

**WILSON MANARA**

**ENGENHEIRO-AGRÔNOMO**

**Professor Assistente - Departamento de Fitotecnia  
Centro de Ciências Rurais  
Universidade Federal de Santa Maria - Santa Maria - RS**

**ASPECTOS PRÁTICOS DA CITOGÊNÉTICA DO  
CAPIM GORDURA [*Melinis minutiflora* Beauv.].**

**Orientador : PROF. DR. ALMIRO BLUMENSCHEN**

Dissertação apresentada à Escola Superior  
de Agricultura "Luiz de Queiroz", da  
Universidade de São Paulo, para obtenção do  
título de "Mestre"

**P I R A C I C A B A**

**Estado de São Paulo**

**1 9 7 3**

OFEREÇO

A meus pais

A minha esposa

## AGRADECIMENTOS

Agradeço às seguintes pessoas e instituições que colaboraram para a realização deste trabalho:

- ao Prof. Almiro Blumenschein, pela orientação, sugestões e ensinamentos, além das facilidades concedidas;

- aos Profs. Gerhard Bandel e Margarida R. L. de Aguiar, pelas sugestões e estímulo;

- ao Prof. Paulo Sodero Martins, pelo auxílio na fase inicial;

- aos Eng<sup>os</sup> Agr<sup>os</sup> Natal Antonio Vello e Eloah Maria P. de Oliveira, pelo auxílio na identificação das variedades e sugestões;

- ao Prof. Derblay Galvão, Decano do Centro de Ciências Rurais da UFSM, que facilitou meu afastamento para a realização deste curso;

- aos Profs. Osmar Souza dos Santos e Roberto Ritter, colegas de disciplina do Departamento de Fitotecnia da UFSM, pela solidariedade demonstrada;

- ao Prof. Solon Carvalho, pelo apoio e estímulo constante;

- ao Prof. Cyro Paulino da Costa, pela ajuda na versão do resumo e conclusão;

- à todos os docentes do Instituto e Departamento de Genética da ESALQ, pelos valiosos ensinamentos;

- ao Sr. Leslie Sbrissa, laboratorista do Departamento de Genética, pelo auxílio técnico e presteza no atendimento das solicitações do material necessário aos trabalhos de laboratório;

- ao Sr. José Broglio, pelos trabalhos de fotografia e ao Sr. Walter Bortolazzo, pela confecção do mapa das regiões de coleta do material estudado, bem como a todos os demais funcionários do Departamento de Genética da ESALQ, pela boa vontade demonstrada;

- à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" e à Universidade Federal de Santa Maria, pela oportunidade concedida para a realização deste curso;

- à Coordenação do Aperfeiçoamento do Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos.

## ÍNDICE

	Pág.
LISTA DE TABELAS E FIGURAS .....	vi
1. INTRODUÇÃO .....	1
2. REVISÃO DA LITERATURA .....	4
2.1. Número básico e poliploidia em gramíneas .....	4
2.2. Anormalidades meióticas em gramíneas, suas causas e influências na fertilidade .....	6
2.3. O gênero <u>Melinis</u> .....	11
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	14
3.1. Determinação do número somático de cromossomos .....	16
3.2. Meiose em células mães de pólen .....	17
3.3. Fertilidade do pólen .....	19
4. RESULTADOS .....	20
4.1. Número somático de cromossomos .....	20
4.2. Estudo da meiose em células mães de pólen .....	21
4.3. Fertilidade do pólen e sua relação com o comportamen- to meiótico .....	27
5. DISCUSSÃO .....	34
6. RESUMO E CONCLUSÕES .....	41
7. SUMMARY AND CONCLUSIONS .....	43
8. BIBLIOGRAFIA .....	45

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Tabela nº	Pág.
I - Variedades, procedência e número de clones estudados ....	14
II - Números somáticos de cromossomos em pontas de raízes .....	20
III - Comportamento dos cromossomos das variedades estudadas em diacinese e metáfase I .....	22
IV - Segregação cromossômica na primeira e segunda divisões da meiose .....	25
V - Dados da fertilidade do pólen, pelo método da coloração .....	28
Figura nº	
1 - Locais de coleta dos clones .....	15
2 - Metáfase mitótica em pontas de raízes ( $2n = 36$ ) .....	29
3 - Diacinese em célula mãe de pólen com pareamento anormal (1 IV, 16 II) .....	29
4 - Diacinese em célula mãe de pólen com pareamento anormal (1 IV, 1 III, 14 II, 1 I) .....	30
5 - Diacinese em célula mãe de pólen com 18 II .....	30
6 - Anáfase I em célula mãe de pólen com segregação normal .....	31
7 - Anáfase II em célula mãe de pólen com segregação normal .....	31
8 - Anáfase I em célula mãe de pólen com segregação anormal (cromossomos retardatários) .....	32
9 - Anáfase II em célula mãe de pólen com segregação anormal (cromossomos retardatários) .....	32
10 - Anáfase I em célula mãe de pólen mostrando ponte .....	33
11 - Tétrada de células mostrando micronúcleos .....	33

## 1. INTRODUÇÃO

Pouco progresso tem sido registrado na obtenção e uso de material melhorado em plantas forrageiras, se comparado com outras espécies. No passado o criador contava com extensas pastagens naturais, porém nos últimos anos, ele depende mais de pastagens cultivadas. O criador no princípio, demonstrou certa resistência à aquisição de sementes caras de plantas forrageiras, por considerar que as forragens eram cultivos de baixo valor não justificando por isso maior atenção. Por esse motivo, menos esforços foram dedicados ao melhoramento de forrageiras do que de outras espécies que pareciam ser mais interessantes, como cereais, algodão, fumo, linho, e mais recentemente a soja. Com o reconhecimento do verdadeiro valor das gramíneas e leguminosas forrageiras, esta situação está mudando rapidamente. Em alguns países como Estados Unidos e Canadá, maiores esforços estão sendo dispendidos para melhorar a capacidade hereditária das forrageiras visando a produção econômica de alimento para o gado (POHELMAN, 1965).

O melhoramento, no entanto, não pode prescindir de uma série de estudos básicos, especialmente aqueles referentes a citologia e genética do material a ser melhorado. Tais estudos fornecem informações sobre o número de cromossomos, herança de caracteres, relacionamento filogenético, fertilidade e produção de sementes, modo de reprodução, nível de ploidia, além de permitir a formulação de hipóteses sobre o processo evolutivo de um determinado grupo.

No Brasil, as pastagens cultivadas são constituídas em sua maioria de gramíneas, e estão localizadas principalmente nas regiões Centro e Sul do país. As plantas cultivadas no Brasil Central, são quase que exclusivamente gramíneas perenes com predominância de 3 espécies: capim gordura (Melinis minutiflora Beauv.), capim jaraguá (Hyparrhenia rufa) e capim colônia (Panicum maximum), havendo predominância do primeiro sobre os demais (ROSTON, 1970).

Com exceção de trabalhos iniciados recentemente pelo Departamento de Genética da ESALQ, não se tem conhecimento de outros trabalhos sobre o melhoramento genético das variedades de M. minutiflora no Brasil.

Em gramíneas forrageiras cultivadas os requisitos mais importantes, segundo WHYTE, MOIR e COOPER (1962), são a eficiente produção de sementes e o rápido estabelecimento de "seedlings" vigorosos.

Em M. minutiflora segundo OTERO (1961) e HAVARD-DUCLOS (1967), a reprodução é geralmente feita através de sementes, pois estas possuem bom poder germinativo e constituem um processo bem mais econômico requerendo ainda menores cuidados do que a propagação por via vegetativa. A importância da produção de sementes selecionadas desta espécie, face a perspectiva de procura continuada foi recentemente referida (REVISTA AGROCE-RES, 1973).

Uma produção regular de sementes depende, principalmente de um pareamento e uma segregação normal dos cromossomos na meiose.

Os dados da literatura, quanto a citologia de M. minutiflora, são muito escassos limitando-se apenas a contagem do número somático de cromossomos de algumas espécies.

Considerando-se a importância desta gramínea como forrageira e a deficiência de informações com respeito a estudos citológicos das



variedades cultivadas principalmente no Brasil Central, o presente trabalho tem os seguintes objetivos:

1. Determinar o número cromossômico de variedades da espécie em tecidos meristemáticos de pontas de raízes.
2. Estudar o pareamento e segregação dos cromossomos na meiose.
3. Estimar a fertilidade do pólen pelo método da coloração e sua possível relação com o comportamento meiótico.

## 2. REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1. Número básico e poliploidia em gramíneas

Segundo BOOTH (1964), o atual número cromossômico para as espécies de gramíneas, é de modo geral muito maior do que o derivado do dobramento do número básico. É muito comum encontrar no gênero Poa, uma variação no número cromossômico de  $2n=24$  até mais de 90. A espécie Andropogon barbinodis possui  $2n=180$  cromossomos, no entanto, isto não é comum em plantas que produzem sementes. Um dos números cromossômicos mais baixos registrados em gramíneas é  $2n=8$ , na espécie Airopsis tenella. Espécies com um conjunto haploide de 7 cromossomos, são frequentes, números mais baixos do que estes são raros.

Para se ter uma idéia da grande variação no número básico de cromossomos em gramíneas, CARNAHAN e HILL (1961), fornecem os seguintes dados: em 9 espécies os números somáticos de cromossomos são múltiplos de 4; em 413, múltiplos de 5; em 128, múltiplos de 6; em 572, múltiplos de 7; em 11, múltiplos de 8; em 290, múltiplos de 9; em 48, múltiplos de 11; em 6, múltiplos de 13; em 9, múltiplos de 17; em 18, múltiplos de 19; e em 2, múltiplos de 23.

FLOVIK (1938), sugeriu que 5, pode ser o número básico para toda a família Gramineae e especialmente para a tribo Androgoneae.

Um fenômeno extremamente comum e muito explorado principalmente no Reino Vegetal é a poliploidia. A importância da poliploidia na

formação de novas espécies, é amplamente reconhecida e muitos dos poliploides existentes são mais geneticamente interconectados através de hibridação do que surgidos independentemente. A hibridação e anfidiploidia são etapas decisivas na evolução de espécies poliploides.

Embora poliploides híbridos sejam constantes e possam ser igualmente muito antigos no sentido geológico, STEBBINS (1956), os ancestrais diploides de muitas dessas espécies ainda existem e podem ser reconhecidos por sua morfologia externa. Uma vez identificados os supostos ancestrais, o curso evolutivo (hibridação e dobramento do número cromossômico) pode ser repetido em casa de vegetação. Esta situação embora embaraçosa para o taxonomista, é uma grande arma para o evolucionista que tem suficiente paciência e perspicácia para analisar seus problemas.

STEBBINS (1957), estimou que nas plantas superiores a poliploidia está presente em cerca de 30-35% das espécies. Especificamente para a família Gramineae, STEBBINS (1956), afirma que pelo menos 70% são poliploides, enquanto que CARNAHAN e HILL (1961), elevam esta porcentagem para 80.

O aumento do número cromossômico, por adição de um ou mais genomas ou parte de genomas, é de suma importância na evolução das gramíneas, sendo que a grande maioria dos gêneros dessa família contem espécies com número cromossômico múltiplo do número básico. BOOTH (1964), cita os gêneros Andropogon com números somáticos de 20, 40, 45, 50, 60, 70, 120 e 180, Agropyron com  $2n = 14, 28, 42, 56, 70$  e vários números aneuploides e Triticum, com  $2n = 14, 28$  e 42 são comuns.

Poliploides com altos níveis de ploidia, podem dar origem a poliploides com níveis de ploidia mais baixo como foi verificado em certas espécies de Saccharum e Poa por algumas falhas na fertilização, mas em regra geral o processo inverso é mais comum. Espécies diploides muito

raramente são provenientes de tetraploides embora De WET (1971), considere que o restabelecimento da diploidia em um complexo poliploide no qual os pais diploides já tenham sido extintos, contribua significativamente para a evolução posterior. Nova atividade evolutiva, desse modo, é possível ao nível diploide e a troca entre os níveis de ploidia, aumenta a variabilidade também ao nível tetraploide. Embora a evolução divergente tenha lugar ao nível poliploide sem haploidização (diploidização), a evolução ao nível diplóide permanece mais eficiente. Esta reversão à condição diploide foi recentemente observada com a substituição dos pais tetraploides de Dischantium aristatum por formas diploides ao longo de várias milhas, em Pretoria na África do Sul.

A classificação dos poliploides naturais, é usualmente baseada em quatro critérios principais: semelhanças morfológicas com as espécies diploides, comportamento e número cromossômico, presença ou ausência de razões tetrassômicas e fertilidade ou esterilidade do diploide do qual o poliploide foi derivado.

Com base nesses critérios, STEBBINS (1947), descreveu quatro categorias de poliploides: autopoliploides, alopóliploides segmentares, alopóliploides verdadeiros ou genômicos e autoalopoliploides sendo que todos eles, envolvem a duplicação de um conjunto inteiro de cromossomos.

## 2.2. Anormalidades meióticas em gramíneas, suas causas e influências na fertilidade

De acordo com CARNAHAN e HILL (1961), nas espécies diploides de gramíneas, especialmente as anuais e de autofecundação, são pouco frequentes irregularidades meióticas. Esta afirmativa também é verdadeira para a maioria dos anfídiploides porém, nos autopoliploides, alopóliploides segmentares e poliploides de categorias superiores de gramíneas, a

meiose é caracterizada pela ocorrência frequente de associações ímpares, univalentes e trivalentes, retardatários em anáfase e telófase, não disjunção numérica e micronúcleo nas tétradas. Os autores salientam ainda que variações na meiose, entre certas plantas de uma espécie, e entre células mães de pólen, são tão grandes que tornam difícil estabelecer uma norma para a espécie, embora os citologistas na maioria das vezes, examinem as células mais regulares para suas interpretações. Irregularidades na meiose, no entanto, podem não necessariamente indicar autopoliploidia. Em espécies de gramíneas apomíticas como Heteropogon contortus, Hyparrhonia hirta, Paspalum malacophilum, P. secans e outros, a meiose é irregular.

SWANSON, MERZ e YOUNG (1969), referem-se que citologicamente, os autopoliploides são caracterizados e identificados, pela presença de multivalentes na metáfase I da meiose. Os 3 cromossomos homólogos de um autotriploide, pareiam uns com os outros (embora dois a dois, em qualquer ponto ao longo do cromossomo) para dar unidades trivalentes; em autotetraploides, resultaria unidades quadrivalentes. O número de multivalentes de célula para célula, não é constante, e vai depender do grau de sinapse e da formação de quiasma durante a prófase da meiose.

Dentre os muitos organismos estudados na família Gramineae, pode-se constatar diferentes modos de pareamento dos cromossomos. Segundo RILEY e LAW (1965), o pareamento pode ter lugar entre cromossomo homólogos e pareamento não específico, entre regiões que têm similaridade em sua atividade genética. Existem genes que influem no pareamento dos cromossomos os quais são chamados genes assinápticos, e outros que asseguram a manutenção do pareamento, chamados de assinápticos. O caso mais conhecido de assinapse, determinado por um gene de herança simples, ocorre em Zea mays, e foi atribuído à homoziguidade do alelo recessivo as. Genes

assinápticos, são comuns em gramíneas e provocam distúrbios na meiose. Experimentos com Secale cereale e Triticum aestivum, demonstraram que uma alteração no sistema normal de reprodução, provoca a quebra do sistema de regulação gênica balanceada do pareamento meiótico. Secale cereale (espécie de fecundação cruzada) quando submetido a autofecundação, diminui significativamente a frequência de quiasmas. No T. aestivum (espécie de autofecundação) a fecundação cruzada, levou a um aumento de univalentes na metáfase I. Os dados indicaram que o controle do pareamento meiótico, é devido a ação de poligenes.

SEARS e OKAMOTO (1958) e RILEY e CHAPMAN (1958), mostraram que o pareamento e segregação em poliploides, estão de alguma forma sob controle genético. Trabalharam com T. aestivum que é um hexaploide com  $2n = 42$  cromossomos, possuindo três genomas na sua constituição, A, B e D, derivados de espécies diploides intimamente relacionados pela similaridade entre seus cromossomos. Apesar disso, na meiose, só ocorre a formação de bivalentes originando gametas com 21 cromossomos. Entretanto, a perda de um gene dominante situado no braço longo do cromossomo 5B, causa uma alteração na meiose fazendo com que haja a formação de multivalentes. Desta forma, embora haja homologia parcial entre os três genomas, a presença do gene no cromossomo 5B, impede a formação de multivalentes e o pareamento é limitado somente entre os cromossomos homólogos, através de um controle genético do pareamento.

Uma das principais consequências das anormalidades meióticas, é a redução da fertilidade das espécies. Os autopoliploides são em geral altamente estéreis, pois a ocorrência de associações multivalentes e a presença de univalentes nestes, leva a uma segregação anormal dos cromossomos na meiose dando origem a gametas com excesso ou falta de cromossomos.

Estudos citológicos de muitos autopoliploides produzidos artificialmente têm mudado as opiniões anteriormente formadas sobre a causa de sua esterilidade (STEBBINS, 1947).

DARLINGTON (1937), considerou que a esterilidade dos autopoliploides é devida a formação de multivalentes os quais distribuem-se irregularmente na anáfase da meiose, produzindo assim gametas com combinações cromossômicas anormais.

MYERS (1943), concluiu que a reduzida fertilidade em tetraploides de Dactylis glomerata, os quais comportam-se citologicamente como autotetraploides, é devida em grande parte, a irregularidades meióticas mas que tais irregularidades não dependem da segregação irregular dos multivalentes. A variância entre clones na frequência de univalentes em metáfase I foi positivamente correlacionada com aquela de tétradas com micronúcleos mas não com a frequência de quadrivalentes.

Segundo BURNHAM (1964), cromossomos univalentes podem ir para um dos polos sem se dividirem na primeira divisão meiótica, dividindo-se normalmente na segunda divisão; mas existe uma forte tendência dos univalentes ficarem atrasados na primeira divisão. Por outro lado, eles podem dividir-se na primeira divisão e apresentarem-se como retardatários na segunda. Em qualquer um dos casos, os cromossomos retardatários, normalmente não são incluídos nos núcleos resultantes da meiose, aparecendo como micronúcleos nas tétradas. Um univalente, o qual passa para um dos polos sem sofrer divisão, provavelmente irá se dividir normalmente na segunda divisão. Quando ocorre atraso, normalmente nenhum núcleo recebe o cromossomo univalente, resultando em esterilidade do pólen.

Segundo STEBBINS (1947), pelo menos aparentemente, 3 causas diferentes provocam esterilidade em autotetraploides: 1) distribuição irregular dos cromossomos causada por segregação desigual dos multivalentes;

2) distribuição irregular causada por anormalidades meióticas de natureza fisiológica, presumivelmente de controle genético; 3) esterilidade genética-fisiológica de natureza não explicada, mas não associada a irregularidades meióticas. A relativa importância destas 3 causas varia com a tetraploidia em questão, mas na maior parte dos exemplos a primeira é a menos importante.

Duas formas de esterilidade de híbridos foram reconhecidas por DOBZHANSKY (1941) e STEBBINS (1957), genética e cromossômica.

Segundo STEBBINS (1971), teoricamente a esterilidade genética foi definida como devida a interações desarmoniosas dos genes parentais, os quais dão origem a órgãos sexuais anormais e/ou comportamento meiótico anormal independente da homologia ou não dos cromossomos. A esterilidade cromossômica, por outro lado, foi referida como devida a segregação anormal de cromossomos para os gametas ou combinações anormais desequilibradas de segmentos cromossômicos, produzidos por permuta entre bivalentes formados por cromossomos parcialmente homólogos. O critério proposto para separar a esterilidade genética da cromossômica é o teste da poliploidia. Se o dobramento do número cromossômico eliminar parcial ou totalmente a esterilidade do híbrido, esta é dita ser cromossômica, porém se permanecer, é considerada genética.

Em geral, quando o número cromossômico de um híbrido interespecífico estéril é dobrado, cada cromossomo fica representado duas vezes e a meiose pode mostrar pareamento e fertilidade normais, a menos que ocorra incompatibilidade fisiológica.

Segundo STEBBINS (1947), em alopoliploides, a ocorrência de pareamento heterogenético usualmente causa esterilidade, mas sua ausência não assegura fertilidade.



A esterilidade devida a interação de fatores genéticos nos complexos processos de desenvolvimento, necessários para a produção de sementes (DOBZHANSKY, 1941) pode se impor sobre a esterilidade cromossômica, em híbridos entre espécies distantemente relacionadas e somente a última pode ser removida por dobramento do número cromossômico.

### 2.3. O gênero Melinis

Segundo CHIPPIINDALL (1955), existem aproximadamente 20 espécies do gênero Melinis, todas confinadas à África com exceção de M. minutiflora. A maioria das espécies são muito afins tornando muitas vezes difícil traçar os limites entre elas. Em muitas ocorrem duas formas, uma com aristas nas espiguetas e outra com espiguetas sem aristas. A forma sem aristas é usualmente referida como "forma mítica" ou "forma inermis". Levando em conta este fato, em M. minutiflora, a forma sem aristas foi descrita como uma variedade distinta, var. inermis Hack.

M. minutiflora, é uma espécie originária da África Tropical e provavelmente do Brasil, onde se acha muito disseminada e constitui a base das pastagens brasileiras (HAVARD-DUCLOS, 1967).

OTERO (1961), refere-se que esta gramínea cresce espontaneamente nos Estados do Brasil Central principalmente em Minas Gerais, Rio de Janeiro e São Paulo mas também é utilizada em outros Estados da União (Norte e Nordeste). É mais utilizada para pastagens, mas serve também para corte, feno e ensilagem. No Brasil, o mesmo autor reconhece 6 variedades as quais são:

- a) Capim Gordura Roxo, é a variedade de mais amplo cultivo;
- b) Capim Gordura Cabelo de Negro, é a mais recomendada para formar pastagens. Tem porte e folhas menores e entrenós curtos sendo

muito resistente ao pisoteio e mais pegajosa do que as outras variedades;

c) Capim Gordura Branco, possui folhas verde claro, inflorescências de cor clara e pêlos curtos na região dos nós do colmo, enquanto que as outras variedades têm folhas verde escuro e pêlos longos nos nós. Menos pegajosa, mais sensível ao frio e de composição química inferior às outras variedades;

d) Capim Gordura Francano ou Franqueiro, mais vigoroso e desenvolvido com inflorescências maiores e espículas providas de aristas mais longas do que as outras variedades. Recomendado para corte pelo seu grande rendimento. Tem este nome por existir em grande quantidade em Franca (S.P.);

e) Capim Gordura Rôxo variedade inerme, muito semelhante a variedade Rôxo tendo porém as espículas desprovidas de aristas.

f) Capim Gordura Cabelo de Negro sem aristas, possui inflorescências menores, rôxas, com espículas sem aristas.

Das diversas espécies do gênero Melinis, com exceção de duas delas, não se tem conhecimento de nenhum estudo citológico nas demais. Deve-se salientar ainda que os estudos citológicos realizados com as duas espécies (M. minutiflora e M. macrochaeta) limitaram-se apenas a determinação do número cromossômico.

As primeiras investigações citológicas feitas na espécie M. minutiflora por AVDULOV (apud HUNTER, 1934), revelaram que ela possui 2n 36 cromossomos. O gênero foi colocado a princípio na tribo Paniceae devido ao pequeno tamanho dos cromossomos e também porque  $x = 9$  é o número básico de cromossomos da maior parte desta tribo. No entanto, há divergências de opiniões entre vários pesquisadores sobre os limites precisos da tribo e sobre os diversos gêneros a serem incluídos nela.

De acordo com HARTLEY (1958), os primeiros estudiosos do assunto adotaram um amplo ponto de vista, incluindo na tribo Panicaceae todos os gêneros então conhecidos, os quais foram uma vez referidos dentro de seus limites.

TATEOKA (apud HARTLEY, 1958), estudando grupos de gêneros relacionados dentro da tribo Panicaceae, gêneros esses que já eram reconhecidos como sub-tribos, classificou-os na categoria de tribos independentes. Desse modo, os gêneros que haviam sido incluídos em Panicaceae em "senso lato", são agora colocados em 8 tribos separadas, sendo uma delas, Melinideae. Com exceção da Panicaceae, a maioria das outras tribos são muito pequenas, constituindo-se de um ou poucos gêneros muitas vezes monoespecíficos.

A tribo Melinideae, segundo ENGLER (1964), compreende 2 gêneros, Melinis e Rhynchelytrum.

HUNTER (1934), MYERS (1947), MOFFETT e HURCOMBE (1949), JACQUES-FÉLIX (1962) e TATEOKA (1965), investigaram citologicamente o gênero Melinis encontrando número somático  $2n = 36$  e número básico  $x = 9$ .

Para o gênero Rhynchelytrum De WET (1954), De WET e ANDERSON (1956), JACQUES-FÉLIX (1962) e TATEOKA (1965), encontraram os números somático e básico de cromossomos iguais aos do gênero Melinis.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

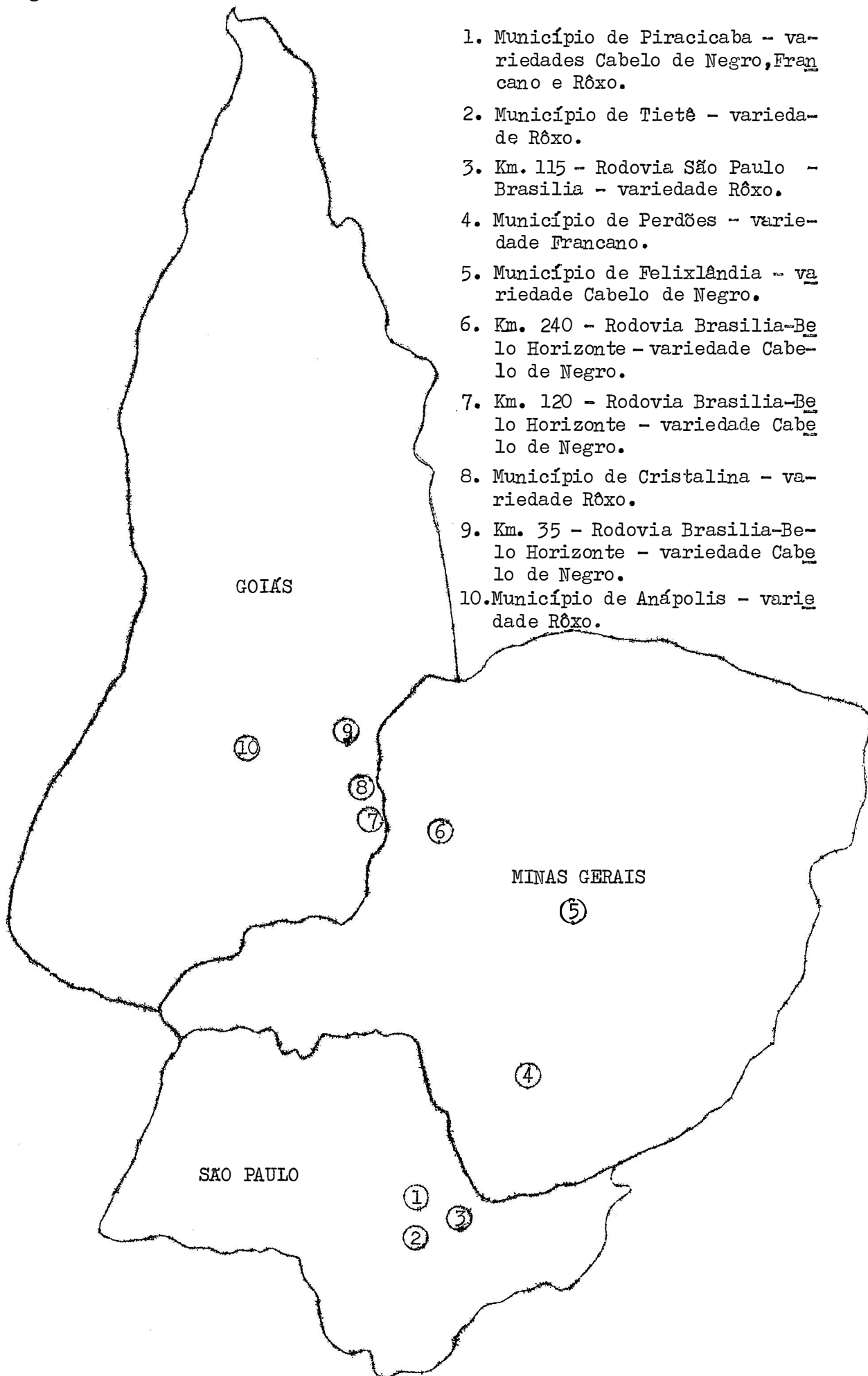
Neste trabalho, foram estudados o número cromossômico, o comportamento meiótico e a fertilidade do pólen de 20 clones de espécie M. minutiflora, coletados em 3 estados do Brasil Central (Fig. 1). Os 20 clones estudados, podem ser agrupados por suas características morfológicas em 3 variedades da espécie (Eng<sup>os</sup> Agr<sup>os</sup> Natal Antônio Vello e Eloah Maria Pacheco de Oliveira, informação pessoal); Capim Gordura Cabelo de Negro, Capim Gordura Francano e Capim Gordura Rôxo.

Na tabela I são apresentados as variedades, procedência e número de clones estudados.

Tabela I. Variedades, procedência e número de clones estudados.

Variedades	Procedência	Nº de clones estudados
Cabelo de Negro	Goiás	2
	Minas Gerais	2
	São Paulo	5
Francano	Minas Gerais	1
	São Paulo	2
Rôxo	Goiás	2
	São Paulo	6

Figura 1. Locais de coleta dos clones.



O material foi coletado em 1971 por professores do Departamento de Genética e plantado em vasos na Casa de Vegetação do Instituto de Genética da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz".

### 3.1. Determinação do número somático de cromossomos

O método utilizado para a determinação do número somático de cromossomos foi o seguinte:

a) Pedacos de colmos de cada clone, foram transplantados para vasos menores, contendo uma parte de terra e uma parte de terriço. Este processo foi utilizado devido a dificuldade de se obter boas raízes em água ou areia úmida.

b) Foi determinado o melhor horário para a coleta das raízes, sendo que o período entre 9 e 10 horas da manhã, em dias ensolarados, mostrou maior número de placas metafásicas. Para a determinação do melhor horário, foram feitas coletas de hora em hora a partir das 8 até as 17 horas.

c) Utilizou-se pré-tratamento nas pontas de raízes, com finalidade de se obter maior número de placas metafásicas e cromossomos mais condensados e separados. Para pré-tratamento foi utilizada a colchicina em concentração variando de 0,1 a 0,4% durante 2 a 4 horas. Os resultados não foram satisfatórios pois, em M. minutiflora o uso da colchicina não permitiu boa coloração por ocasião da confecção das lâminas. A hidroxiquinoleína em solução 0,002 mol., durante 6 horas à temperatura ambiente, proporcionou melhores resultados, sendo esse o processo usado. Depois do pré-tratamento, as pontas de raízes foram fixadas em solução de álcool absoluto e ácido acético glacial na proporção de 3:1, durante 18 horas. Em seguida o material foi colocado em solução aquosa contendo peptona a 1% e pectinase a 5%, durante 24 horas com a finalidade de ajudar no

amolecimento dos tecidos e separação das células.

d) No processo de coloração, foi usado o método de Feulgen segundo DARLINGTON e LA COUR (1969), porém, como a coloração não foi suficientemente boa, esta foi intensificada usando-se uma gota de carmin acético a 2%, sobre a ponta da raiz, antes do esmagamento, por ocasião da confecção das lâminas pelo método "smear".

As lâminas que apresentaram condições satisfatórias de observação microscópica foram transformadas em permanentes, segundo o método de CELARIER (1956).

As lâminas permanentes foram observadas ao microscópio para a determinação do número cromossômico, baseada em contagens de um número de células que variou de 4 a 6. Das melhores metáfases foram obtidas fotografias em fotomicroscópio Zeiss com objetiva de 100X, fator da projetiva 3,2X, fator do optovar 1,25X e filtros verdes Kodak 56 e 58. O filme utilizado foi "High Contrast Copy" da Kodak. As fotografias foram aumentadas 2.800X.

### 3.2. Meiose em células mães de pólen

Para estudo da meiose em células mães de pólen, as inflorescências das 3 variedades foram colhidas dos 20 clones mantidos na Casa de Vegetação do Instituto de Genética da ESALQ, nos meses de maio a junho de 1972 e 1973.

A melhor época, determinada, para o estudo da meiose em M. minutiflora pode ser reconhecida removendo-se a folha que envolve a panícula e observando-se que a parte superior da mesma apresenta um aspecto amarelado, enquanto que a parte inferior apresenta aspecto esbranquiçado. As panículas, logo após colhidas, foram fixadas numa solução de álcool 95% e ácido acético glacial na proporção de 3:1 à temperatura ambiente,

por um período de 8 a 10 horas. A conservação do material foi feita em álcool 70% em congelador à temperatura de aproximadamente  $-5^{\circ}\text{C}$ .

Para o preparo das lâminas, as anteras foram retiradas das flores sob lupa de objetiva 40X. Para cada lâmina, foram utilizadas 3 anteras sobre as quais foi colocada uma gota de corante. As anteras foram seccionadas com o auxílio de uma lanceta e após levemente comprimidas para a expulsão dos microsporócitos, sendo a seguir removidos todos os fragmentos de anteras, ficando apenas microsporócitos sobre a lâmina.

Cuidados especiais foram tomados por ocasião da colocação da lamínula sobre o material pois, qualquer pressão exercida ainda que pequena, causa a dilaceração das células. As lâminas que apresentavam boas condições de observação foram transformadas em permanentes 24 a 48 horas após, pelo mesmo processo utilizado para lâminas de pontas de raízes.

Para a coloração foram experimentados os seguintes corantes: carmim acético a 2,0%, a 1,0% e a 0,5%, orceína lactopropiônica a 2,0% e orceína acética a 2%. O carmim acético mesmo em baixas concentrações provocou fortes oxidações no citoplasma em um espaço de tempo relativamente curto (24 horas) ou mesmo durante a confecção da lâmina quando por qualquer motivo ocorria um atraso na sua preparação. A orceína lactopropiônica a 2,0%, resultou em coloração tão fraca que as lâminas só podiam ser observadas no dia seguinte. A orceína acética a 2,0% foi o corante que apresentou melhores resultados proporcionando boa coloração na ocasião do preparo da lâmina e não oxidando o citoplasma, mesmo após 48 horas.

O pareamento dos cromossomos foi estudado em diacinese e metáfase I e a segregação dos mesmos em anáfase I e II. As fotografias foram obtidas seguindo o mesmo procedimento da mitose.



### 3.3. Fertilidade do pólen

Com a finalidade de se obter uma estimativa do grau de fertilidade do pólen do material em estudo, foram coletadas panículas com anteras maduras ou seja, panículas que apresentavam algumas anteras pendentes, de todos os 20 clones individualmente. A coleta das panículas não foi feita em todos os clones no mesmo dia devido a diferença na época de floração de uma variedade para outra. A confecção das lâminas foi efetuada do seguinte modo: cada panícula apresentando anteras maduras foi dividida em 3 partes iguais (superior, média e inferior) resultando de cada parte, uma lâmina. Essa divisão foi feita para verificar possíveis diferenças de fertilidade do pólen quando se considera diferentes regiões da panícula. Cada parte da panícula foi batida sobre a lâmina, contendo uma gota da mistura de carmim acético a 2,0% e glicerina na proporção de 1:1, colocando-se uma lamínula sobre o material e por fim selando-se a lamínula. As lamínulas utilizadas mediam 22 x 30 mm com a finalidade de incluir no campo de preparação maior número de grãos de pólen.

A análise das lâminas foi realizada cerca de uma semana após a preparação, a fim de proporcionar a impregnação dos grãos de pólen pelo corante, sendo os mesmos classificados em coloridos (férteis) e não coloridos (estéreis). A observação das lâminas foi realizada utilizando-se objetiva de 10X.

## 4. RESULTADOS

4.1. Número somático de cromossomos

Os resultados obtidos, quanto ao número somático de cromossomos das 3 variedades de M. minutiflora estudadas, estão expressos na tabela II.

Tabela II. Números somáticos de cromossomos em pontas de raízes

Variedade	Procedência	Nº de clones estudados	2n
Cabelo de Negro	Goiás	2	36
	Minas Gerais	2	36
	São Paulo	5	36
Francano	Minas Gerais	1	36
	São Paulo	2	36
Rôxo	Goiás	2	36
	São Paulo	6	36

Como pode ser observado na tabela II, não houve variação quanto ao número cromossômico,  $2n = 36$  (Fig. 2), nem entre os clones da mesma variedade provenientes de diferentes procedências, nem entre as variedades dentro ou entre as procedências. Não foi observada também, variação no tamanho dos cromossomos.

#### 4.2. Estudo da meiose em células mães de pólen

A tabela III mostra os resultados do estudo do comportamento meiótico em diacinese e metáfase I das 3 variedades estudadas.

A normalidade de comportamento na meiose, refere-se ao pareamento em bivalentes em diacinese e metáfase I e a segregação normal em anáfase I e II; a anormalidade significa pareamento em associações múltiplas ou falta de pareamento e segregação anormal em anáfase I e II. Foi considerada segregação anormal, a ocorrência de retardatários em anáfase I e II, pois não foi possível contar o número de cromossomos segregantes nestas fases, devido a grande condensação e agrupamento dos mesmos.

Verificou-se anormalidades em todas as variedades, de todas as procedências, com respeito a ocorrência de alguns cromossomos não pareados enquanto outros apresentaram associações múltiplas.

Os resultados expressos na tabela III mostram que a variedade Cabelo de Negro, teve a mais alta média de bivalentes (16,00) nos clones procedentes de Minas Gerais, ocorrendo na mesma região a mais baixa média de trivalentes (0,04) e quadrivalentes (0,77). A média de univalentes (0,77), no entanto, foi intermediária entre as dos clones das outras procedências. Na mesma variedade, os clones da região de Goiás tiveram uma média de bivalentes (15,73), pouco mais baixa do que dos clones procedentes de Minas Gerais, apresentando, no entanto, a mais baixa média de univalentes (0,46), sendo as médias de trivalentes (0,07) e quadrivalentes (0,96), intermediárias a dos clones das demais procedências.

Os clones da região de São Paulo foram os que apresentaram a mais baixa média de bivalentes (15,28) e a mais alta média de univalentes (1,00) e quadrivalentes (1,00), sendo a média de trivalentes (0,14), a mais alta observada em relação aos clones das demais procedências. Estes resultados mostram uma tendência no sentido São Paulo-Goiás-Minas Gerais, para

Tabela III. Comportamento dos cromossomos das variedades estudadas em diacinese e metáfase I

Variedade	Nº de clones analisados	Nº de células analisadas	Nº de metíco	Bivalentes		Univalentes		Trivalentes		Quadrivalentes			
				média	ampli- tude	média	ampli- tude	média	ampli- tude	média	ampli- tude		
Cabelo de Negro	2	26	18	13-18	16	0,46	0-2	0,07	0-1	0	0,96	0-2	1
				14-18	16	0,77	0-2	0,04	0-1	0	0,77	0-1	1
				12-18	16	1,00	0-2	0,14	0-1	0	1,00	0-2	1
				15,67		0,74		0,08		0,91			
Fram- cano	1	12	18	14-18	16	0,25	0-2	0,08	0-1	0	0,83	0-2	1
				15-18	16	0,73	0-4	0	0	0	0,73	0-2	1
				16,11		0,49		0,04		0,78			
Róxo	2	21	18	15-18	16	0,38	0-2	0	0	0	0,66	0-1	1
				13-18	16	0,84	0-4	0	0	0	0,84	0-2	1
				16,18		0,61		0		0,75			

aumento na média de bivalentes e decréscimo na média de tri e quadrivalentes. A tendência de acréscimo ou decréscimo na média de univalentes não mostrou relação com aquela dos demais tipos de associações. Os clones procedentes de Minas Gerais apresentaram, em média, menor amplitude de variação, levando-se em conta todos os tipos de associações.

A variedade Francano (tabela III), teve a mais alta média de bivalentes (16,15) nos clones procedentes de São Paulo, onde não ocorreram trivalentes. A média de quadrivalentes (0,73) foi menor que a do clone procedente de Minas Gerais (0,83) e a média de univalentes (0,73), foi maior do que aquela do clone da outra região (0,25). Estes resultados mostram uma tendência no decréscimo de tri e quadrivalentes e acréscimo de bi e univalentes no sentido Minas Gerais-São Paulo. A amplitude de variação dos clones procedentes de São Paulo foi menor para bi e maior para univalentes.

A variedade Rôxo (tabela III), apresentou a mais alta média de bivalentes (16,47) nos clones procedentes de Goiás. As médias de uni e quadrivalentes foram menores nos clones procedentes de Goiás não ocorrendo trivalentes em ambas regiões. Aqui também há uma tendência no aumento da média de bivalentes, neste caso no sentido São Paulo-Goiás acompanhada pelo decréscimo da média de uni e quadrivalentes. A amplitude de variação foi menor, para todos os tipos de associações observados, nos clones procedentes de Goiás.

Comparando-se as médias das 3 variedades, independentes das procedências, pode-se observar que a variedade Rôxo apresentou a mais alta média de bivalentes (16,18), seguida da variedade Francano (16,11) e Cabelo de Negro (15,67). Na variedade Rôxo, não foram observados trivalentes e as médias de uni e quadrivalentes 0,61 e 0,75 respectivamente foram intermediárias as das outras duas variedades. Nesta comparação

observa-se uma tendência da variedade Rôxo de apresentar maior média de bivalentes, com eliminação de trivalentes.

Em todos os clones, de todas as variedades estudadas, o tipo de associação mais frequente foi 16 bi e 1 quadrivalente (Fig. 3), embora ocorressem com regular frequência anormalidades maiores (Fig. 4) e em raras ocasiões fosse observada a ocorrência de 18 bivalentes (Fig. 5).

Os dados relativos ao estudo da segregação cromossômica, nas 3 variedades, são apresentados na tabela IV. Essa tabela mostra o número de células com segregação normal e anormal, sua proporção, além da variação no número de retardatários nas últimas.

Na variedade Cabelo de Negro (tabela IV), os clones procedentes de Goiás mostraram, em média, a mais alta proporção de células com segregação normal, considerando-se a primeira e a segunda divisões, apesar de ser a segunda, na média de bivalentes como pode ser visto na tabela III. Os clones da região de Minas Gerais, os quais tiveram a maior média de bivalentes (tabela III), foram os que apresentaram, em mé dia, a menor proporção de células com segregação normal indicando falta de concordância entre dados de pareamento e segregação. Os clones da re gião de São Paulo, os quais tiveram a mais baixa média de bivalentes (ta**be** la III), foram intermediários em relação a proporção de células com se gregação normal. Os clones das regiões de Goiás e São Paulo, apesar de apresentarem menor média de bivalentes, tiveram maior proporção de célu- las com segregação normal. A maior amplitude de variação, no número de retardatários foi verificada nos clones procedentes de Minas Gerais.

Na variedade Francano (tabela IV), os clones da região de São Paulo apresentaram, em média, mais alta proporção de células com se- gregação normal do que aquêles da região de Minas Gerais considerando-se

Tabela IV. Segregação cromossômica na primeira e segunda divisões da meiose

Variedade	Procedência	Nº gamético	Nº clones analisados	Anáfase I		Nº de retardatários	Anáfase II		Nº de retardatários		
				Nº de células com segregação normal (proporção)	anormal (variação)		Nº de células com segregação normal (proporção)	anormal (variação)			
Cabelo de Negro	Goiás	18	2	22	1,8:1,0	12	1-2	57	1,4:1,0	41	1-3
	Minas Gerais	18	2	21	1,0:1,0	21	1-7	89	1,1:1,0	84	1-4
	São Paulo	18	5	63	1,3:1,0	48	1-6	28	1,4:1,0	20	1-2
Francano				35	1,3:1,0	27		58	1,2:1,0	48	
	Minas Gerais	18	1	31	1,7:1,0	18	1-5	49	1,1:1,0	35	1-4
	São Paulo	18	2	37	1,4:1,0	27	1-5	94	1,7:1,0	54	1-5
Roxo				34	1,5:1,0	22		71	1,6:1,0	44	
	Goiás	18	2	34	0,8:1,0	43	1-10	25	0,7:1,0	35	1-9
	São Paulo	18	6	75	1,0:1,0	74	1-9	151	0,9:1,0	166	1-5
				54	0,9:1,0	58		88	0,9:1,0	100	

a primeira e segunda divisões da meiose. Estes dados quando comparados com aquêles da mesma variedade na tabela III, mostram concordância. Neste caso o aumento da média de bivalentes foi acompanhado do aumento na proporção de células com segregação normal. A amplitude de variação no número de retardatários foi, em média, pouco maior nos clones procedentes da região de São Paulo.

Na variedade Rôxo (tabela IV), os clones da região de São Paulo apresentaram maior proporção de células com segregação normal, na primeira e segunda divisões da meiose, o que vem novamente a discordar dos dados de pareamento apresentados na tabela III.

Comparando-se a proporção média de células com segregação normal nas 3 variedades, sem levar em conta as procedências, com as médias de bivalentes das mesmas sob a mesma condição, observa-se que a variedade que apresentou maior média de bivalentes, Rôxo, foi a que apresentou segregação mais irregular.

De um modo geral as variedades Cabelo de Negro e Francano tiveram uma predominância na proporção de células com segregação normal e na variedade Rôxo, predominaram células com segregação anormal. Um aspecto de células com segregação normal está representado nas figuras 6 e 7 e com segregação anormal nas figuras 8 e 9.

A ocorrência de pontes em anáfase I (Fig. 10) foi observada, somente em duas células da variedade Rôxo, sendo uma em um clone procedente de Goiás e a outra em um clone de São Paulo. Embora não tenha sido feita análise de micronúcleos nas tetradas por dificuldade de observação em alguns casos esta constatação foi possível como mostra a (Fig. 11).



#### 4.3. Fertilidade do pólen e sua relação com o comportamento meiótico

Na tabela V são apresentados os resultados referentes a fertilidade do pólen. Nesta tabela são apresentados a porcentagem de grãos de pólen coloridos obtidos nas 3 posições da panícula para cada uma das 3 variedades nas 3 regiões, a porcentagem média de pólen colorido por variedade por região, número de clones e grãos de pólen analisados, além da amplitude de variação na porcentagem de pólen colorido em cada variedade.

De modo geral os clones das 3 variedades não mostraram diferenças na fertilidade do pólen nas 3 diferentes posições da panícula, embora exista pequena tendência para maior porcentagem de fertilidade na posição superior.

Comparando-se a porcentagem média de pólen colorido para cada variedade dentro das regiões, com os dados de segregação dos cromossomos na segunda divisão meiótica, observa-se que em todas as variedades e regiões há uma perfeita concordância dos resultados.

Por outro lado, comparando-se a porcentagem média de pólen colorido por variedade, sem levar em consideração a procedência, com a proporção média de células apresentando segregação normal sob a mesma condição, observa-se concordância de resultados para a variedade Rôxo e uma inversão para as demais.

Tabela V. Dados da fertilidade do pólen, pelo método da coloração

Variedade	Procedência	Nº de clones analisados	Nº de grãos de pólen observados	% de grãos de pólen colorido (posição na panícula)		% de pólen colorido média por região	Amplitude
				superior	inferior		
Cabelo de Negro	Goiás	2	2.319	64,30	62,50	59,32	
	Minas Gerais	2	1.075	54,64	57,66	56,14	
	São Paulo	5	3.407	64,54	59,78	61,72	39,4-73,5
Francano	Minas Gerais	1	823	45,87	53,84	48,23	
	São Paulo	2	1.639	57,79	51,64	57,16	46,7-68,1
				51,83	52,74	52,69	
Rôxo	Goiás	2	1.253	51,95	43,25	46,92	
	São Paulo	6	4.192	53,12	52,21	50,97	
				52,53	47,73	48,94	30,0-72,2
		20	14.708			$\bar{x}$ geral	53,57

Figura 2. Metáfase mitótica em pontas de raízes ( $2n = 36$ ).

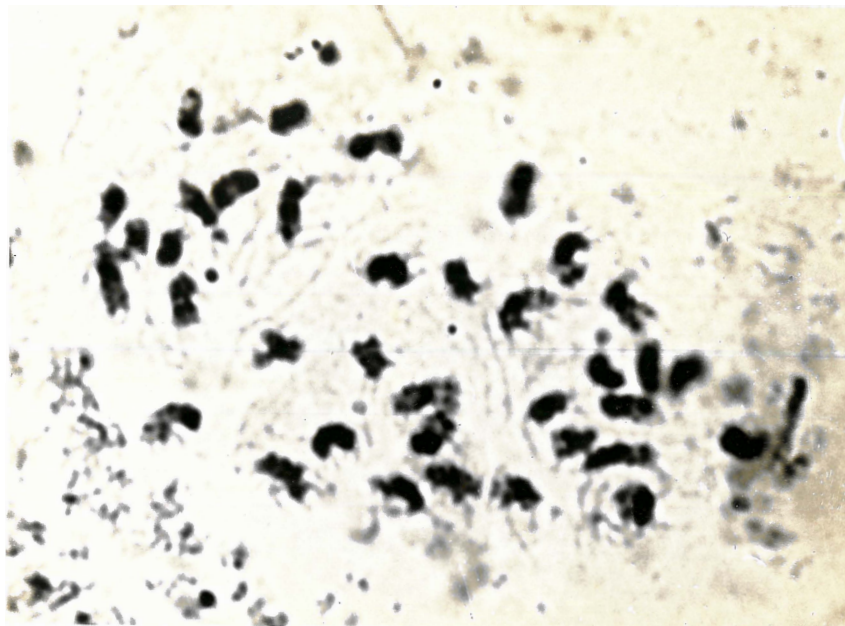


Figura 3. Diacinese em célula mãe de pólen com pareamento anormal (1 IV, 16 II).

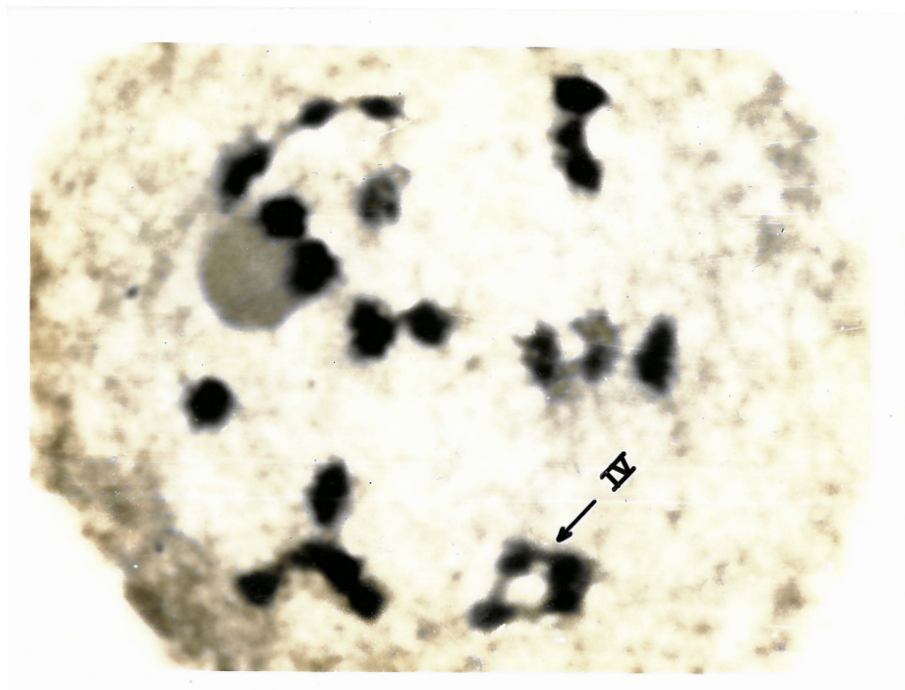


Figura 4. Diacinese em célula mãe de pólen com pareamento anormal (1 IV, 1 III, 14 II, 1 I).

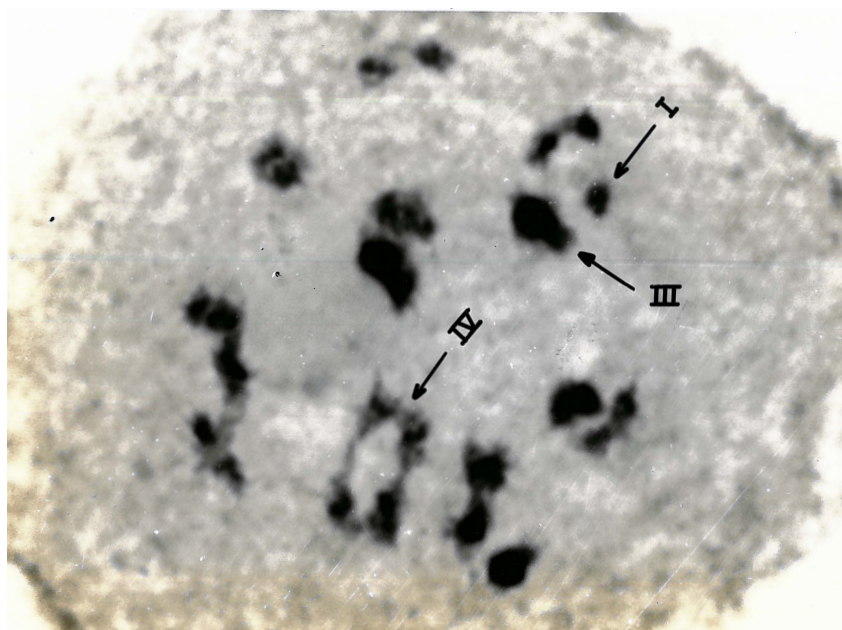


Figura 5. Diacinese em célula mãe de pólen com 18 II.

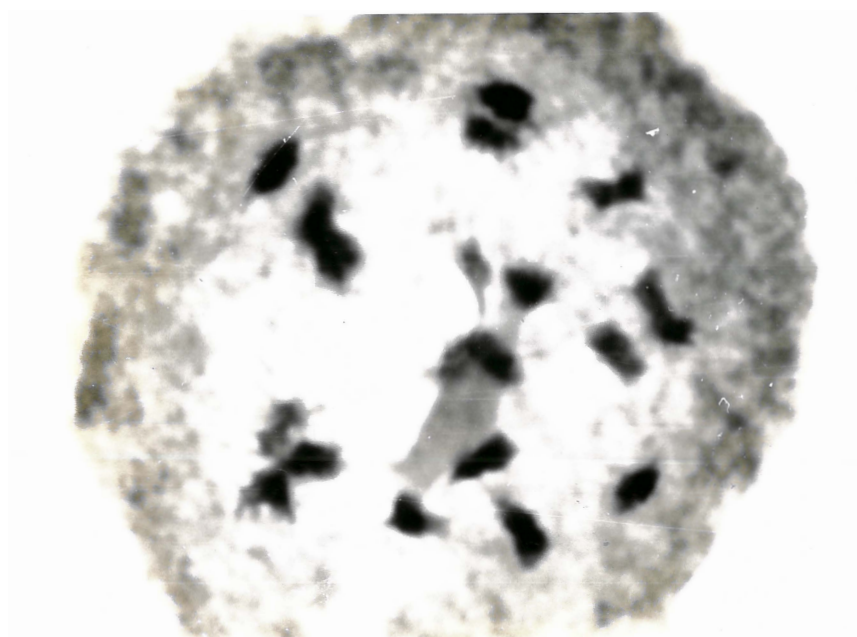


Figura 6. Anáfase I em célula mãe de pólen com segregação normal.

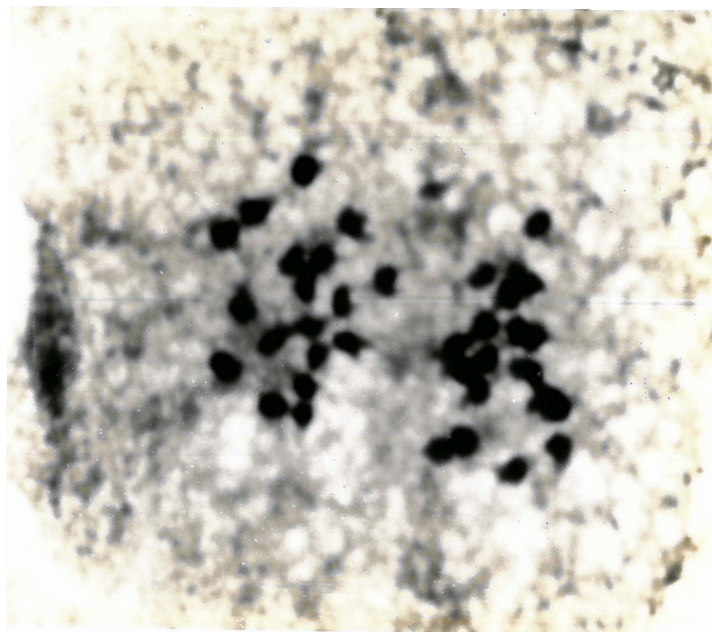


Figura 7. Anáfase II em célula mãe de pólen com segregação normal.

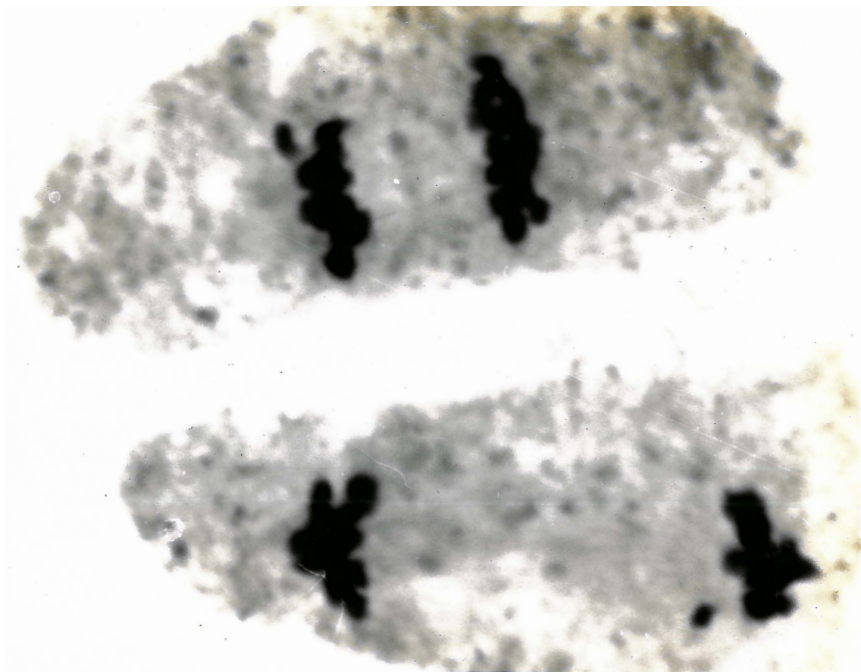


Figura 8. Anáfase I em célula mãe de pólen com segregação anormal (cromossomos retardatários).

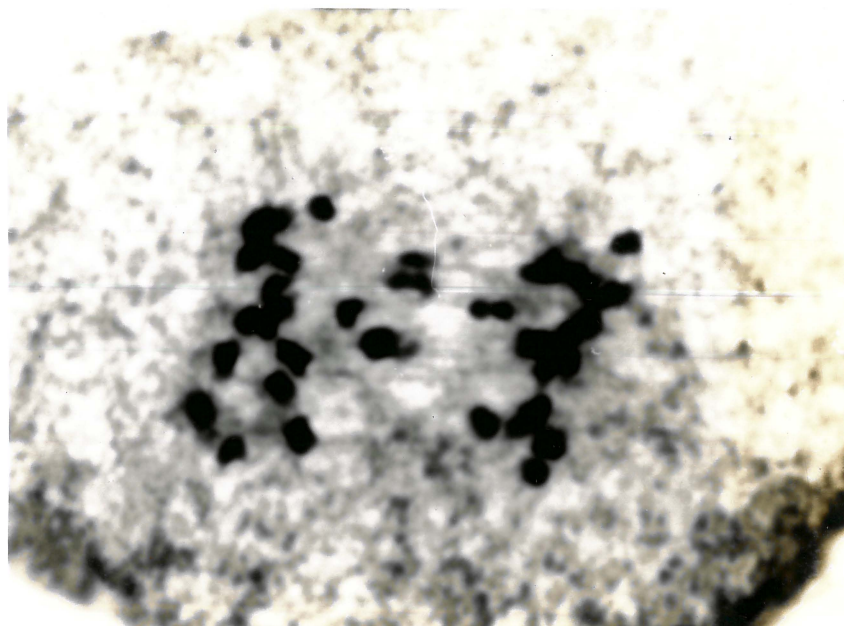


Figura 9. Anáfase II em célula mãe de pólen com segregação anormal (cromossomos retardatários).

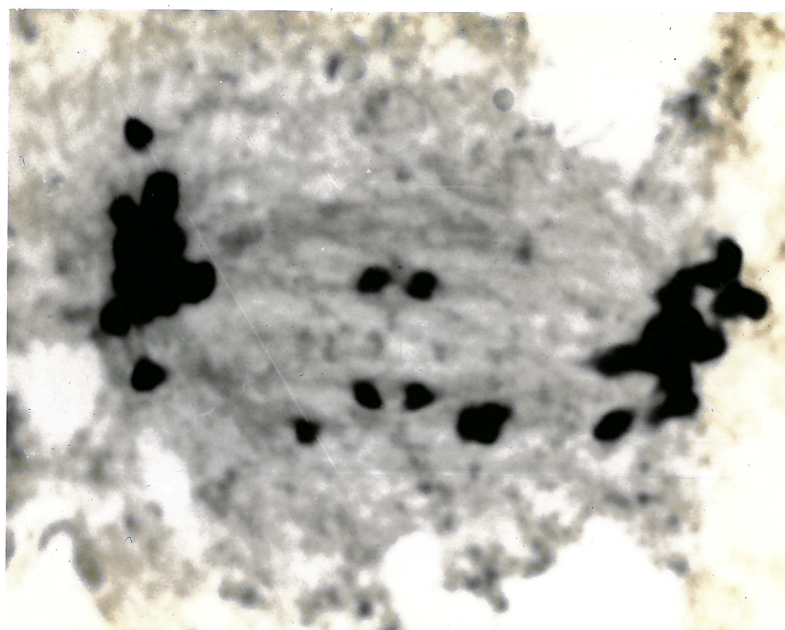


Figura 10. Anáfase I em célula mãe de pólen mostrando ponte.

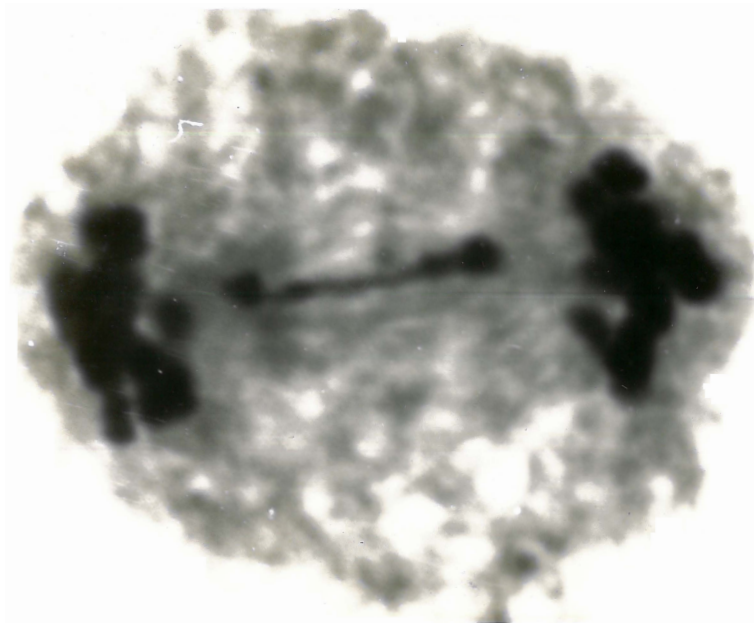
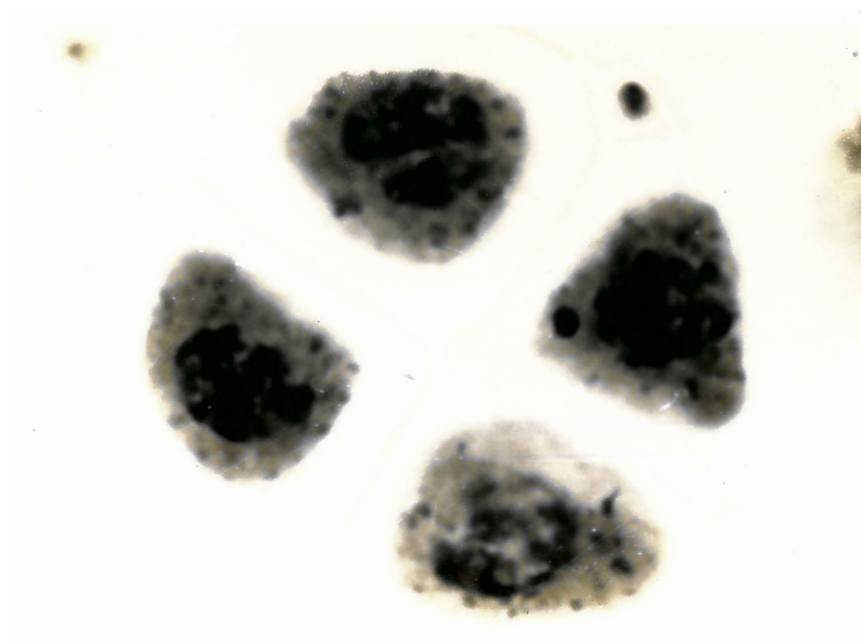


Figura 11. Tétrada de células mostrando micronúcleos.



## 5. DISCUSSÃO

Os resultados obtidos no estudo das 3 variedades de M. minutiflora mostraram que o número somático de cromossomos é  $2n = 36$ .

Isto confirma o número determinado anteriormente para a espécie por outros autores como AVDULOV (apud HUNTER, 1934), HUNTER (1934), MYERS (1947), MOFFETT e HURCOMBE (1949), JACQUES-FÉLIX (1962) e TATEOKA (1965).

As características morfológicas que diferenciam as variedades, como ausência ou presença de aristas, pigmentação da parte vegetativa e inflorescência, hábito de crescimento, além de outras, são aparentemente mais de natureza genética do que citológicas.

Sabe-se que durante os processos evolutivos que envolvem a formação de espécies, raças e variedades, são as mutações a fonte primária da variabilidade. Apesar da frequência de mutações que ocorrem na natureza ser muito baixa, elas devem ter desempenhado um papel importante na diferenciação destas variedades.

Segundo WHYTE et al (1962), não existem linhagens melhoradas de M. minutiflora, ocorrendo apenas variedades mais ou menos distintas, no Brasil. Portanto, a diferenciação destas variedades dentro da espécie, provavelmente tenha surgido naturalmente no decorrer de um espaço de tempo relativamente grande, até que as mesmas atingissem as condições atuais.



Segundo STEBBINS (1957), diferenças morfológicas podem se originar por alterações no tamanho dos cromossomos devido a trocas estruturais, o que no presente caso não parece provável, pois, apesar de não ter sido possível uma análise detalhada dos cromossomos observou-se que seu tamanho não apresentou variação, de uma variedade para outra. Outra evidência da não ocorrência de trocas estruturais, foi a quase ausência de pontes cromossômicas.

Em gramíneas, segundo estudos de CARNAHAN e HILL (1961), o número básico varia de  $x = 4$  a  $x = 23$ .

Todas as espécies dos 2 gêneros que constituem a tribo Melinideae, estudadas citologicamente até o presente, mostraram possuir número básico  $x = 9$  cromossomos. Portanto, existem indicações de que a espécie M. minutiflora, com  $2n = 36$ , pertencente a esta tribo, seja um poliploide de número básico  $x = 9$ . Tal possibilidade, aliás, já havia sido aventada por todos os autores que estudaram anteriormente os cromossomos desta espécie.

Os resultados do comportamento meiótico das variedades estudadas não dão indicação precisa se M. minutiflora é um auto ou alopoliploide. Normalmente espera-se nos alopoliploides a formação de bivalentes e nos autopoliploides a formação de multivalentes. Foi observado no presente material alta frequência de bivalentes e uma pequena frequência de univalentes e multivalentes.

GILLES e RANDOLPH (1951), referem que a ausência de quadrivalentes não é aceitável como prova de origem alopoliploide por duas razões: 1) limitado número de autotetraploides experimentais, especialmente aqueles com cromossomos pequenos, formam quase que exclusivamente bivalentes; 2) associações multivalentes dos cromossomos, as quais são características dos autopoliploides de origem recente, podem não persistir

indefinidamente em sucessivas gerações mas desaparecerem gradual ou abruptamente e serem substituídas por pareamento bivalente regular. É possível pois, que muitos poliploides naturais com pareamento regular em bivalentes tenham se originado como autopoliploides. A troca de multivalentes para bivalentes pode ocorrer por diferenciação dos cromossomos ou por genes específicos que afetam o pareamento.

Vários exemplos de controle genético do pareamento em poliploides são conhecidos.

Uma tendência para formar bivalentes controlada geneticamente foi encontrada em Phleum pratense triploide, por MUNTZING e PRAKKE (1940). Em trigo hexaploide, o pareamento em bivalentes é controlado por um gene situado no cromossomo 5B (RILEY e CHAPMAN, 1958 e SEARS e OKAMOTO, 1958).

STEBBINS (1947 e 1957), apontou as dificuldades na distinção entre duas das categorias de poliploides (auto e alopoliploide segmentar). As fontes usuais de informações sobre o tipo de poliploide provêm da natureza da associação dos cromossomos na metáfase I. A presença de associações multivalentes em um poliploide, como resultado da homologia entre cromossomos paternos, ordinariamente indica autopoliploidia, e sua ausência devido a não homologia entre os cromossomos, sugere alopoliploidia.

Em M. minutiflora a frequência de quadrivalentes (no máximo 2 por célula), deixa em dúvida a natureza da espécie.

GILLES e RANDOLPH (1951), foram os primeiros a demonstrar uma redução na frequência de multivalentes em linhagens autotetraploides, de milho, artificialmente induzidas. Essas linhagens após 10 anos de seleção para fertilidade formaram predominantemente, senão exclusivamente, bivalentes. SWAMINATHAN e SULBHA (1959), também observaram redução de

multivalentes em autotetraploides experimentais de Brasica campestris. No entanto, MORRISON (1956), McCOLLUM (1958), e MORRISON e RAJHATHY (1960), não observaram tal redução de multivalentes estudando autopoliplóides naturais e induzidos em Dactylis e Secale.

A possibilidade da origem de M. minutiflora a partir da poliploidização de híbridos entre espécies muito distantes é improvável, levando-se em conta a ocorrência de multivalentes os quais indicam certa homologia entre cromossomos. Tais associações indicando homeologia de alguns cromossomos ou segmentos cromossômicos dos genomas envolvidos no híbrido, levam a supor, no caso de tratar-se de um alopoliplóide, que a espécie tenha se originado pelo cruzamento entre indivíduos com algum relacionamento genético. Com os dados disponíveis, existe certa dificuldade em decidir sobre a possível natureza de origem da espécie, se por auto ou alopoliplóidia, embora as evidências pareçam favorecer mais a segunda possibilidade.

A existência de anormalidades meióticas, geralmente refletem-se em queda na fertilidade do pólen.

Multivalentes e univalentes podem apresentar segregação cromossômica irregular, com caminhamento adiantado ou atrasado em relação aos bivalentes, possibilitando a ocorrência de perdas o que trará como consequência a formação de gametas com números irregulares de cromossomos. No geral, a falta de cromossomos causa uma alteração no balanço gênico de células e esterilidade do pólen. Também um número de cromossomos extra pode causar esta esterilidade, apesar de ser menos comum.

Estas irregularidades ocorreram nas variedades estudadas, o que pode ter influenciado na formação de sementes.

MARTINS e OLIVEIRA (1971), estudando a formação de sementes em M. minutiflora, encontraram baixa formação de sementes férteis

(32,48%). A baixa fertilidade do pólen observada no presente trabalho, em média 53,57%, pode explicar, pelo menos, parcialmente esta baixa fertilidade da semente.

Os dados de pareamento e fertilidade do pólen mostraram tendências divergentes. Analisando-se as variedades, independente de seus locais de procedência, observou-se que em função da frequência de bivalentes, esperava-se maior fertilidade do pólen para a variedade Rôxo, seguida pelas variedades Francano e Cabelo de Negro, o que não se verificou. A variedade Rôxo, a qual mostrou a mais alta frequência de bivalentes foi, no entanto, a que apresentou mais baixa porcentagem de pólen fértil, ocorrendo exatamente o contrário com a variedade Cabelo de Negro.

Relacionando-se variedades com os locais de procedência observou-se que as tendências no aumento na média de bivalentes foram completamente inversas em relação as tendências no aumento da fertilidade do pólen, para Cabelo de Negro e Rôxo. Somente a variedade Francano mostrou tendências iguais quanto a estes aspectos nos 2 locais.

Tais resultados, de modo geral, parecem sugerir diferentes mecanismos de controle envolvidos no pareamento cromossômico e fertilidade do pólen.

Ainda que a propagação vegetativa possa ser utilizada em M. minutiflora e seja prática comum em algumas gramíneas forrageiras, no geral, como acontece também na maioria das forrageiras tropicais, o plantio de sementes é o único modo prático de estabelecimento de pastagens e qualquer aumento substancial na área de pastagens cultivadas implica em adequado suprimento de sementes a preços razoáveis. Portanto, a fertilidade da semente é fator de extrema importância para os criadores, sendo mesmo em certos casos limitante.

A esterilidade da semente em M. minutiflora como ficou indicado, é consequência pelo menos parcialmente de irregularidades meióticas. Desse modo, qualquer programa que vise melhorar esta gramínea e conseqüentemente a produção de sementes deve levar em consideração estes fatos.

Embora os dados obtidos não sejam suficientes para uma afirmação categórica, eles indicam uma certa variação tanto em relação ao tipo de pareamento quanto na fertilidade do pólen, entre as variedades estudadas. A variação existente nas variedades, em relação a estas irregularidades, abre certa possibilidade de ser feito melhoramento para maior regularidade na meiose e conseqüentemente maior produção de sementes dependendo naturalmente em se determinar, com precisão, os mecanismos genéticos causadores dessas **aberrações**.

É interessante observar que BOGDAN (1966), refere que a seleção realizada em variedades de M. minutiflora, em Kenya na África, visando resistência a um vírus da folha, resultou em decréscimo na produção de sementes. Isto pode trazer dificuldades em programas de melhoramento, principalmente se for extensivo a outras características como produção de massa verde, etc.

A alogamia foi sugerida como o modo de reprodução da espécie M. minutiflora por MARTINS e OLIVEIRA (1971), no entanto, dados da literatura (HUTTON, 1964 e BOGDAN, 1966), referem-se que a espécie tem propagação apomítica.

As espécies de gramíneas apomíticas estudadas por HUTTON (1964), mostraram ser pseudogâmicas, o que segundo o autor se torna vantajoso se tipos sexuais puderem ser identificados para utilização em cruzamentos.

A apomixia, é um processo particular usado na perpetuação e estabilidade dos poliploides, pois confere vantagens na acumulação de qualquer troca estrutural ocorrida nos cromossomos. Portanto, a hipótese de reprodução apomítica desta espécie não pode ser desprezada, e a sua ocorrência diminuiria ou eliminaria a influência das aberrações citológicas observadas na fertilidade das sementes.

## 6. RESUMO E CONCLUSÕES

- 1) Foram estudados 20 clones, pertencentes a 3 variedades de Melinis minutiflora Beauv. procedentes de três regiões do Brasil Central, com os seguintes objetivos:
  - a. determinação do número cromossômico das variedades;
  - b. estudo do pareamento e segregação dos cromossomos na meiose;
  - c. estimativa da fertilidade do pólen e sua possível relação com o comportamento meiótico.
- 2) O número somático de cromossomos determinado em células de pontas de raízes foi  $2n = 36$ , em todas as variedades.
- 3) Em relação aos números de cromossomos encontrados em outras espécies da tribo Melinideae, a que pertence M. minutiflora, o número  $2n = 36$  indica a ocorrência de poliploidia.
- 4) A ocorrência de alta frequência de bivalentes e pequena frequência de univalentes e multivalentes, assim como a ausência de outras informações, dificulta a decisão sobre a natureza alo ou autopoliploide da espécie.
- 5) Observou-se anormalidades meióticas e esterilidade do pólen o que é uma das causas da baixa formação de sementes.
- 6) A existência de variação entre as variedades tanto no pareamento cromossômico como na fertilidade do pólen, abre a possibilidade de melhoramento da fertilidade da semente.

- 7) Observou-se que houve divergências nas tendências das variações sendo que o aumento na média de bivalentes, no geral, não foi acompanhado pelo aumento na fertilidade do pólen. Isto sugere a existência de diferentes mecanismos de controle com relação a irregularidades meióticas e fertilidade do pólen.
- 8) Nos programas de melhoramento de variedades da espécie, deve ser levado em consideração as aberrações citológicas como fator importante influenciando a produção de sementes.
- 9) É importante um estudo mais detalhado sobre o modo de reprodução da espécie, pois na eventualidade da ocorrência de apomixia, como sugerido por alguns autores, as irregularidades meióticas perdem parte de sua importância.



## 7. SUMMARY AND CONCLUSIONS

- 1) Twenty clones belonging to 3 varieties of Melinis minutiflora Beauv. from Central Brazil were studied for the following purposes:
  - a. determination of chromosomic varieties number;
  - b. pairing and segregation study of chromosome at meiosis;
  - c. pollen fertility and its possible relation to the meiotic behavior.
- 2) The somatic chromosome number in tip root cells was  $2n = 36$ , in all varieties.
- 3) As concerning to the chromosome number found among species of Melinideae tribe, in which M. minutiflora having  $2n = 36$ , suggest polyploidy occurrence.
- 4) The high frequency occurrence of bivalents and low univalents and multivalents, as well the absence of another informations cause difficulties about the specie autopolyploidy or allopoliploidy nature characterization.
- 5) It was verified meiotic abnormalities and pollen sterility which are one the reason of the low seeds production.

- 6) The variation occurrence among varieties for chromosome pairing as well pollen fertility suggest the possibility of breeding for seed fertility.
  
- 7) The bivalent increase was not accompanied by increase of pollen fertility. This suggest the different control mechanisms occurrence related to meiotic irregularity and pollen fertility.
  
- 8) The cytological abnormalities can be considered in the variety breeding program of this specie, as an important factor for seed production.
  
- 9) The breeding system of this specie has to be established. If the apomixis occur as has been suggested by other authors, the meiotic irregularities lose partially their importance.

## 8. BIBLIOGRAFIA

- BOGDAN, A.V. 1966. "Plant introduction, selection, breeding and multiplication". (in): DAVIES, W. e SKIDMORE, C.L. Tropical pastures. London, Faber and Faber Ltd. pp. 75-88.
- BOOTH, W.E. 1964. "Cytology and evolution of the grasses". (in): Agrostology. Michigan, Edwards Brothers Inc. pp. 130-151.
- BURNAM, C.R. 1964. Discussions in cytogenetics. Minneapolis, Burgess Publishing Company. 375 p.
- CARNAHAN, H.L. e HILL, H.D. 1961. Cytology and Genetics of forage grasses. The Botanical Review 27(1):1-131.
- CELARIER, R. 1956. Tertiary butyl alcohol dehydration of chromosome smears. Stain Technology 31:155-157.
- CHIPPINDALL, L.K.A. 1955. "A guide to identificate on of grasses". (in): MEREDITH, D. The grasses and pastures of South Africa. Africa, Cape Times Ltd. pp. 426-427.
- DARLINGTON, C.D. 1937. Recent advances in Cytology. 2<sup>a</sup> ed. London, J. & A. Churchill Ltd. 671 p.
- \_\_\_\_\_ e LA COUR, L.F. 1969. The handling of chromosomes. 5<sup>a</sup> ed. London, George Allen & Unwin Ltd. 272 p.
- De WET, J.M.J. 1954. Chromosome number of a few South African grasses. Cytologia 19:97-103.

- De WET, J.M.M. 1971. Reversible tetraploidy as an evolutionary mechanism. Evolution 25:545-548.
- ANDERSON, L.J. 1956. Chromosome numbers in Trasvaal grasses. Cytologia 21:1-10.
- DOBZHANSKY, T. 1941. Genetics and the origin of species. New York, Columbia University Press. 446 p.
- ENGLER, A. 1964. Syllabus der pflanzenfamilien. Berlin. Gebrüder Borntraeger. vol. II. 666 p.
- FLOVIK, K. 1938. Cytological studies of Arctic grasses. Hereditas 24:265-376.
- GILLES, A. e RANDOLPH, L.F. 1951. Reduction of quadrivalent frequency in autotetraploid maize, during a period of 10 years. American Journal of Botany 38:12-17.
- HARTLEY, W. 1958. Studies on the origin, evolution, and distribution of the Gramineae. II. The tribe Paniceae. Australian Journal of Botany 6:343-357.
- HAVARD-DUCLOS, B. 1967. Les plantes fourragères tropicales. Paris, G.-P. Maisonneuve & Larose. 397 p.
- HUNTER, A.W.S. 1934. A karyosystematic investigation in the Gramineae. Canadian Journal of Research 11:213-241.
- HUTTON, E.M. 1964. "Plant breeding and genetics". (in): Some concepts and methods in sub-tropical pastures research. England, Commonwealth Agricultural Bureaux. pp. 79-101.
- JACQUES-FÉLIX, H. 1962. Les graminées d'Afrique Tropicale. I. Généralités, Classification description des genres. Bulletin Scientifique 8:250-252.

- MARTINS, P.S. e OLIVEIRA, E.M.P. 1971. Estudo sobre o modo de reprodução do capim gordura (Melinis minutiflora Beauv.) Relatório Científico do Instituto de Genética, E.S.A.L.Q. - U.S.P. 5:100-103.
- McCOLLUM, G.D. 1958. Comparative studies of chromosome pairing in natural and induced tetraploide Dactylis. Chromosoma (Berlin) 9:571-605.
- MOFFETT, A.A. e HURCOMBE, R. 1949. Chromosome numbers of South African grasses. Heredity 3:369-373.
- MORRISON, J.W. 1956. Chromosome behaviour and fertility of Tetra-Petkus rye. Canadian Journal of Agricultural Science 36(3):157-165.
- e RAJHATHY, T. 1960. Chromosome behaviour in autotetraploid cereals and grasses. Chromosoma (Berlin) 11:297-309.
- MUNTZING, A. e PRAKKEN, R. 1940. The mode of chromosome pairing in Phleum twins with 63 chromosomes and its cytogenetic consequences. Hereditas 26:463-501.
- MYERS, W.M. 1943. Analysis of variance and covariance of chromosomal association and behavior during meiosis in clones of Dactylis glomerata Botanical Gazette 104:541-552.
- ..... 1947. Cytology and genetics of forages grasses. The Botanical Review 13(6):319-367.
- OTERO, J.R. 1961. Informações sobre algumas plantas forrageiras. 2ª ed. Rio de Janeiro, S.I.A. - Ministério da Agricultura, Série didática nº 11. 331 p.
- POHELMAN, J.M. 1965. Mejoramiento genético de las cosechas. trad. DURON, N.S. México, Editorial Limusa-Wiley, S.A. 453 p.
- REVISTA AGROCERES 1973. Pastagens consorciadas. São Paulo. 78 p.

- RILEY, R. e CHAPMAN, V. 1958. Genetic control of the cytologically diploid behaviour of hexaploid wheat. Nature (London) 182:713-715.
- \_\_\_\_\_ e LAW, C.N. 1965. Genetic variation in chromosome pairing. Advances in Genetics 13:57-107.
- ROSTON, A.J. 1970. Nutrição animal e pastagens: produção de alimentos. Campinas - SP, Secretaria da Agricultura, CATI (mimeografado). 71 p.
- SEARS, E.R. e OKAMOTO, M. 1958. Intergenomic chromosome relationships in hexaploid wheat. Proceedings of the 10th Congress International of Genetics. Vol. 2. pp. 258-259.
- STEBINS, G.L., Jr. 1947. Types of polyploids: their classification and significance. Advances in Genetics 1:403-429.
- \_\_\_\_\_. 1956. Cytogenetics and evolution in the grass family. American Journal of Botany 43:890-905.
- \_\_\_\_\_. 1957. Variation and evolution in plants. New York, Columbia University Press. 643 p.
- \_\_\_\_\_. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. London, Addison-Wesley Publishing Company. 216 p.
- SWAMINATHAN, M.S. e SULBHA, K. 1959. Multivalent frequency and seed fertility in raw and evolved tetraploids of Brassica campestris var. toria. Zeitschrift für Vererbungslehre 90:385-392.
- SWANSON, C.P., MERZ, T. e YOUNG, W.J. 1969. Citogenética, trad. PERONDINI, A.L.P. e PERONDINI, D.R. São Paulo, Editora Poligono. 244 p.
- TATEOKA, T. 1965. Chromosome numbers of some East African grasses. American Journal of Botany 52(8):864-869.
- WHYTE, R.O., MOIR, T.R.G. e COOPER, J.P. 1962. Grasses in agriculture 2<sup>a</sup> ed. Roma, F.A.O. 417 p.