da habilidade competitiva para permanecerem na natureza.

Pagliarini (2005) refere-se ao sucesso da hibridação no gênero *Paspalum*, que não depende apenas de acessos diplóides sexuais, mas também de estabilidade meiótica que

potenciais acessos genitores masculinos tetraplóides apomíticos apresentam. Podem ocorrer outros mecanismos, mas a formação de gametas não reduzidos é a mais importante para a poliploidia, sendo o modelo de evento reprodutivo  $2n+n$  (Harlan & Wet, 1975).

O acesso V14285 formou um círculo de cromossomos na anáfase, um menor que o outro, o que parece ilustrar divisão desbalanceada. Nas tétrades, houve duas células vazias e duas cheias ou viáveis, configurando irregularidades.

A determinação da viabilidade do pólen pode ser feita por métodos diretos, tais como a indução da germinação do pólen *in vivo* ou *in vitro* e métodos indiretos, baseados nos parâmetros citológicos como o da coloração (Techio *et al.*, 2006), o que também foi utilizado nesse trabalho. Os corantes mais utilizados, conforme os mesmos autores, são Carmim Acético, Azul de Anilina, Azul de Algodão e Iodeto de Potássio, além de Cloreto de Trifeniltetrazólio e Tetrazólio Vermelho, os quais promovem diferenças na coloração dos grãos de pólen, fornecendo resultados de forma rápida e com baixo custo.

Usando-se Carmim Acético a 1 % em anteras recém coletadas, observou-se que os acessos V14860 e V14289 apresentaram viabilidade média de grãos de pólen de 90 %.

Já no acesso V14285, os grãos de pólen na porção 1 (sentido ápice base do ramo) apresentaram 88 % de viabilidade, na porção 2, 100 % dos grãos de pólen investigados eram viáveis, e porção 3 e 4 células jovens, antes de formar os grãos de pólen, mas coradas, o que significa que dentro do mesmo ramo, há estádios diferentes de formação do pólen, como o descrito para a espécie.

A perda de viabilidade do pólen em diversas espécies tem sido relacionadas com a perda d'água e a manutenção da desidratação em condições naturais e de laboratório. A *Festuca arundinacea*, conforme Techio *et al.*, 2006 tem os grãos de pólen desidratados parcialmente entre 48 e 72 horas, podendo estar totalmente desidratados quando as anteras se

tornam deiscentes. E esse efeito também é esperado em *Paspalum*, principalmente quando o processo de polinização ocorre em períodos mais quentes, que é o caso dessas espécies. No entanto espécies como o milheto (*Pennisetum americanum* Leeke) pode manter a viabilidade por até 177 dias em condições de 0 a 50% de umidade e temperaturas variando de 16 a 35 °C (Techio *et al.*, 2006).

A maturação das células de grãos de pólen ocorre de maneira distinta em porções do ramo, e no acesso V14285, as fases de transição não são claras, apresentando células em diferentes estádios nas mesmas porções, apresentando micrósporos e grãos de pólen concomitantemente, e formação de tríade.

O micrósporo jovem, após sua liberação da tétrade, possui um grande núcleo central, citoplasma rico em ribossomos e com numerosos pequenos vacúolos. Ao longo do tempo ocorre a coalescência desses vacúolos, resultando na formação de um único vacúolo grande e central, e conseqüentemente, no deslocamento do núcleo para junto da parede do micrósporo (Kalchuk-Santos & Bodanese-Zanettini, 2002). Em todos os acessos pentaplóides estudados, foi verificada a presença de grãos de pólen não corados e/ou dimórficos (Figura 9).

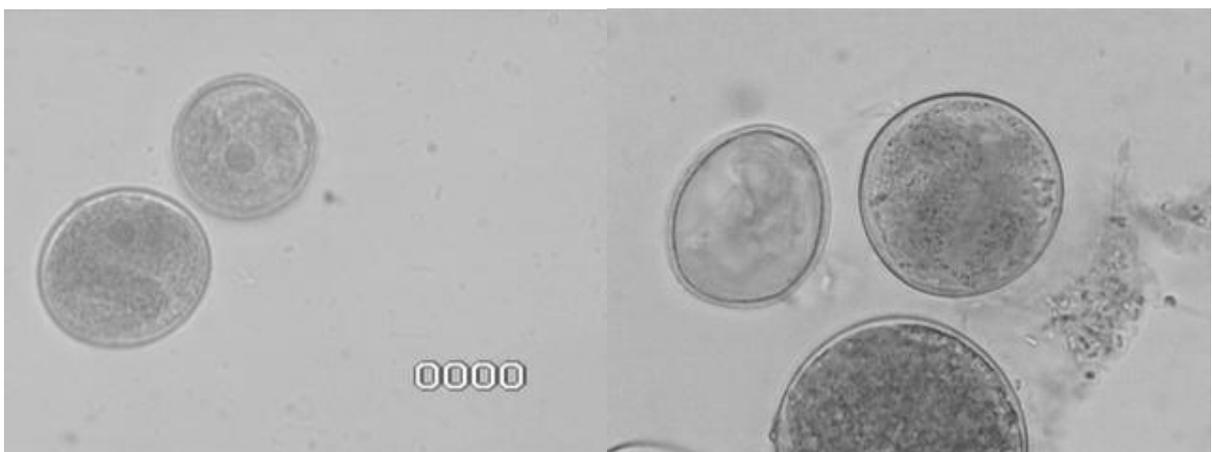


Figura 9. Micrósporos de V14860 (*P. dilatatum* “Torres” X *P. urvillei* ?) com dimorfismo.

Dimorfismo, ou seja, células do grão de pólen de tamanhos diferentes podem ser associadas a falhas na meiose, sendo que aquelas de tamanho aumentado podem ser associadas a gametas não reduzidos (Schifino-Wittmann & Dall'Agnol, 2001). Quarín *et al.* (1996), consideram que gametas não reduzidos favorecem a hibridação de dois tetraplóides apomíticos com complexo agâmico produzindo hexaplóides apomíticos.

O micrósporo jovem, após sua liberação da tétrade, possui um grande núcleo central, citoplasma rico em ribossomos e com numerosos pequenos vacúolos. Ao longo do tempo ocorre a coalescência desses vacúolos, resultando na formação de um único vacúolo grande e central, e conseqüentemente, no deslocamento do núcleo para junto da parede do micrósporo (Kalchuk-Santos & Bodanese-Zanettini, 2002).

Um fenômeno aparentemente relacionado com a androgênese é o dimorfismo polínico, o qual se refere à população de micrósporos atípicos encontrados tanto em flores próximas aos estádios de maturação *in situ*, bem como, em anteras *in vitro*. Estes grãos de pólen têm sido chamados de pólen P, Pólens S ou Pólens E (Kalchuk-Santos & Bodanese-Zanettini, 2002).

Análises ultraestruturais mostram que os micrósporos atípicos são menores, com pouco contraste, podendo ser uni ou binucleados, com os núcleos iguais ou desiguais, com exina fina e o citoplasma atenuado com presença de poucos ribossomos e mitocôndrias condensadas, podendo representar de 15 a 20 % dos grãos de pólen de uma antera, e encontram-se atrasados em relação aos normais (Kalchuk-Santos & Bodanese-Zanettini, 2002).

Na natureza o pólen P é um gametófito não funcional e pode ser considerado como um tipo de macho-esterilidade. A formação desse tipo de pólen se dá antes ou durante o evento meiótico, possivelmente devido à falhas na eliminação de determinantes esporófitos,

podendo ser influenciada por fotoperíodo e temperatura (Kalchuk-Santos & Bodanese-Zanettini, 2002).

Diferenças biológicas que separam os biótipos de *P. dilatatum* são fortes, envolvendo distintas morfologias, tipos reprodutivos, número de cromossomos e nível de ploidia, no entanto em nível molecular, esses ‘taxa’ não parecem distintos (Miz & Souza-Chies, 2006).

Conforme Speranza (2005) somente citogenética não responde a questões do grupo Dilatata, e cita problemas geralmente enfrentados ao estudar *Paspalum*, como a baixa representatividade das coleções e as técnicas pouco avançadas, considerando microssatélites como um marcador ideal por ter condições de co-dominância e alto nível de variabilidade. Assim, considera que os pentaplóides de uma maneira geral, podem ter sido derivados diretamente do “Chirú” (um biótipo Uruguaio) e de um tetraplóide sexual. O autor refere que todos os outros biótipos apomíticos, incluindo pentaplóides recombinantes são hipoteticamente derivados de uma forma pentaplóide, envolvendo mecanismos de gametas não reduzidos ou grãos de pólen eu-triplóides formados pelos pentaplóides, assumindo que a variação existente decorre da recombinação e segregação, e não de novas hibridações. Talvez os acessos analisados por Speranza (2005), não contemplem a totalidade de situações que ocorre em plantas do sul do Brasil, e que o presente trabalho busca abordar.

Speranza (2005) discorda da possível origem desses pentaplóides brasileiros, apontados por Machado *et al.* (2005), relatando que a heterozigosidade extrema observada pode existir nos pentaplóides devido a sucessivos ciclos de cruzamentos de outro tetraplóide membro do grupo, e uma das futuras evidências pode ser a sobrevivência extensiva da variabilidade dentro dos biótipos. Além do biótipo “Torres” estar amplamente distribuído nas porções mais orientais dos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná, as variações apresentadas podem não ser hibridações em F1, mas segregantes dessas hibridações,

o que posteriormente foi testado por Miz & Souza-Chies (2006), levando em conta as variações morfológicas principalmente no que tange a caracteres intermediários aos possíveis doadores de gametas.

Miz & Souza-Chies (2006) utilizando marcadores moleculares RAPD detectaram grande polimorfismo no grupo Dilatata, onde de 404 fragmentos gerados por 16 primers, apresentaram média de 25,2 bandas para cada primers. *Paspalum urvillei* apresentou maior número de marcadores (161), ilustrando grande afinidade com os demais acessos do grupo Dilatata. Também observaram marcadores exclusivos apresentado por híbridos de *Paspalum*, que são provavelmente, resultado da recombinação em genomas não correspondentes a geração F1, ou do processo de especiação de indivíduos, e nesse caso, hibridações podem estar ocorrendo há muitas gerações.

Caponio & Quarín (1990) referem-se à grande capacidade que *P. urvillei* possui de doar e receber pólen, gerando hibridações, como as sugeridas nesse trabalho. A importância da revisão taxonômica de *P. dilatatum*, segundo Miz & Souza-Chies (2006), considerando biótipos e/ou novas espécies é que o conceito de espécie biológica não deve ser utilizado, pois muitos biótipos possuem processos agâmicos/apomíticos complexos e também problemas no caso de híbridos com *P. urvillei* (antras amarelas) e com *P. dilatatum* biótipo Vacaria (antras amarelas), o qual apresenta morfologia intermediária aos dois, que não se enquadram nos conceitos.

*Caracterização morfológica de novos pentaplóides de Paspalum dilatatum Poir. oriundos de hibridações naturais intraespecíficas: colmos, folhas e inflorescências*

Para se ter um padrão comparativo entre os acessos, algumas características compostas nos descritores morfológicos da espécie foram analisadas, e em relação aos colmos, mediu-se a altura do primeiro nó visível, onde os acessos candidatos a derivados de *P. dilatatum* biótipo “Uruguaiana” (V14251) com o biótipo “Virasoro” apresentaram altura superior aos pentaplóides conhecidos como pertencentes ao biótipo “Comum” (V14371 e V14349), com valores bem aproximados do primeiro biótipo citado (Tabela 15).

Tabela 15. Altura do primeiro nó visível, número de nós nos afilhos reprodutivos e estatura dos acessos pentaplóides de *Paspalum*

Acessos	Altura do 1º nó (cm)*	Número médio de nós	Estatura (m)
V14949 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro”-?	11,00 a	5,66 a	1,18 a
V14251 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana”	10,67 a	4,00 bc	1,03 a
V14253 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro”-?	8,50 b	3,75 bc	1,00 a
V14930 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro”-?	8,33 b	4,75 abc	1,08 a
Virasoro <i>P. dilatatum</i> “Virasoro”	8,00 b	5,00 ab	1,00 a
V14371 <i>P. dilatatum</i> “Comum”	5,83 c	4,80 abc	1,13 a
V14349 <i>P. dilatatum</i> “Comum”	5,50 c	3,60 c	0,74 b

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 8,07. % \*\* C.V. 13,75 % \*\*\* C.V. 10,007%

Quanto ao número médio de nós desenvolvidos acima do solo nos afilhos reprodutivos, o acesso que apresentou maior número de nós (V14949) também corresponde ao de maior estatura. Para plantas forrageiras, e principalmente gramíneas, o número de nós corresponde ao número de folhas, e quanto maior esse número, associado a estatura das plantas, maior a oferta de forragem para os animais, sendo uma característica importante para ser considerada, quando o objetivo é o melhoramento de plantas. Da mesma forma, enquanto a estatura dos acessos investigados apresentou variações de 0,74 a 1,18 m, sendo o acesso V14349 o que apresentou estatura média de 0,74 m e menor número de nós, assim como o

acesso V14253 (Tabela 15). Observa-se que os acessos pentaplóides do biótipo “Comum” apresentaram altura do primeiro entrenó desenvolvido acima do solo semelhantes entre si e inferiores aos demais, enquanto dois dos possíveis híbridos apresentam valores intermediários, sugerindo o cruzamento (Tabela 15).

Quanto à altura do primeiro nó visível, não houve diferenças significativas entre o acesso V14949 e o biótipo “Uruguaiana” (V14251), ao passo que os demais acessos “Uruguaiana” X “Virasoro” (?), se mostraram significativamente diferentes dos acessos “Comuns”. Quanto à estatura, apenas o acesso V14349 foi significativamente inferior aos demais acessos, enquanto para o número médio de nós, houve diferença acentuada e significativa entre o acesso V14949 e V14349 (Tabela 15).

Foram avaliados quanto à largura e comprimento da folha bandeira e a relação da lâmina foliar com a bainha dessas folhas. Em geral a largura variou de 0,7 cm a 0,9 cm, com variações significativas entre o acesso V14371 e V14949 em relação aos acessos V14349, V14253 e “Virasoro”. O comprimento de 7,10 cm a 22,5 cm, o que pode ser uma característica importante para diferenciar os acessos, e variou significativamente entre eles, aproximando o acesso “Comum” V14371 ao “Uruguaiana” (V14251) (Tabela 16).

Tabela 16. Largura, comprimento médio da lâmina da folha bandeira e relação bainha/ lâmina da folha bandeira de acessos de *Paspalum*

Acessos	Largura (cm)	Comprimento (cm)	Relação bainha/ lâmina da folha bandeira
V14371 <i>P. dilatatum</i> “Comum”	0,90 a	14,14 de	0,89 d
V14949 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” -X “Virasoro”?	0,90 a	20,25 b	1,54 c
V14251 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana”-?	0,80 ab	16,00 d	1,49 c
V14930 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro”-?	0,80 ab	18,00 c	2,88 b
V14349 <i>P. dilatatum</i> “Comum”	0,76 b	22,50 a	3,27 b
V14253 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro”-?	0,73 b	13,30 e	0,38 d
Virasoro <i>P. dilatatum</i> “Virasoro”	0,70 b	7,10 f	3,85 b

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 8,59. % \*\* C.V. 6,17 % \*\*\* C.V. 12,59%

Costa & Scheffer-Basso (2003) em relação do biótipo Virasoro, referem-se aos colmos suberetos, com aspecto de touceira mais aberta, assim como o observado nesse trabalho. A relação da bainha para a lâmina da folha bandeira foi menor no acesso V14253, caracterizando uma bainha bastante curta em relação à lâmina foliar, ao passo que no acesso do biótipo “Virasoro”, essa relação foi bem maior, indicando possuir bainha bem pronunciada, porém, não diferente significativamente do acesso “Comum” (V14371). (Tabela 16).

Em estágio vegetativo, de uma maneira geral, acessos de *Paspalum* incluídos no experimento são muito parecidos, salvo algumas diferenças que são detectadas, muitas vezes, somente em microscópio estereoscópico. No entanto, no estágio reprodutivo, muitas diferenças surgem, e um dos marcos da diferenciação são justamente as inflorescências.

Avaliando-se características das inflorescências, verificou-se que o biótipo “Uruguaiana”, representado pelo acesso V14251 é o que apresentou maior comprimento do eixo da inflorescência, significativamente superior aos demais acessos, com medidas superiores a 60 cm de comprimento, enquanto os acessos pentaplóides e o biótipo “Virasoro” apresentaram seus eixos inferiores a 45 cm (Tabela 17).

O tamanho da panícula, caracterizado pela medida do comprimento do eixo da inserção do ramo basal até a inserção do ramo apical também foi maior no biótipo “Uruguaiana” (V14251), caracterizando-se por uma panícula mais longa em relação aos demais, e eixo total mais alongado, ao passo que os acessos pentaplóides (V14253, V14930 e V14949), o comprimento foi uniforme, variando de 8,6 a 9,73 cm.

A distância média dos ramos foi maior que 2 cm, exceto no acesso V14949, e o comprimento total, assim como o maior comprimento do eixo e da panícula, mencionado

anteriormente, foi do acesso V14251, representante do biótipo “Uruguaiana” (Tabela 17), porém não diferente significativamente do biótipo “Virasoro”.

A menor distância entre os ramos na inflorescência mostra uma característica de adensamento no acesso V14949, que foi significativamente diferente os demais acessos (Tabela 17).

Tabela 17. Características do eixo da inflorescência de acessos de *Paspalum*

Acessos	Comprimento do eixo da inflorescência até a inserção do ramo basal (cm)*	Comprimento do eixo da inserção do ramo basal até a do ramo apical (cm) **	Distância média entre ramos (cm) ***	Comprimento total do eixo da inflorescência (cm) ****
V14251 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana”	61,95 a	15,8 a	2,64 bc	77,75 a
V14253 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” ?	46,50 b	9,73 bc	2,59 c	56,23 b
V14930 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” ?	48,30 bc	8,80 bc	2,93 ab	57,10 b
V14949 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiana” X “Virasoro” ?	47,76 bc	8,60 c	1,84 d	56,36 b
V14349 <i>P. dilatatum</i> “Comum”	49,78 bc	11,24 b	2,34 c	61,02 b
V14371 <i>P. dilatatum</i> “Comum”	47,65 bc	9,75 bc	2,96 a	57,40 b
Virasoro <i>P. dilatatum</i> “Virasoro”	44,00 c	15,50 a	3,10 a	59,50 b

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 4,89. % \*\* C.V. 11,22 % \*\*\* C.V. 5,89% \*\*\*\* C.V. 4,09%

O acesso V14251 apresentou mais ramos, porém não diferente significativamente do biótipo “Comum” V14371, e o maior comprimento do ramo basal, superior a 8 cm, porém não diferente significativamente do biótipo “Virasoro” (Tabela 18). O comprimento médio das espiguetas dos ramos basais foi significativamente maior no biótipo “Virasoro”.

Com relação aos ramos e espiguetas das inflorescências, o número de ramos por inflorescência dos acessos variou de 4 a 7, e não houve diferenças significativas pelo teste Tukey a 5% (Tabela 18).

A média de número de ramos por inflorescência foi de 5,32, sendo o acesso do biótipo “Uruguaiiana” (V14251) aquele que apresentou mais ramos e espiguetas de menor tamanho (Tabela 18).

O menor comprimento do ramo basal da inflorescência do acesso V14349, com média de 5,68 cm não condiz com o menor número de espiguetas, entretanto o acesso apresenta nos ramos basais, espiguetas com comprimento médio superior às dos demais acessos comparados (Tabela 18).

Tabela 18. Características dos ramos e espiguetas de inflorescências de acessos de *Paspalum*

Acesso	Número de ramos /inflorescência *	Comprimento do ramo basal (cm) **	Número de espiguetas no ramo basal ***	Comprimento médio das espiguetas de ramos basais (mm) ****-
V14251 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiiana”	7,00 ns	8,10 a	77,0 a	2,60 c
V14949 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiiana” X “Virasoro”?	5,80	6,68 bc	62,0 b	3,00 bc
V14349 <i>P. dilatatum</i> “Comum”	5,38	5,68 c	62,0 b	3,33 b
V14930 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiiana” X “Virasoro”?	5,20	6,36 c	74,0 a	3,10 bc
V14371 <i>P. dilatatum</i> “Comum”	5,00	7,56 ab	80,3 a	3,00 bc
Virasoro <i>P. dilatatum</i> “Virasoro”	5,00	8,51 a	42,0 c	4,10 a
V14253 <i>P. dilatatum</i> “Uruguaiiana” X “Virasoro”?	3,89	6,30 c	46,5 c	3,10 bc

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 115,18. % \*\* C.V. 7,31 % \*\*\* C.V. 7,37% \*\*\*\* C.V. 10,43%

Steud (1855) descreve de 2 a 10 ramos por inflorescência em *P. dilatatum*, e de mais de 25 ramos em *P. urvillei*, no entanto, os distintos biótipos de *P. dilatatum* são muito variáveis, e revisões taxonômicas devem ser constantemente atualizadas.

Verificou-se também, no acesso V14349, biótipo “Comum” a formação excepcional de duas inflorescências em um mesmo afilho reprodutivo (Figura 10).



Figura 10. Afilho reprodutivo de V14349 (*P. dilatatum* “Comum”) com duas inflorescências

*Caracterização morfológica de novos pentaplóides de Paspalum dilatatum Poir. oriundos de hibridações naturais intraespecíficas: citogenética*

Características das células mães de grãos de pólen avaliadas dos pentaplóides V14930, V14949 e V14253, indicam que possivelmente tenham a mesma origem. Quarín *et al.* (1997) referem-se ao momento ideal para coleta das inflorescências antes da antese dos acessos de *Paspalum*, que seria entre 7 e 9 da manhã e quando as inflorescências encontram-se 2/3 encobertas pela folha bandeira. O que se percebeu nesse trabalho é que nessa fase, as meioses já ocorreram, já sendo encontrado na grande maioria, grãos de pólen completamente formados e com deposição de amido em seu interior. Antecipando essa coleta para o momento em que a inflorescência encontra-se ainda toda envolvida pela folha bandeira, encontra-se o grão de

pólen em estágio avançado de formação, sendo necessário rastrear dentro das porções do ramo em que as espiguetas apresentam distintas fases de maturação.

Speranza *et al.* (2003) se referem também à dificuldade de observação dessas células, principalmente devido à sobreposição do material preparado nas lâminas, e mesmo com toda a técnica e precisão, o tamanho tão reduzido desses materiais torna a observação mais difícil e delicada quanto a conclusões absolutas. Além desses fatores, podem mostrar na metáfase, cromossomos homogeneizados, condensados, com morfologia similar e de tamanho muito pequeno.

Em análise citogenética, para o acesso V14930, verificou-se micrósporos de menor tamanho que V14949, a presença de cromossomos retardatários na meiose, fora do fuso de divisão da meiose, caracterizando desbalanço na divisão celular. Já no acesso V14949, assim como no V14930, verificou-se na divisão celular, cromossomos fora do fuso com formação de micronúcleos, com indícios de formação de células com números diferentes de cromossomos. Para o acesso V14253 verificou-se a célula mãe do grão de pólen menor em relação aos acessos V14930 e V14949.

Com marcadores moleculares RAPD, Miz & Souza-Chies (2006) verificaram em 404 marcadores, 16 encontrados apenas nesses híbridos dentro de *Paspalum dilatatum*, indicando a formação desses pentaplóides por rotas distintas da apresentada pelo biótipo pentaplóide “Comum”, e que, possivelmente, os híbridos estudados nesse trabalho, também analisados por Miz & Souza-Chies, podem ser a expressão da segregação genética de cruzamentos ocorridos no passado, os quais teriam resultado em alguns indivíduos pentaplóides, justificando a variabilidade dos acessos.

Quanto aos marcadores moleculares, Miz & Souza-Chies (2006) utilizaram 16 primers, revelando 404 fragmentos de RAPD para o grupo Dilatata, incluindo biótipos de *P.*

*dilatatum*, como os acessos de “Virasoro”, pentaplóides derivados de *P. urvillei* e biótipo “Torres”, e híbridos do biótipo “Uruguaiana” com biótipo “Virasoro”, assim como neste trabalho. Essas autoras referem-se ao grande número de marcadores apresentados pelo biótipo “Virasoro” (18), ao passo que o acesso que representa a hibridação de *P. dilatatum* biótipo “Uruguaiana” X *P. dilatatum* biótipo “Virasoro”, apresentou apenas um desses marcadores.

Speranza (2005) refere-se a um único ancestral comum para os cinco biótipos tetraplóides, tendo o biótipo “Virasoro” e o biótipo “Vacaria” muita similaridade, ao passo que *P. dasypleurum* Kuntze ex Desv. e *P. urvillei* são mais parecidos com *P. dilatatum* ssp. *flavecens* (anteras amarelas, sexual) e a contribuição do biótipo “Virasoro”, biótipo “Chirú” e *P. dilatatum* em outros biótipos torna-se confusa, visto que analisando por microssatélites, grande porção de alelos são mútuos.

Também no biótipo “Virasoro”, Speranza (2005) refere-se à dificuldade de observar alogamia, devido à semelhança dos acessos, e isso talvez se deva à restrita representatividade dos materiais onde coletas deveriam ser conduzidas numa escala maior.

Além das anormalidades típicas da poliploidia, outras anormalidades meióticas têm sido encontradas em vários acessos e comprometem sobremaneira a fertilidade do pólen. Pagliarini (2005) refere-se ao sucesso da hibridação no gênero *Paspalum*, que não depende apenas de acessos diplóides sexuais, mas também de estabilidade meiótica que potenciais acessos genitores masculinos tetraplóides apomíticos apresentam.

Em dendograma gerado no trabalho de Miz & Souza-Chies (2006), o biótipo “Virasoro” parece ser um tipo distinto, com somente um acesso localizado fora do grupo formado por biótipos, e que poderia ser elevado taxonomicamente ao nível de espécie.

Muitas características morfológicas corroboram essa idéia e o fato do biótipo “Virasoro” não se hibridizar naturalmente com *P. urvillei*, mesmo quando se encontram em

simpatria na natureza. Segundo Miz & Souza-Chies (2006), RADP é uma técnica que pode ser usada para determinar relações genéticas entre os taxa, podendo detectar ancestrais comuns, revelando a variabilidade em níveis intra e interespecíficos.

A determinação da viabilidade do pólen pode ser feita por métodos diretos, tais como a indução da germinação do pólen *in vivo* ou *in vitro* e métodos indiretos, baseados nos parâmetros citológicos como o da coloração (Techio *et al.*, 2006), tal como utilizado nesse trabalho. Os corantes mais utilizados, conforme os mesmos autores são: Carmim Acético, Azul de Anilina, Azul de Algodão e Iodeto de Potássio, além de Cloreto de Trifeniltetrazólio e Tetrazólio Vermelho, os quais promovem diferenças na coloração dos grãos de pólen, fornecendo resultados de forma rápida e com baixo custo.

A perda de viabilidade do pólen em diversas espécies têm sido relacionado à perda de água e à manutenção da desidratação em condições naturais e de laboratório. A *Festuca arundinacea* Schreb, conforme Techio *et al.* (2006), tem seus grãos de pólen desidratados parcialmente entre 48 e 72 horas, podendo estar totalmente desidratados quando as anteras se tornam deiscentes. E esse efeito também é esperado em outras espécies de gramíneas, principalmente quando o processo de polinização ocorre em períodos mais quentes, que é o caso das espécies de *Paspalum*. No entanto espécies como o milheto (*Pennisetum americanum*), podem manter a viabilidade por até 177 dias em condições de 0 a 50% de umidade e temperaturas variando de 16 a 35 °C (Techio *et al.*, 2006).

Todavia, a viabilidade de pólen também pode ser baixa em sua origem, isto é sem que tenha havido qualquer perda de germinabilidade, e por os grãos não se terem formado corretamente, o que é uma das conseqüências de irregularidades na meiose. Nesse trabalho, observou-se tanto grãos de pólen viáveis como inviáveis. O biótipo “Virasoro”, apresentou viabilidade de pólen superior a 90 %, o biótipo “Uruguaiana” apresentou grãos de pólen de

menor tamanho, com viabilidade inferior a 80 %, ao passo que os pentaplóides apresentaram grãos de pólen corados, de tamanhos diferentes e com proporções de viabilidade e estádios de desenvolvimentos bem variáveis dentro do mesmo ramo e da mesma inflorescência.

Com relação às análises citogenéticas, muitos fatores ainda podem ser analisados quanto à estabilidade desses acessos por meio de seus comportamentos reprodutivos. O fato da meiose estar sendo um evento irregular, a formação de sementes por esses acessos está relacionado a apomixia. Ao passo que a formação de pólen com tamanhos diferentes (Figura 11) podem estar associados à capacidade de formação de gametas não reduzidos (Schiffino-Wittmann & Dall’Agnol, 2001), possibilitando resultados diferentes nas hibridações.

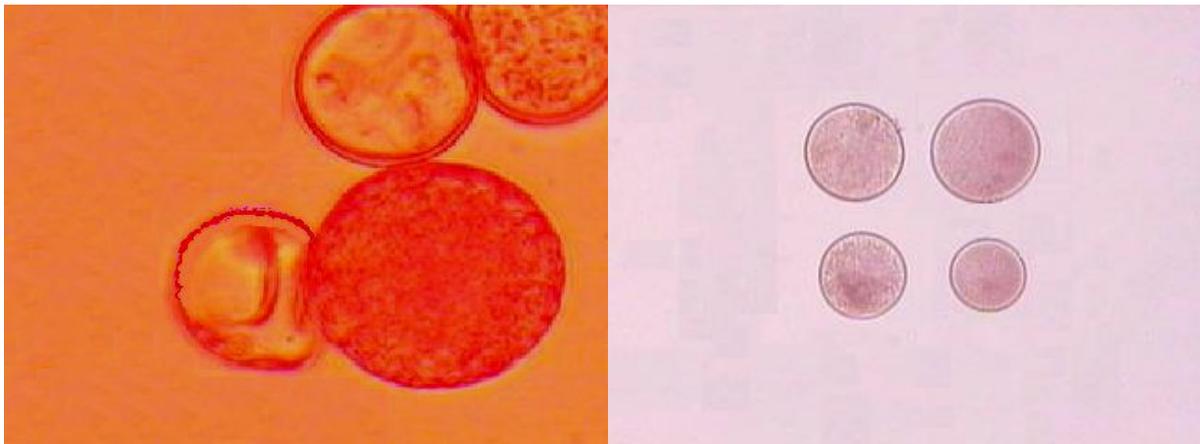


Figura 11. Acesso V14253 (*P. dilatatum* “Uruguaiiana” X “Virasoro”?) e Acesso V14349 (*P. dilatatum* “Comum”) dimorfismo.

Quarín *et al.*(1996) referem-se a formação de gametas não reduzidos um evento que favorece a hibridação de dois tetraplóides apomíticos com complexo agâmico produzido hexaplóides apomíticos.

Para o biótipo “Virasoro”, Speranza (2005) refere-se à dificuldade de perceber alogamia, e à facilidade de ser detectada uma autogamia funcional, decorrente da morfologia das anteras e estigmas, que são mais curtos, relacionados à cleistogamia, assim como, anteras

deiscentes durante ou logo após a antese, assim como observado pelo acesso avaliado nesse trabalho em relação às anteras.

Observou-se no biótipo “Virasoro”, células em diferentes estádios de divisão dentro da mesma antera, em geral, observou-se uma meiose com pareamento formando 20 pares de cromossomos (Figura 12), mas também, tétrades, que no final da meiose II, o material genético pode ter se concentrado em apenas um dos pólos, dividindo-se em duas células possivelmente com gametas não reduzidos e duas sem material genético, como na figura 6.

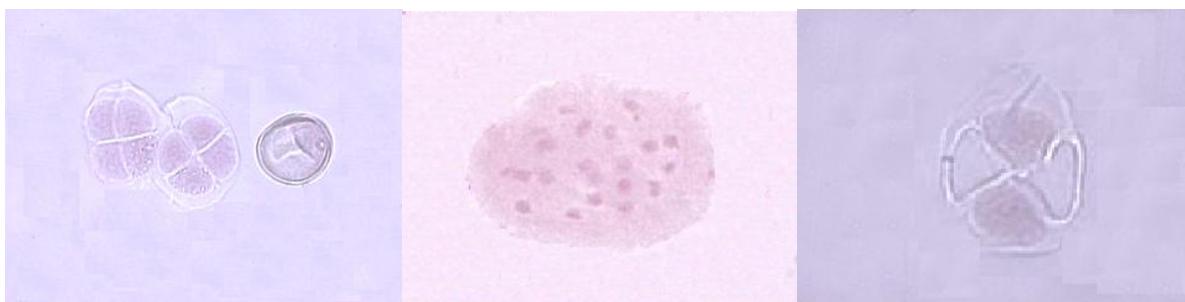


Figura 12. Final da meiose do acesso do biótipo “Virasoro” com formação de tétrades normais e anormais

Speranza (2005) refere-se à observação de gametas não reduzidos em tetraplóides, que é o caso do biótipo “Virasoro”, assim como o sugerido nesse trabalho, com grãos de pólen de diferentes tamanhos (maiores e menores) e tétrades apresentando células vazias.

Percebe-se que as diferenças mais marcantes desses acessos concentram-se na morfologia das inflorescências, o que é esperado para *Paspalum* de uma maneira geral (Oliveira, 2004).

Pela análise de agrupamento pela Ligação Completa baseada na distância de Mahalanobis, verificaram-se vários grupos formados, mas o que realmente chama atenção é o isolamento do acesso “Virasoro”, sendo o mais distante, ao passo que os demais acessos se encontram mais próximos do biótipo “Uruguiana”, inclusive os acessos “Comuns” (Figura 14).

Tabela 19. Matriz de distância do vizinho mais próximo e mais distante pela distância de (Mah)

Acessos	<b>Virasoro</b>	<b>V14930</b>	<b>V14949</b>	<b>V14253</b>	<b>V14349</b>	<b>V14371</b>	<b>V14251</b>
<b>Virasoro</b>		1021,99*	2228,93**	1186,10	1542,58	1163,29	1471,99
<b>V14930</b>	1021,99**		497,80	374,19	137,41*	206,79	750,21
<b>V14949</b>	2228,92**	497,80		309,36*	336,73	561,00	574,88
<b>V14253</b>	1186,10**	374,19	309,36		418,83	294,45	380,59*
<b>V14349</b>	1542,58**	137,41*	336,73	418,83		408,53	860,39
<b>V14371</b>	1163,29**	206,79*	561,00	294,45	408,53		639,86
<b>V14251</b>	1471,99**	750,21	574,88	380,59*	860,39	639,86	

\*menor distância \*\* maior distância

A característica que mais contribuiu para diferenciar os acessos foi o comprimento da lâmina da folha bandeira e a relação bainha: lâmina da folha bandeira, com 33,91% e 19,76%, respectivamente, de contribuição (Tabela 19).

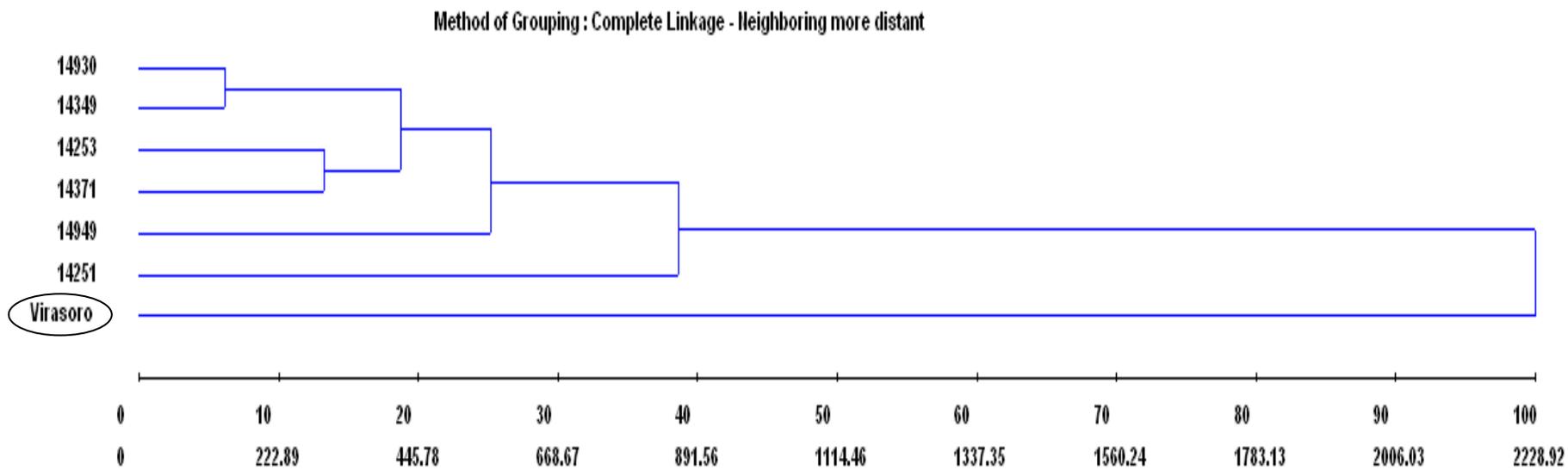


Figura 13. Dendrograma de agrupamento através do Método de Ligação Completa - pelo vizinho mais distante dos acessos biótipos de *P. dilatatum*

*Estudo morfológico de algumas espécies de Paspalum e de um heptaplóide de Paspalum dilatatum coletados no Sul do Brasil: características morfológicas*

Os acessos que apresentaram as menores estaturas (V14347 e V14570), de *P. paniculatum* e *P. pauciciliatum*, respectivamente, também apresentaram o primeiro nó situado acima do solo mais próximo da base da planta (Tabela 20).

O menor número de nós por colmo reprodutivo foi verificado no acesso V14811 (Tabela 20), caracterizando-se por poucas folhas por colmo, porém, essas folhas, mostraram maior largura que os demais acessos. *Paspalum pauciciliatum* apresentou ramificações ao longo de alguns afilhos, com capacidade de enraizamento e formação de um outro indivíduo através da propagação vegetativa por estolão (Figura 14).



Figura 14. Aspecto das ramificações de V14570 (*P. pauciciliatum*) podendo propagar-se vegetativamente

Também foi averiguado o número de afilhos no primeiro ano de instalação dos experimentos, foram classificados em afilhos reprodutivos e afilhos totais, a fim de que esse componente de rendimento fosse avaliado para as diferentes espécies e híbridos desse trabalho. A altura do primeiro nó visível foi significativamente superior no acesso V14294. O número médio de nós foi igual nos acessos de *P. regnellii* X *P. urvillei* (V14348 e V14779), enquanto as menores estaturas foram de *P. pauciciliatum* e de *P. paniculatum*,

significativamente inferiores aos demais acessos, respectivamente V14570 e V14347 (Tabela 20).

Tabela 20. Altura do primeiro nó, número de nós nos afilhos reprodutivos e estatura dos acessos de *Paspalum*

Acessos	Altura do 1º nó (cm)*	Número médio de nós**	Estatura (m) ***	Número de afilhos Reprodutivos <sup>1</sup>	Número de afilhos Totais <sup>1</sup>
V14294 <i>P. paniculatum</i> X <i>P. urvillei</i> ?	23,83 a	4,4 bc	1,57 a	8	11
V14392 <i>P. urvillei</i>	20,20 b	4,4 bc	1,25 b	8	14
V14348 <i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	18,50 b	5,6 ab	1,36 ab	5	7
V14811 <i>P. juergensii</i> X <i>P. Urvillei</i> ?	12,33 c	4,0 c	0,96 c	14	18
V14779 <i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	9,00 d	6,8 a	1,48 a	3	7
V14570 <i>P. pauciciliatum</i>	6,60 d	4,8 bc	0,72 d	18	28
V14347 <i>P. paniculatum</i>	4,00 e	5,6 ab	0,60 d	4	12

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 9,24 % \*\* C.V. 11,98 % \*\*\* C.V. 9,25% <sup>1</sup> média de 5 plantas

Considerando a reprodução, os acessos de *P. regnellii* X *P. urvillei* representados por V14348 e V14779, mesmo com o mesmo número de afilhos totais (sete), V14348 apresentou maior número de afilhos reprodutivos (cinco reprodutivos). *Paspalum paniculatum* (V14347) apresentou maior número de afilhos vegetativos mesmo em estágio reprodutivo, com apenas um terço de florescimento, e V14811 foi o acesso que apresentou maior número de afilhos reprodutivos em relação ao total, com aproximadamente 80 % de florescimento (Tabela 20).

Skinner & Nelson (1995), citam *P. urvillei* como uma planta que à medida que tem seus entrenós se alongando, as lâminas foliares encurtam em relação às bainhas, de forma que as maiores lâminas foliares situam-se no centro do dossel e a lâmina foliar mais curta é a bandeira, com longa bainha, assim como o observado nesse trabalho.

Em geral, exceto em *P. pauciciliatum* em que a inflorescência apresenta disposição aplanada dos ramos (Figura 15), as demais foram eretas e piramidais, com os ramos mais apicais mais curtos que os ramos basais.



O acesso *Paspalum paniculatum* (V14347) morfológicamente mostrou-se ser uma planta mais compacta, com menor estatura, com folhas mais estreitas e curtas, e com menor relação bainha/lâmina foliar da folha bandeira. A relação bainha: lâmina da folha bandeira foi significativamente superior no acesso V14348 (Tabela 21).

Tabela 21. Largura, comprimento médio da lâmina da folha bandeira e relação bainha/ lâmina da folha bandeira de acessos de *Paspalum*

Acessos	Largura (cm)	Comprimento (cm)	Relação bainha/ lâmina da folha bandeira
V14811 <i>P. juergensii</i> X <i>P. Urville</i> ?i	1,50 a	18,0 b	1,25 c
V14348 <i>P. regnellii</i> X <i>P. Urvillei</i> ?	1,00 b	15,7 b	4,53 a
V14294 <i>P. paniculatum</i> X <i>P. urvillei</i> ?	0,95 b	12,5 c	3,24 b
V14570 <i>P. pauciciliatum</i>	0,93 b	17,0 b	1,28 c
V14779 <i>P. regnellii</i> X <i>P. Urvillei</i> ?	0,80 b	26,0 a	3,50 b
V14392 <i>P. urvillei</i>	0,90 b	16,0 b	1,57 c
V14347 <i>P. paniculatum</i>	0,50 c	10,5 b	0,52 d

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 12,22 % \*\* C.V. 8,67 % \*\*\* C.V. 12,21%

A largura da lâmina foliar da folha bandeira foi significativamente superior no acesso V14811, enquanto o comprimento foi significativamente superior no acesso V14779. A

menor relação bainha/ lâmina da folha bandeira foi em *P. paniculatum* (V14347) significativamente diferente dos demais pelo teste Tukey a 5% (Tabela 21)

Em relação à inflorescência, esse acesso (V14347), mostrou-se com menor eixo (24 cm), bem inferior ao eixo floral de *P. urvillei* (V14392) com mais de 50 cm. No entanto, a menor panícula, caracterizada pelo comprimento do eixo da inserção do ramo basal até a inserção do ramo apical, foi a de *P. pauciciliatum* (V14570), com menos de 7 cm e aspecto aplanado (Figura 14). Steud (1855) refere-se aos numerosos ramos de *P. paniculatum*, variando de 4 a 50, com comprimento de até 3 polegadas, ou seja, pouco mais de 8 cm, e da inflorescência ereta de *P. urvillei*, com mais de 25 ramos por inflorescência.

Panículas mais densas foram verificadas no acesso V14294 assim como em *P. paniculatum* (V14347), representadas por menores distâncias entre ramos, ambas menores que 1 cm, e a panícula de *P. urvillei*, com maiores distâncias entre os ramos, porém não diferente significativamente do acesso de *P. pauciciliatum* (V14570) (Tabela 22).

Tabela 22. Características do eixo da inflorescência de acessos de *Paspalum*

Acessos	Comprimento do eixo da inflorescência até a inserção do ramo basal (cm)*	Comprimento do eixo da inserção do ramo basal até a do ramo apical (cm)**	Distância média entre ramos (cm)***	Comprimento total do eixo da inflorescência (cm)****
V14392 <i>P. urvillei</i>	50,37 a	19,57 a	1,83 a	70,14 a
V14811 <i>P. juergensii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	44,70 b	18,75 b	1,50 ab	63,45 b
V14779 <i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	33,30 c	10,90 d	1,21 bc	44,20 c
V14348 <i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	30,10 cd	13,15 c	1,08 bcd	43,25 c
V14570 <i>P. pauciciliatum</i>	26,30 d	6,83 e	1,86 a	33,13 d
V14294 <i>P. paniculatum</i> X <i>P. urvillei</i> ?	26,13 d	12,63 c	0,78 d	38,76 cd
V14347 <i>P. paniculatum</i>	24,0 d	10,20 d	0,85 cd	34,20 d

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 9,53 % \*\* C.V. 6,99 % \*\*\* C.V. 16,68% \*\*\*\* C.V. 9,81%

O comprimento total do eixo da inflorescência foi maior em *P. urvillei* (V14392) e o comprimento da panícula (comprimento do eixo da inserção do ramo basal até a do ramo apical), foi diferente significativamente dos demais acessos (Tabela 22) perfazendo mais de 50 % da estatura do afixo, este com média de 1,25 m (Tabela 20). *P. urvillei* também teve o comprimento total do eixo da inflorescência significativamente superior aos demais acessos (Tabela 22).

Os acessos V14347 e V14570, de *P. paniculatum* e *P. pauciciliatum*, respectivamente, apresentaram os menores números de ramos por inflorescência, sendo que o primeiro apresentou o menor comprimento do ramo basal e o menor comprimento médio das espiguetas nesse ramo (Tabela 23), ao passo que o segundo apresentou poucos ramos por inflorescência, comprimento desse ramo relativamente curto em relação aos demais, no entanto, as espiguetas apresentaram o maior comprimento, com cerca de 3 mm contra 1,1 mm apresentado por *P. paniculatum* (V14347), sendo uma importante característica para diferencia-los (Tabela 23).

Tabela 23. Número de ramos, comprimento do ramo basal, número de espiguetas e comprimento das espiguetas de inflorescências de acessos de *Paspalum*

Acesso	Número de ramos/ Inflorescência*	Comprimento do ramo basal (cm)**	Número de espiguetas no ramo basal***	Comprimento médio das espiguetas de ramos basais (mm)****
V14294 <i>P. paniculatum</i> X <i>P. urvillei</i> ?	19,83 a	7,28 de	107,5 c	1,30 d
V14811 <i>P. juergensii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	14,25 b	9,33 ab	215,0 a	1,90 c
V14392 <i>P. urvillei</i>	14,00 b	8,11 cd	200,0 a	2,05 bc
V14348 <i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	12,36 b	10,25 a	134,3 bc	1,90 c
V14779 <i>P. regnellii</i> X <i>P. urvillei</i> ?	9,00 c	8,57 bc	136,0 b	2,40 b
V14347 <i>P. paniculatum</i>	7,00 cd	5,75 f	133,0 bc	1,10 d
V14570 <i>P. pauciciliatum</i>	4,38 d	6,37 ef	76,0 d	3,03 a

Médias com letras iguais na coluna não diferem pelo teste Tukey a 5%.

\*C.V. 11,44% \*\* C.V. 6,09 % \*\*\* C.V. 9,44% \*\*\*\* C.V. 10,84%

O maior número de espiguetas no ramo basal foi encontrado no acesso V14811, híbrido natural triplóides de *P. juergensii* X *P. urvillei*, não diferente significativamente pelo teste Tukey a 5% de *P. urvillei* (V14392), e o que apresentou menor número de espiguetas e, menor possibilidade de formação de sementes, foi *P. pauciciliatum* (V14570). O comprimento médio das espiguetas de ramos basais foi significativamente superior em *P. pauciciliatum* (V14570), conforme Tabela 23.

Na figura 16 é mostrado o aspecto piramidal das inflorescências, mais densa no acesso V14779 e mais laxa em V14811.



Figura 16. Aspecto piramidal da inflorescência de a) V14779 (*P. regnellii* X *P. urvillei* ?) e b) de V14811 (*P. juergensii* X *P. urvillei* ?).

Aspectos relativos à presença de fungos também foram observados, principalmente por esse ser um fator que pode limitar a produção de sementes nas espécies. Foi observado à presença de fungos (não identificado neste trabalho) que danificam as espiguetas e interferem na formação das sementes no acesso de *P. pauciciliatum*. Nos demais acessos, essa característica não foi observada.

Quanto ao formato das espiguetas *P. paniculatum* caracterizada por ser diminuta (Figura 17).

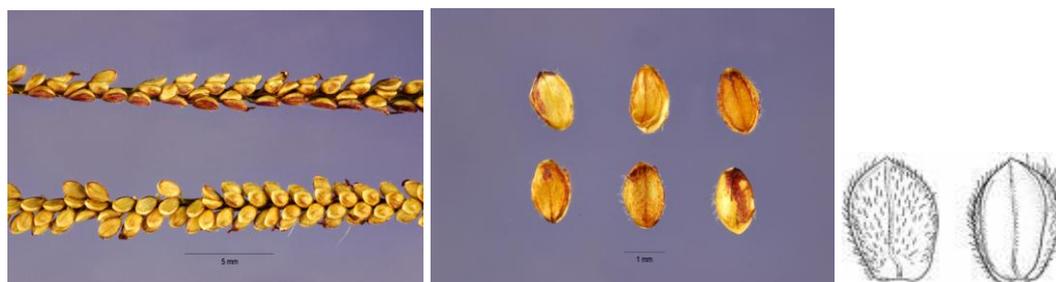


Figura 17. Espiguetas e cariopses de *P. paniculatum*

Pela análise de agrupamento pela Ligação Completa baseada na distância de Mahalanobis, verificou-se vários grupos formados, chamando atenção para os grupos formados por V14811 (*P. juergensii* X *P. urvillei*) e V14392 (*P. urvillei*), deixando-os mais distante dos demais, bem como o grupo formado por V14347 (*P. paniculatum*) e V14570 (*P. pauciciliatum*), e um terceiro grupo, formado por V14348 (*P. regnellii* X *P. urvillei*), V14294 (*P. paniculatum* X *P. urvillei*), e V14779 (*P. regnellii* X *P. urvillei*) (Figura 17).

Tabela 24. Matriz de distância do vizinho mais próximo e mais distante pela distância de (Mah)

Acessos	V14347	V14570	V14392	V14294	V14811	V14348	V14779
<b>V14347</b>		328,89*	709,69	777,82**	737,45	576,79	381,95
<b>V14570</b>	328,89*		1082,25	880,30	1384,42**	780,20	439,67
<b>V14392</b>	709,69	1082,25**		577,95	196,12*	416,44	440,16
<b>V14294</b>	777,82	880,30	577,95		955,41**	254,80*	496,04
<b>V14811</b>	737,45	1384,42**	196,12*	955,41		568,84	597,18
<b>V14348</b>	576,79	780,20**	416,44	254,80	568,84		216,76*
<b>V14779</b>	381,95	439,67	440,16	498,04	597,18**	216,76*	

\* Menor Distância \*\* Maior Distância

O comprimento da panícula e a altura do primeiro nó visível foram as características que mais contribuíram para diferenciar os acessos, com 20% e 18,39% respectivamente, de contribuição. Os acessos de *P. pauciciliatum* (V14570) e V14811 foram os mais distantes, ao passo que os acessos de *P. urvillei* e o acesso V14811 foram os vizinhos mais próximos conforme a matriz exposta na Tabela 24.

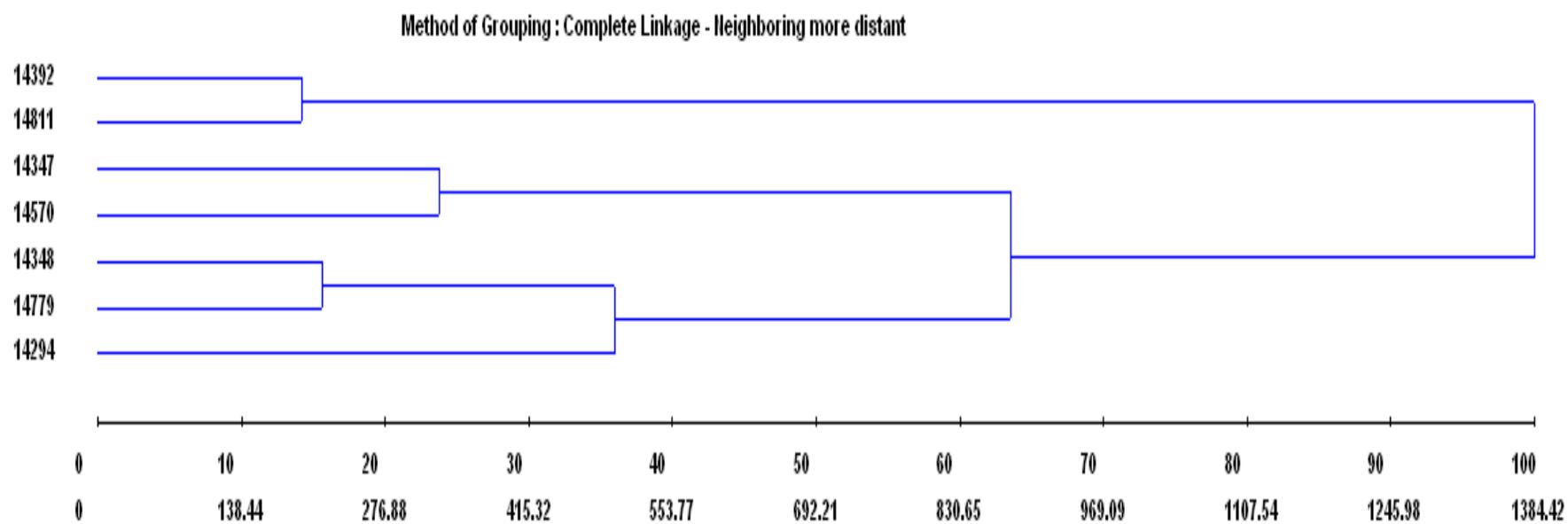


Figura 18. Dendrograma de agrupamento através do Método de Ligação Completa- pelo vizinho mais distante dos acessos biótipos de *P. dilatatum*

*Caracterização morfológica de Paspalum dilatatum Poir. oriundos de hibridações naturais intraespecíficas: Citogenética*

Estudos de viabilidade de grão de pólen foram iniciados, verificou-se tanto a presença de pólen viável quanto de pólen inviável em todos os acessos, identificado pela coloração por Carmim Acético a 1%.

Em geral, as células mães de grão de pólen de espécies de *Paspalum* apresentam os cromossomos muito diminutos e de difícil observação. Speranza *et al.* (2003) referem-se à dificuldade em análises citogenéticas com *Paspalum*, principalmente pelo tamanho diminuto dos cromossomos e pela ocorrência de sobreposição. Speranza (2005) cita que apenas as análises citogenéticas não respondem às questões do grupo Dilatata e se refere à problemas que geralmente ocorrem quando se estuda *Paspalum*, como a baixa representatividade das coleções e as técnicas pouco avançadas.

Em análises com marcadores moleculares RAPD, Miz & Souza-Chies (2006), utilizando vários acessos de plantas do Grupo Dilatata, inclusive os acessos V14294 (*P. paniculatum* x *P. jueguensii*), V14347 (*P. paniculatum*) e outros desse trabalho, verificaram 404 marcadores, sendo quase 12 % exclusivo de biótipos de *P. dilatatum*. No entanto, 31 % foram designados como sendo exclusivos de outros taxa de outros grupos, aproximadamente 7 % definidos como de outras espécies do grupo Dilatata, e 3,96 % para híbridos naturais. Isso indica a grande variabilidade genética dentro dos biótipos de *P. dilatatum* e a existência de ancestrais comuns em acessos de espécies diferentes, inclusive híbridos, os quais contaram com menos de 4 % de marcadores distintos.

Microsatélites desenvolvidos por Speranza (2005) foram aplicados em amostras representativas, a fim de analisar as interrelações na evolução do grupo em diferentes níveis de ploidia, detectando recentes hibridações e analisando a estrutura genética. O autor

menciona os avanços nesses assuntos e que os conhecimentos têm sido usados não somente para melhoramento, mas para definir um modelo interessante para o estudo da apomixia e poliploidia.

O conhecimento da morfologia dos acessos das populações encontradas em distintos lugares e suas associações, sobretudo com *P. dilatatum*, que possui tantos biótipos, é importante para entender como essas espécies podem refletir ancestrais comuns e como taxonomicamente espécies, que continuam seu processo evolutivo, deve ser revisadas constantemente para que um tratamento cladístico seja coerente, já que se mostra problemático devido à aloploidia de algumas espécies.

Observou-se meiose irregular nos acessos triplóides V14811 e V14294. Houve uma grande formação de grãos de polens viáveis nos possíveis híbridos de *P. urvillei* e *P. regnellii*, acessos V14348, V14779 e em V14294. Na figura 19 é ilustrado a prófase, metáfase e a anáfase em seguimento normal para *P. urvillei*, característica que se espera para as espécies sexuais de *Paspalum*, onde há o alinhamento dos cromossomos e a separação dos cromossomos sem a formação de micronúcleos. Se há normalidade nessa fase, possivelmente na parte feminina, não haverá problemas.



Figura 19. Prófase (1), Metáfase (2) e Anáfase (3) de *P. urvillei*

Speranza (2005) verificou alta variabilidade para os loci de *P. urvillei* e pouca variabilidade para do biótipo de *P. dilatatum* “Vacaria”, porém ambos apresentaram altas

taxas de índice de fixação (0,793 e 0,734, respectivamente), ao passo em que outro biótipo de *P. dilatatum*, o “Virasoro”, o comportamento foi praticamente de homozigoto. Percebeu-se no presente trabalho, o vigor das plantas de *P. urvillei* em relação a crescimento e estabelecimento, assim como sua fonte de perpetuação através de sementes, formando muitas sementes e de tamanhos bem pequenos (aproximadamente 2 mm, com mais de 200 espiguetas por ramos) (Tabela 23).

Espécies como *P. urvillei*, cosmopolitas e que se adaptam aos ambientes que o homem vai perturbando, isto é, parantropófitas, presumidamente associam-se à outros complexos, utilizando mecanismos de hibridação para se manter mesmo com outra identidade (através da formação de híbridos), além de investirem em mecanismos de sobrevivência individual, com a formação de muitas sementes a fim de disseminar.

#### *Caracterização do acesso heptaplóide V14201 de P. dilatatum*

Até a descoberta desse acesso (V14201), nenhum outro heptaplóide do grupo Dilatata havia sido encontrado no Brasil. Esse acesso foi encontrado em Passo Fundo-RS, em área em que ocorrem *P. urvillei*, *P. dilatatum* biótipo “Virasoro”, *P. dilatatum* biótipo “Torres” e *P. dilatatum* “Comum”. E especificamente, o presente acesso ao ser coletado, situava-se ao lado de uma planta representante do biótipo “Virasoro” e do biótipo “Comum”. Inicialmente foi identificado como “Comum”, no entanto, após a contagem cromossômica, averiguou-se que haviam alguns aspectos que aproximavam essa planta do biótipo “Virasoro”.

Avaliações morfológicas mostraram semelhanças entre o acesso heptaplóide com o biótipo Virasoro, como a inflorescência mais pendente (Figura 20) e presença de macropêlos. Na média, a largura da lâmina da folha bandeira foi maior no acesso V14201 do

que nos biótipos “Comum” e “Virasoro”, no entanto, o comprimento dessa lâmina, apresentou valores mais distantes daqueles apresentados pelo biótipo “Virasoro” (Tabela 25).

Tabela 25. Características morfológicas do acesso heptaplóide (V14201) encontrado no Brasil

<b>Características Morfológicas</b>	
Largura da Lâmina da Folha Bandeira	1,15 cm
Comprimento da Lâmina da Folha bandeira	19 cm
Relação bainha/ Folha bandeira	1,65
Cor da antera	Roxa
Forma da inflorescência	Pendente
Característica da antese	Expõe anteras após a exposição da panícula
Desprendimento das espiguetas	Intermediário*
Germinação das sementes	~ 50 %

\*existência de espiguetas mais persistentes no ramo

A estatura da planta foi maior no acesso heptaplóide do que os acessos do biótipo “Comum” (V14349 e V14371) e que o biótipo “Virasoro”, com cerca de 1,10 m. A altura do primeiro nó visível, aéreo, de aproximadamente 10 cm, assemelha-se aos de “Virasoro”. Em relação à inflorescência, destaca-se o número de ramos que na média foi superior tanto aos acessos representantes ao biótipo “Comum”, quanto ao biótipo “Virasoro”, apresentando 7 ramos por inflorescência (Tabela 26), contra 5 a 5,4.



Figura 20. Aspecto da inflorescência de V14201 (*P. dilatatum* “Comum” heptaplóide), espiguetas e germinação da semente

Tabela 26. Características morfológicas relativas à inflorescência do acesso heptaplóide (V14201) encontrado no Brasil

<b>Características Morfológicas</b>	
Comprimento do eixo da inflorescência até a inserção do ramo basal	48,6 cm
Comprimento do eixo da inserção do ramo basal até o ramo apical	14,9 cm
Distância média entre ramos	2,83 cm
Comprimento total do eixo da inflorescência	63,46
Número de ramos por inflorescência	7
Comprimento médio do ramo basal	6,7 cm
Comprimento médio das espiguetas no ramo basal	3,03 mm
Número de espiguetas no ramo basal	57
Aparecimento de fungo nas inflorescências	Presente

Klastornick *et al.* (2002) se referem a um heptaplóide antes não descrito para a espécie, encontrado na localidade de Villa Serrana (Lavalleja) no Uruguai, que demonstrou ser altamente estéril e com meiose irregular, embora apresentando aposporia. Nesse trabalho, embora a fertilidade possa ser considerada baixa, inferior a 50 %, foram obtidas sementes férteis, que germinaram em estufas a 22 °C, sem passarem por processos de quebra de dormência. (Figura 20), sugerindo a formação de embrião através de apomixia.

O surgimento desse heptaplóide sugere-se ter sido formado através de um gameta não reduzido do pentaplóide de *P. dilatatum* “Comum” com um receptor sexual de *P. dilatatum* biótipo “Virasoro”. Quanto à formação de sementes pelo heptaplóide, muitos eventos levariam a infertilidade da cariopse, exceto a apomixia, que produziria um clone da planta mãe heptaplóide. Observou-se no acesso V14201 meiose irregular, com não alinhamento e divisão desbalanceada, com formação de micronúcleos, conforme a figura 21.

A meiose I caracteriza-se por uma longa prófase, que em algumas espécies consome mais de 90 % da duração de toda meiose. Nessa fase, ocorrem eventos sequenciais de fundamental importância para a regularidade do processo meiótico. Na próxima fase, a metáfase I, as fibras do fuso posicionam os bivalentes na região equatorial, onde cada homólogo é direcionada para os pólos, para que na anáfase I, o encurtamento da fibra puxar

os cromossomos para os pólos. Cromossomos pequenos podem ser mais rápidos do que cromossomos maiores para se separarem, mas no final dessa fase, cada pólo irá conter 'n' cromossomos, onde vão se descondensando, na telófase I, e logo inicia-se a meiose II, que resulta em tétrades haplóides (Pagliarini & Pozzobon, 2005).

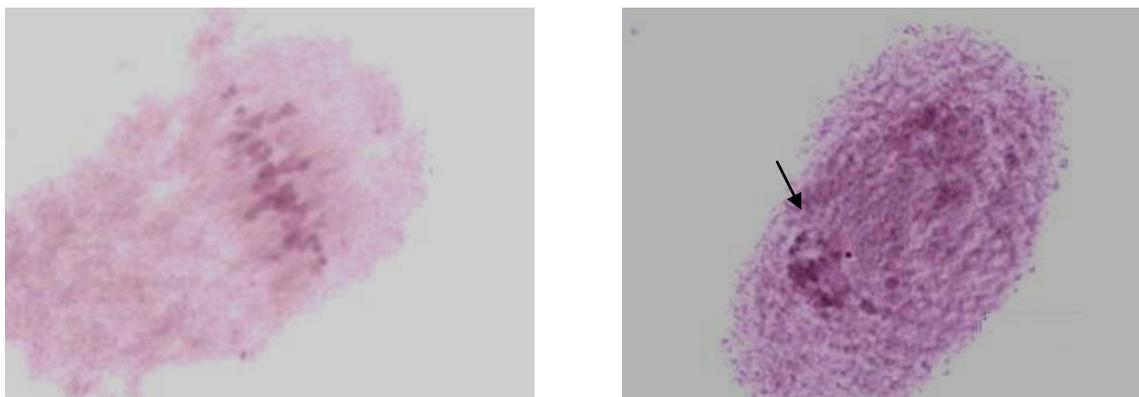


Figura 21. Fases da meiose irregular de V14201 (*P. dilatatum* "Comum" heptaplóide)

Irregularidades na meiose I, pode resultar em irregularidades na formação do gameta masculino. Observou-se a formação tanto de díades, políades quanto de tétrades (Figura 22).



Figura 22. Arranjos celulares encontrados no acesso V14201 heptaplóide

Plantas poliplóides geralmente apresentam uma grande quantidade de anormalidades meióticas relacionadas à segregação irregular dos cromossomos, as quais acabam gerando micrósporos geneticamente desbalanceados, comprometendo a fertilidade do grão de pólen, o que pode limitar os programas de melhoramento para a geração da variabilidade genética (Pagliarini & Pozzobon, 2005).

## CONCLUSÕES

Características morfológicas intermediárias mostradas pelos acessos pentaplóides analisados e seus possíveis genitores quanto aos colmos, folhas e inflorescências servem para inferir sobre sua origem, como um guia a fim de justificar a hipótese de surgimento natural dos novos pentaplóides brasileiros (V14285, V14289, V14860), diferentes do biótipo “Comum”, e aproximando-os de *P. urvillei* e do biótipo “Torres”, o que é importante para o conhecimento dos processos evolutivos da espécie e possivelmente segregantes de gerações diferentes de F1, de modo que essa composição de parâmetros serve para a diferenciação, permitindo a inclusão mais adequada em categorias taxonômicas dentro do BAG de *Paspalum*, disponibilizando os dados para o desenvolvimento de outras tecnologias.

Para hibridações intraespecíficas de biótipos de *P. dilatatum*, morfológicamente, características intermediárias foram encontradas, sendo que o comprimento da lâmina da folha bandeira e a relação entre bainha e lâmina da folha bandeira as características que mais contribuíram para diferenciar os acessos (mais de 50%). Os prováveis híbridos interespecíficos pentaplóides (V14253, V14930 e V14949) estudados podem ser resultado da segregação de cruzamentos ocorridos no passado, justificando a variabilidade, e as características intermediárias entre o biótipo sexual “Virasoro” e o apomítico “Uruguaiana”.

Quanto ao acesso heptaplóide atípico, sua descrição e caracterização morfofisiológica, bem como citogenética são dados importantes para compor as informações referentes à variabilidade do grupo Dilatata, relevantes tanto para a conservação quanto para o melhoramento e indicam a possibilidade de perpetuação desse genótipo, uma vez que produz cariopses, muito provavelmente a partir de mecanismo de apomixia.

Conhecer morfofisiologicamente e citogeneticamente acessos oriundos de populações naturais é um recurso importante para compor banco de dados sobre a variabilidade das espécies, tanto para uso na conservação dos recursos genéticos, quanto para sua disponibilização para melhoramento genético de plantas.

# SEÇÃO 3

“Considerações Finais”

*Paspalum* compreende um gênero amplo, com muitos que ocorrem no Brasil, compartilhados com outros países, principalmente no Sul, como Uruguai, Argentina e Paraguai, mas existem espécies, e sobretudo, biótipos endêmicos (de *P. dilatatum* por exemplo), no entanto, tanta diversidade não têm sido contemplada com exemplares nos Bancos de germoplasma, e com tantos eventos que seguem ocorrendo nos habitats dessas plantas, novas coletas e estudos necessitam ser ampliados frequentemente.

O incremento de novos materiais as coleções existentes servem não somente para aumentar o número de informações existentes do gênero, mas para sua conservação no local de onde foram coletados (*in situ*), fora deles (*ex situ*- em bancos ativos de germoplasmas e/ou de sementes) e também, para utilização em programas de melhoramento, tanto das espécies do gênero *Paspalum*, como para espécies afins, inclusive cereais no que tange a herança de apomixia.

Conhecer mais sobre esse gênero e seus grupos envolve pesquisa básica e avançada, seguindo um propósito conservacionista e também de avanços tecnológicos. Tanto que as pesquisas com esse gênero são realizadas em vários países e serve como ponto de integração de muitos países, inclusive onde *Paspalum* não são espécies nativas, pois apresenta valor ecológico, científico e também econômico. Assim, pesquisa com o Gênero sempre contribuem de forma significativa para a ciência e está longe de findar, devido à ampla diversidade genética que apresenta.

Dentre as diferenças, o número de ploidia e as características morfológicas são bem destacados e de grande valia para diferenciar os acessos. Com o intuito de ilustrar a contribuição das características estudadas para diferenciar todos os acessos, uma análise de agrupamento pelo vizinho mais próximo, através de ligação completa, gerou um dendograma

(Figura 23), onde chama atenção justamente, para a formação de grupos e isolamento do biótipo “Virasoro” . .

No dendograma, percebe-se que dos biótipos de *P. dilatatum*, o acesso que representa o biótipo “Virasoro” é o que se encontra mais afastado do grupo, há a formação de um grupo composto pelo biótipo “Torres” (V14401) com seus possíveis derivados (V14860, V14285 e V14289), bem como, a formação de grupos compostos por acessos comparados dessa forma, no presente trabalho.

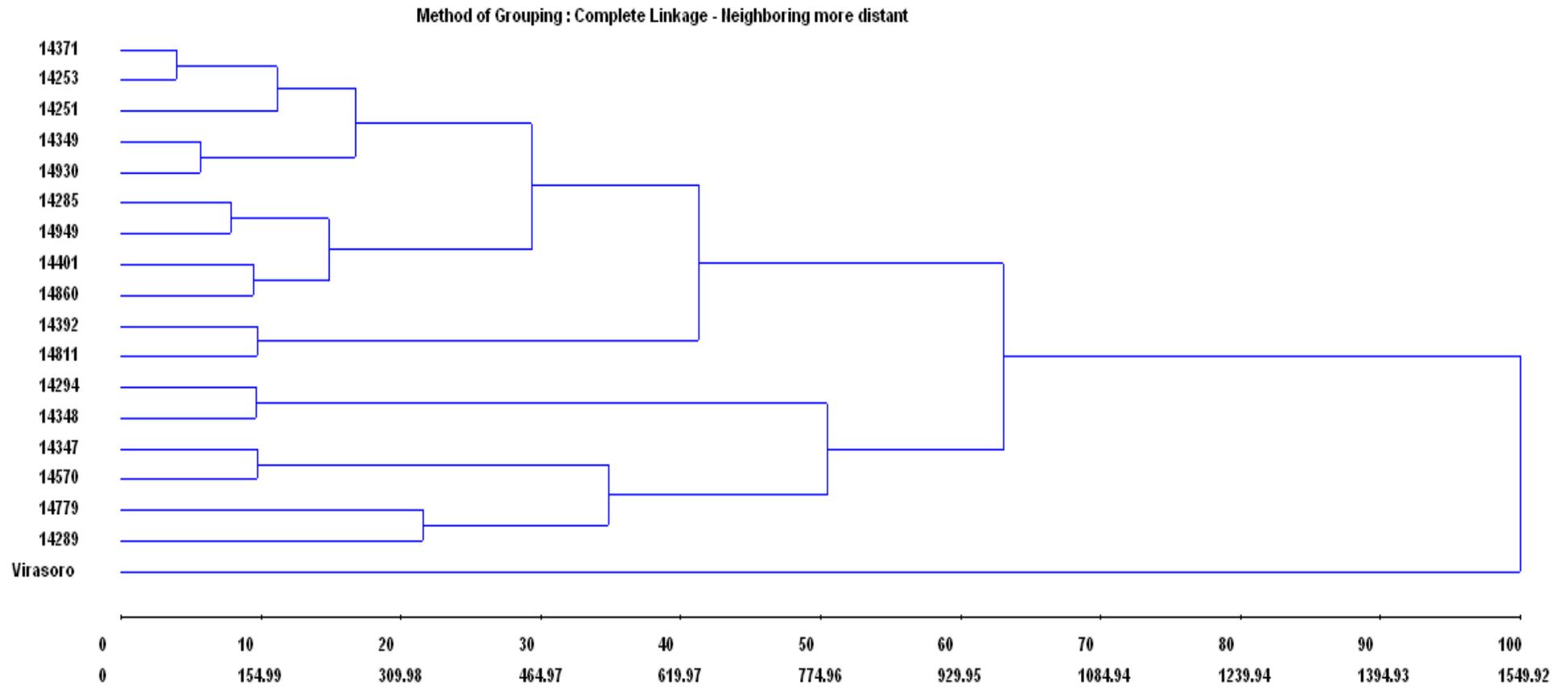


Figura 23. Dendrograma de agrupamento através do Método de Ligação Completa- pelo vizinho mais distante de todos os acessos biótipos de *P. dilatatum* avaliados, onde claramente o biótipo Virasoro se distancia dos demais

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUADO-SANTACRUZ, G.A.; CRUZ, Q.R.; HERNÁNDEZ, J.L.P.; CABRERA, O.G.; GARCIA-MOYA, E. Manejo Biotecnológico de Gramíneas Forrajeras. **Técnica Pec. Mex.**, v.42, n.2, p.261-276, 2004.
- ARAÚJO, A. A. **Principais gramíneas do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Sulina, 1971. 224 p.
- BATISTA, L.A. R. Representatividade taxonômica e caracterização morfológica e agronômica dos acessos do Banco Ativo de Germoplasma de *Paspalum*. (Palestra e Workshop sobre plantas forrageiras). CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS 3., 2005, Gramado. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo; Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2005. 1 CD-ROM.
- BENNETT, H.W. Pasto Dallis, pasto Bahia y pasto Vasey. In: HUGHES, H.D.; HEATH, M.E.; METCALFE, D.S. **Forrajes**. 6.ed. México: Compañía Editorial Continental, 1976, p.315-319.
- BURSON, B.L. Cytogenetics of *Paspalum urvillei* X *Paspalum intermedium* and *Paspalum dilatatum* X *Paspalum paniculatum*. **Crop Science**, v.19, p.534-538, 1979.
- BURSON, B.L. Genome relationship between tetraploid and hexaploid biotypes of dallisgrass, *Paspalum dilatatum*. **Botanical Gazette**, n.152, v.2, p.219-223, 1991.
- BURSON, B. L. Apomixis and sexuality in some *Paspalum* species. **Crop Science**, Madison, v.37, n.4, p. 1347-1351, 1997.
- BURSON, G.L.; VOIGT, P.W.; EVERS, G.W. Cytological, reproductive behaviour, and forage potential of hexaploid dallisgrass biotypes. **Crop Science**, v.31, p.636-641, 1991.
- CAPONIO, I.; QUARÍN, C.L. Intra and interspecific hybridization between Dallisgrass and Vaseygrass. **Crop Science**, v.30, p. 362-364, 1990.
- CASA, A.M.; MITCHEL, S.E.; LOPES, C.R. *et al.* RAPD Analysis reveal genetic variability among sexual and apomitic *Paspalum dilatatum* Poiré biotypes. **The Journal of Heredity**, v.93, n.4, p.300-302, 1996.
- CARÁMBULA, M. *Paspalum dilatatum*: características agronômicas y su rol en las pasturas. **Revista Argentina de Producción Animal**, v.2, p.68-94, 2002.
- COSTA, D.I. da; SCHEFFER-BASSO, S.M. Caracterização morfofisiológica e agronômica de *Paspalum dilatatum* Poir. biótipo Virasoro e *Festuca arundinacea* Schreb. 1. Desenvolvimento morfológico. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.32, n.5, Viçosa, sep./oct.2003.

- CRUZ, C.D. **Programa Genes**: análise multivariada e simulação. Viçosa: ed. UFV, 2006. 175p.
- FERNANDES, M.I.B.M.; BARRETO, I.L.; SALZANO, F.M.; SACCHET, A.M.O.F. Cytological and evolutionary relationships in Brazilian forms of *Paspalum* (Gramineae). **Caryologia** v.27, p.455-465, 1974.
- FERRER, M.E.; CLAUSEN, A.M. Variabilidad genética en los recursos vegetales de importancia para la agricultura del Cono Sur. In: BERETTA, A. *et al.* (org.) Estrategia en recursos fitogenéticos para los países del Cono Sur. Montevideo, **PROCISUR**, p.43-58, 2001.
- GARCIA, M.V.; ARTURI, M.J.; ANSÍN, O.E. Potencial de mejora en caracteres cuantitativos de *Paspalum dilatatum* Poir. en poblaciones del noroeste bonaerense. **Revista de la Facultad de Agronomía**, La Plata, v.2, n.104, p.105-111, 2000/2001.
- GAUER, L.; ALBARUS, M.H.; CAVALLI-MOLINA, S. **Variabilidade isoenzimática em progênes de biótipos apomíticos de *Paspalum dilatatum* (Poaceae)**. Disponível em: < [http://www.ufsm.br/ccr/revista/resumos/rv315/rv315\\_1314.html](http://www.ufsm.br/ccr/revista/resumos/rv315/rv315_1314.html) >. Acesso em dezembro de 2002. p.799-804.
- GAUER, L.; CAVALLI-MOLINA, S. Apomixia: um método alternativo para a produção de sementes em plantas. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.6, n.1, p.157-170, 2000.
- HARLAN, J.; WET, J.M.J. On Ö Winge and Prayer: The origins of polyploidy. **The Botanical Review**, v.41, n.4, p.361-390, 1975.
- HICKENBICK, M.C.M.; FLORES, A.I.P.; MOLINA, S.C.; WEBER, L.H.; KERSTING, A.C.; COSTA, L.S.; CHIES, T.T.S.; ALBARUS, M.H. Mode of reproduction and seed production in *Paspalum dilatatum* Poir. Virasoro biotype – Dilatata Group (Gramineae). **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.15, p.85-102, 1992.
- KALTCHUK-SANTOS, E.; BONADESE-ZANETTINI, M.H. Androgênese: um rota alternativa no desenvolvimento do pólen. **Ciência Rural**, v.32, n.1, p.165-173. 2002.
- KLASTORNICK, M.; SPERANZA, P.; GALANTE, L.; *et al.* **Nuevos biótipos de *Paspalum dilatatum***. Disponível em: <[http://ceres.agro.unpl.edu.ar/revista/t104\\_105\\_111.htm](http://ceres.agro.unpl.edu.ar/revista/t104_105_111.htm)>. Acesso em 22 de dezembro de 2002.
- 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, p.56-61, 2005.
- MORENO, J.A. **Clima do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria de Agricultura, 1961. 41p.

- MILLOT, J.C. *Bromus auleticus*: una nueva espécie domesticada. In. Los Recursos filogenéticos del genero Bromas en el Cono Sur/ **PROCISUR**, Montevideo, 2001, p.45-50.
- MIZ, R. B.; SOUZA-CHIES, T.T. Genetic relationships and variation among biotypes of dallisgrass (*P. dilatatum* Poir.) and related species using random amplified polymorphic DNA markers. **Genetic Resouces and Crop Evolutions**, v.53, p.541-552. 2006.
- QUARÍN, C.L.; POZZOBON, M.T.; VALLS, J.F.M.; Cytological and reproductive behaviour of diploid, tetraploid and hexaploid germoplasm accessions of a wild forage grass: *Paspalum compressifolium* **Euphytica**, v. 90, p.345-349, 1996.
- QUARÍN, C.L.; VALLS, J.F.M.; URBANI, M.H. Cytological and reproductive behaviour of *Paspalum atratum*, a promising forage grass for the tropics. **Tropical Grassland**, vol. 31, p.114-116, 1997.
- OLIVEIRA, C.R. O gênero *Paspalum* L., grupo Plicatula (Poaceae: Paniceae), no Brasil. (**Tese de Doutorado**). Universidade Estadual de Campinas (Unicamp). 2004. 385 p.
- PAGLIARINI, M.S.; Avanços no conhecimento meiótico em espécies brasileiras de *Paspalum*. (Palestra em Workshop sobre plantas forrageiras). CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS 3., 2005, Gramado. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo; Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2005. 1 CD-ROM.
- PAGLIARINI, M.S.; POZZOBON, M.T. Meiose em vegetais: um enfoque para a caracterização de germoplasma. In. Peñaloza, A. del P. de S. II- Curso de Citogenética aplicada a Recursos Genéticos Vegetais. **Documentos 154**, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília, 2005. p.24-41.
- PEÑALOZA, A.P.S.; CÔRTEZ, A.L.; POZZOBON, M.T.; SANTOS, S.; RUA, G.H.; VALLS, J.F.M. Unusual chromosome numbers in *Paspalum* L. (Poaceae, Paniceae) from Central Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.7, n.2, p.399-406, 2008.
- PEREIRA, J.; SABBÍA, V.; FAJARDO, A.; SPERANZA, P.R. **Diversidad genética y relaciones filogenéticas detectadas por isoenzimas y RAPD en gramíneas nativas del genero *Paspalum***. Disponível em: <[http://ceres.agro.unlp.edu.ar/revista/t104\\_105\\_111.htm](http://ceres.agro.unlp.edu.ar/revista/t104_105_111.htm)>. Acesso em 22 de dezembro de 2002.
- POZZOBON, M.T.; VALLS, J.F.M. Caracterização citogenética em acessos de germoplasma de espécies brasileiras de *Paspalum* (Gramineae). In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBRE MELHORAMENTO GENÉTICO DE *PASPALUM*, 1987, Nova Odessa, **Anais ...** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1987. p.73-79.
- POZZOBON, M.T.;VALLS, J.F.M.;SANTOS, S. dos Contagens cromossômicas em espécies brasileiras de *Paspalum* L. (Gramineae). **Acta Botanica Brasileira**, v.14, n.2, p.151-162, 2000.

- RIVAS, M. Modo de reproducción y estructura genética de poblaciones de *Bromus auleticus* Trinius ex Nees (Poaceae) I. biología reproductiva y variación fenotípica. In. Los Recursos filogenéticos del genero *Bromus* en el Cono Sur/ **PROCISUR**, Montevideo, 2001, p.51-58.
- SCHEFFER-BASSO, S. M.; RODRIGUES, G.L.; BORDIGNON, M.V. Caracterização Morfofisiológica e Anatômica de *Paspalum urvillei* (Steudel). **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa MG, v.31, n.4, p.1674-1679, jul./ago. 2002.
- SCHIFFINO-WITTMANN, M.T.; DALL'AGNOL, M. Gametas não reduzidos no melhoramento de plantas. **Ciencia Rural**, v.31, n.1, p. 169-175, 2001.
- SCHRAUF, G. **Mejoramiento de pasto miel (*Paspalum dilatatum* Poir.): a) Uso de hibridaciones interespecíficas. b) Bases para la aplicación de ingeniería genética.** Disponível em : < <http://www.rec.uba.ar/Programacion%2098-00/htm/jg08.Htm>>. Acesso em 22 de dezembro de 2002.
- SKINNER, R.H.; NELSON, C.J. Elongation of the grass leaf and its relationship to the phyllochron. **Crop Science**, v.35, p.4-10, 1995.
- SILVA, G.M.; MAIA, M.S.; MORAES, C.O.C. Efeito da população de plantas sobre o rendimento e a qualidade de sementes de cevadilha-vacariana (*Bromus auleticus* Trinius) In. Los Recursos filogenéticos del género *Bromus* en el Cono Sur/ **PROCISUR**, Montevideo, 2001, p.77-80.
- SOUZA-CHIES, T.T.; CAVALLI-MOLINA, S. Variability in seed production and germination in *Paspalum*- Dilatata group (Gramineae). **Revista Brasileira de Biologia**, v.55, n.1, p.127-139, 1995.
- SPERANZA, P.; **Gametos 2n y partenogénesis haploide en *Paspalum dilatatum*.** Disponível em: < [http://ceres.agro.unlp.edu.ar/revista/t104\\_105\\_111.htm](http://ceres.agro.unlp.edu.ar/revista/t104_105_111.htm)>. Acessado em 22 de dezembro de 2002.
- SPERANZA, P.R.; VAIO, M.; MAZZELLA, C. Karyotypes of two cytotypes of *Paspalum quadrifarium* Lam. (Poaceae). An alternative technique for small chromosomes in plants. **Genetics and Molecular Biology**, v.26, n.4, p.499-503, 2003.
- SPERANZA, P.R. **Evolutionary patterns in the Dilatata Group (*Paspalum*, POACEAE) a polyploidy/agamic complex.** 2005. (Tese de Doutorado). University of Florida, 2005, 119 p.
- STEUD, E.G. **Plantarum Glumacearum.** Pars I, Gramineae. Stuttgart, J.B. Metzler, 1855. 473p.
- TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEDROZO, C.A.; PEREIRA, A.V. Viabilidade do grão de pólen de acessos de capim-elefante, milheto e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milheto) **Acta Scientiarum Biological Science**. Maringá, v.28, n.1, p.7-12, jan./mar, 2006.

- TEDESCO, S.B.; BATTISTIN, A.; VALLS, J.F.M. Diâmetro dos grãos de pólen e tamanho dos estômatos em acessos diplóides e tetraplóides de *Hemarthria altissima* (Poiret) Stapf & Hubbard (Gramineae). **Ciência Rural**, Santa Maria, v.29, n.2, p.273-276, 1999.
- USBERT FILHO, J.A. Melhoramento genético e perspectiva de lançamento de cultivares de gramíneas forrageiras no Brasil. **Revista Brasileira de Sementes**, v.3, n.1, p.135-143, 1981.
- VAIO, M.; GUERRA, M.; SPERANZA, P.; VALLS, J.F.M.; MAZZELLA, C. Citogenética molecular en el género *Paspalum* com énfasis en el grupo Dilatata. (Palestra e Workshop sobre plantas forrageiras). CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS 3., 2005, Gramado. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo; Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2005. 1 CD-ROM.
- VALLS, J.F.M. Impacto do conhecimento citogenético na taxonomia de *Paspalum* e *Axonopus* (Gramineae). **Tópicos atuais em Botânica**, Brasília, p.57-59, 1987.
- VALLS, J.F.M. Melhoramento de plantas forrageiras nativas, com ênfase na situação do gênero *Paspalum*. (Palestra e Workshop sobre plantas forrageiras). CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS 3., 2005, Gramado. **Anais...** Passo Fundo: Embrapa Trigo; Sociedade Brasileira de Melhoramento de Plantas, 2005. 1 CD-ROM.
- 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*. São Paulo, Nova Odessa: **Anais...**Instituto de Zootecnia. 1987. p 15-21.
- VENUTO, B.C.; BURSON, B.L.; HUSSEY, M.A.; REDFEARM, D.D.; WYATT, W.E.; BROWN, L.P. Forage Yield, Nutritive Value, and Grazing Tolerance of Dallgrass Biotypes. **Crop Science**, n.43, p.295-3001, 2003.
- WEST, N.E. **Esquemas para estudios autoecológicos de hierbas forrajeras de pastizales** (tradução espanhol). XX ASSEMBLEA ANUAL DE LA AMERICAN SOCIETY OF RANGE MANEGEMENT, Washington, 1967, p.46-50.