

CITOGENÉTICA DE HÍBRIDOS ENTRE Pennisetum purpureum Schumack E Pennisetum glaucum L. E SEUS GENITORES

SANDRO BARBOSA

SANDRO BARBOSA

CITOGENÉTICA DE HÍBRIDOS ENTRE Pennisetum purpureum Schumack E Pennisetum glaucum L. E SEUS GENITORES

nureum Schumack e dro Barbosa. - Lavras: Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de "Mestre".

Orientadora

Profa. Dra. Lisete Chamma Davide

LAVRAS MINAS GERAIS - BRASIL 2000

Ficha catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da UFLA

BARBOSA, Sandro

Citogenética de Híbridos entre *Pennisetum purpureum* Schumack e *Pennisetum glaucum* L. e seus Genitores / Sandro Barbosa. - Lavras: UFLA, 2000. 48p. : il.

Orientadora: Lisete Chamma Davide Dissertação (Mestrado) - UFLA. Bibliografía.

- 1. Capim-elefante. 2. Milheto. 3. Híbrido interespecífico. 4. Citogenética.
- 5. Cromossomo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-633.17 -633.2

SANDRO BARBOSA

CITOGENÉTICA DE HÍBRIDOS ENTRE Pennisetum purpureum Schumack E Pennisetum glaucum L. E SEUS GENITORES

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, área de concentração em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de "Mestre".

APROVADA em 28 de fevereiro de 2000.

Dr. Antônio Vander Pereira

EMBRAPA

Prof. Dr. César Augusto Brasil Pereira Pinto

UFLA

Prof^a. Dr^a. Lisete Chamma Davide UFLA

hehr airde

(Orientadora)

LAVRAS MINAS GERAIS - BRASIL Aos meus pais, Mauro e Cecília, e minha irmã, Sarah OFEREÇO

> A Ir. Mercês, pelo apoio e insentivo, *DEDICO*

AGRADECIMENTOS

A Deus pela oportunidade que me concedeu de fazer este curso.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Biologia, por propiciarem o desenvolvimento dos meus estudos.

À CAPES pelo investimento através da concessão de bolsa de estudos.

A Professora Lisete Chamma Davide, por propiciar-me uma nova visão de mundo a respeito da ciência e por sua orientação e carinho.

Ao pesquisador Dr. Antônio Vander Pereira, pela co-orientação, amizade e disponibilidade constante.

A Professora Geovana pelas valiosas discussões, companheirismo e o suporte estatísco.

Aos professores César Brasil, João Bosco, José Eduardo e Magno Ramalho, pelos valiosos momentos de aprendizagem.

Aos meus familiares: D. Antônia, Sr. Antônio Faustino, Afonso, Daniel, Eliseu, Faustino, Giselda, Isabela, José, Luiz, Luiza, Maria José e Marina, por constituírem a base de minha formação humana e estarem sempre ao meu lado.

A Luciana, por seu amor e presença durante todo esse período e pelo constante incentivo.

A amiga Vânia, pela amizade e companheirismo nos momentos mais dificeis e a leitura crítica deste trabalho.

Aos meus amigos de Lavras, Agostinho, Ana Hortência, Bárbara, Fábio, Grabriela, Juscélio, Juliana, Marcos, Patrick, Rose e Valter por compartilharmos o dia-a-dia acadêmico durante o período do mestrado.

Aos meus amigos e conterrâneos, Celinha, Chico, Daniel, Guto, D. Lilia, Júnia, Júnior, Majela, Nivaldo, Osmar, Tatiana, Selma e D. Vitória pela amizade e o insentivo constante.

Aos colegas do Centro Educacional Frei Seráfico - Pitágoras, Alcimara, Luiz Antônio, Luz, Herbert, Ivan, Michele, Paulo Cesar e Vicente, pelo apoio, confiança e companheirismo.

Aos colegas do Instituto Auxiliadora, Gracinha, João Bosco, Julieta, Magno e Raul, pelo incentivo, amizade e confiança.

Aos colegas do curso de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas,¹ pela convivência sempre amigável.

SUMÁRIO

RESUMO	i
ABSTRACT	ii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO	4
2.1. Capim-elefante (Pennisetum purpureum)	4
2.1.1. Origem e distribuição	4
2.1.2. Sistemática, morfologia e importância econômica	5
2.2. Milheto (Pennisetum glaucum)	6
2.2.1. Origem e distribuição	6
2.2.3. Sistemática, morfologia e importância econômica	
2.3. Importância econômica dos híbridos entre P. purpureum e P. glaucum	8
2.4. Citogenética do gênero Pennisetum	10
2.4.1. Citogenética de P. purpureum	11
2.4.2. Citogenética de P. glaucum	12
2.5. Citogenética de híbridos interespecíficos entre P. purpureum e P. glauc	
	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	17
3.1. Material genético	17
3.2. Avaliação citogenética	17
	17
3.2.2. Análise morfológica dos cromossomos	20
3.3. Avaliação do comprimento total do complemento cromossômico entre os aces	
	21
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4. RESULTADOS E DESCUSSÃO	
4.1. Caracterização citogenética dos acessos de P. purpureum	22
4.2. Caracterização citogenética dos acessos de P. glaucum	
4.3 Caracterização citogenética dos acessos de híbridos interespecíficos (P. purpure	eum:
x P. glaucum)	36
6. CONCLUSÕES	43
	••
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44

RESUMO

BARBOSA, Sandro. Citogenética de híbridos entre *Pennisetum purpureum* e *Pennisetum glaucum* e seus genitores. Lavras: UFLA, 2000. 48p.

(Dissertação – Mestrado em Agronomia – Genética e Melhoramento de Plantas)*

Foram realizados estudos citogenéticos em cinco acessos de híbridos interespecíficos de Pennisetum purpureum e Pennisetum glaucum e seus genitores, pertencentes ao Banco de Germoplasma de Plantas Forrageiras da Embrapa Gado de Leite - Coronel Pacheco-MG. As análises citogenéticas mitóticas realizadas através de coloração convencional (Feulgen) confirmaram o número cromossômico de 2n =14, 28 e 21 para os acessos de P. glaucum, P. purpureum e hibridos, respectivamente. Para cada um desses acessos são apresentadas as descrições do complemento cromossômico e idiogramas que permitiram estabelecer as relações cariotípicas entre os híbridos e seus genitores. Baseado nos dados de comprimento total do cromossomo foi possível estabelecer a classificação do cariótipo dos acessos com relação à simetria. Os cariótipos dos acessos de P. glaucum foram considerados simétricos, enquanto que os hibridos apresentaram cariótipos assimétricos. Para P. purpureum, dois acessos (BAGs 63 e 75) mostraram cariótipos simétricos e três (BAGs 54, 65 e 91) assimétricos. Nos híbridos interespecíficos entre P. purpureum e P. glaucum foi possível inferir a procedência de alguns cromossomos parentais com base nas medidas de comprimento total do cromossomo, presença de satélite e morfologia do cromossomo.

^{*} Comitê orientador: Lisete Chamma Davide – UFLA (Orientadora) e Antônio Vander Pereira – Embrapa Gado de Leite.

ABSTRACT

BARBOSA, Sandro. Cytogenetic of hybrids between *Pennisetum purpureum* e *Pennisetum glaucum* and their parentals. Lavras: UFLA, 48p.

(Dissertation – Master Program in Agronomy/ Genetics and Plant Breeding)*

Cytogenetic studies were carried out on five accesses of interspecific hybrids of Pennisetum purpureum and Pennisetum glaucum and their parentals, which are part of the Forage Germplasm Bank of Embrapa Gado de Leite - Coronel Pacheco-MG. The mitotic cytogenetic analysis performed using conventional staining (Feulgen) confirmed the chromosome number of 2n = 14, 28 and 21 for the accesses of P. glaucum, P. purpureum and their hybrids, respectively. For each access, descriptions of the chromosome complement and idiograms are presented which allowed to establish the karyotypic relationships between the hybrids and their parentals. Based on the total chromosomal length data it was possible to establish the karvotype classification of the accesses concerning symmetry. While the karyotype of P. glaucum accesses was considered symmetric, hybrids presented asymmetric karyotypes. For P. purpureum, two accesses (BAGs 63 and 75) showed symmetric karyotype and three (BAGs 54, 65 and 91) were asymmetric. For the interspecific hybrids it was possible to infer the origin of some parental chromosomes based on the total chromosomal length measurements, satellite presence and chromosome morphology.

^{*} Guidance Committee: Lisete Chamma Davide – UFLA (Major Professor) and Antônio Vander Pereira – Embrapa Gado de Leite.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Pennisetum* Rich. encontra-se distribuído por toda a faixa tropical do planeta, tendo sido coletadas várias espécies nativas na África, Ásia e América do Sul, sendo composto por, aproximadamente, 140 espécies, compreendendo importantes espécies cultivadas, como o capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schumach.) e o milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] (Brunken, 1977; Kativu e Mithen, 1987).

O capim-elefante é considerado como uma das mais importantes forrageiras tropicais, devido ao seu elevado potencial produtivo, qualidade nutritiva e palatabilidade (Seixas, 1996). Contudo, essa forrageira apresenta algumas características que dificultam a sua utilização sob pastejo. Entre elas cita-se a concentração da produção durante o verão, propagação vegetativa, exigência de solo com alta fertilidade, pilosidade e baixa tolerância a geadas. Segundo Pereira (1994), a maioria desses problemas podem ser solucionados através do melhoramento, utilizando-se a variabilidade genética existente nos germoplasmas do capim-elefante e do milheto em combinações interespecíficas.

O milheto é o sexto cereal mais produzido no mundo, sendo seus grãos utilizados na alimentação humana e a planta inteira como forragem para o gado (Minocha, 1991). Entre as características da espécie destacam-se a pouca exigência de fertilidade, resistência a seca, sendo cultivada até mesmo em regiões semi-áridas, respondendo bem a irrigação, apresentando boa resistência ao ataque de pragas e boa produção de sementes.

O capim-elefante e o milheto apresentam várias cultivares que possuem grande diversidade de formas, tipos e com ampla variabilidade genética para a

maioria dos caracteres que, juntamente com as espécies selvagens utilizadas para fins forrageiros e ornamentais, constituem material com grande potencial a ser empregado em programas de melhoramento (Techio, 1998).

As espécies *P. purpureum* (2n = 4x = 28 - genoma A'A' BB) e *P. glaucum* (2n = 2x = 14, genoma AA) são estreitamente relacionadas, apresentando boa capacidade de combinação genética, produzindo híbridos interespecíficos de baixa fertilidade ou estéreis, porém de grande interesse forrageiro, uma vez que apresentam melhor aceitação pelos bovinos do que o próprio capim-elefante (Jauhar, 1981; Schank et al., 1993; Diz, 1994). Normalmente, o híbrido interespecífico assemelha-se mais ao capim-elefante devido a maior contribuição genética (2/3 dos cromossomos) e dominância do genoma B do capim-elefante sobre o genoma A do milheto, com relação às características forrageiras analisadas (Gonzalez e Hanna, 1984). Esses híbridos possuem 21 cromossomos somáticos, sendo possível identificar os cromossomos das duas espécies pelo tamanho e forma na placa metafásica, pois os de *P. glaucum* são de maior tamanho em relação aos de *P. purpureum* (Burton, 1942; Techio, 1998).

O Banco de Germoplasma de Plantas Forrageiras da Embrapa Gado de Leite - BAG possui uma das maiores coleções de *Pennisetum* do Brasil com 120 acessos de capim-elefante, 50 de milheto e 15 de outras espécies de *Pennisetum*. O BAG reúne a maioria das cultivares de capim-elefante existentes no Brasil, bem como materiais introduzidos de coleções estrangeiras.

O germoplasma do BAG é geneticamente constituído por clones, populações e cultivares melhoradas de *P. purpureum*, raças cromossômicas (triplóides e hexaplóides) resultantes da hibridação entre *P. purpureum* x *P. glaucum*, acessos de *P. glaucum* e diversas outras espécies selvagens de *Pennisetum*.

Para utilização e preservação eficiente do germoplasma de *Pennisetum*, torna-se necessário proceder um estudo detalhado de caracterização dos acessos, buscando avaliar e descrever a variabilidade do germoplasma, bem como localizar características e marcadores morfológicos, bioquímicos, citológicos e genéticos que possam ser aproveitados nos programas de melhoramento.

Neste sentido, a análise citogenética tem-se mostrado muito útil na identificação de interações entre os genomas e na caracterização de espécies de *Pennisetum* (Manara, 1973; Jauhar, 1981; Pantulu e Rao, 1982; Techio, 1998). O conhecimento do cariótipo de variedades dentro de espécies pode dar algumas indicações da diversidade e as possíveis barreiras para a recombinação com espécies relacionadas. Assim, este trabalho visa a caracterização citogenética dos genitores de cinco cruzamentos entre capim-elefante e milheto do BAG, bem como averiguar a natureza híbrida dos descendentes obtidos, buscando identificar neles a origem dos cromossomos em relação aos parentais.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Capim-elefante (Pennisetum purpureum Schum.)

2.1.1. Origem e distribuição

O capim-elefante era conhecido pelos nativos africanos pelo nome de "Zinyamunga". Entretanto, o seu descobrimento e divulgação como planta forrageira foram feitos pelo coronel Napier, por cujo nome essa espécie passou a ser conhecida (Granato, 1924).

A espécie *Pennisetum purpureum* é uma gramínea que ocorre naturalmente em uma extensa área ocidental da África (Brunken, 1977), sendo largamente cultivada na maioria das regiões tropicais e subtropicais do mundo, e conhecida por diversos nomes como: capim-elefante, capim-napier, capim gigante, capim cana d'África e outros (Bennett, 1972). Existem poucas informações sobre sua origem filogenética e os centros de diversificação. A África tropical é apontada como o centro de origem e diversidade, sendo os territórios da Guiné, Moçambique, Angola, Zimbabwe e sul do Quênia relacionados como as principais áreas de variabilidade da forrageira (Brunken, 1977).

O capim-elefante foi introduzido inicialmente nos Estados Unidos, pelo Departamento de Agricultura, em 1913 (Jauhar, 1981). No Brasil, esta espécie foi introduzida em 1920, no Rio Grande do Sul, com estacas trazidas dos Estados Unidos. Outra introdução foi relatada em 1921, com material trazido de Cuba para o estado de São Paulo (Brunken, 1977; Faria, 1993).

2.1.2. Sistemática, morfologia e importância econômica

O capim-elefante pertence à família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Paniceae, gênero Pennisetum, o qual possui mais de 140 espécies, incluindo forrageiras cultivadas (P. purpureum, P. clandestinum, P. unisetum, P. pedicellatum), cereais (P. glaucum) e ornamentais (P. vilosum, P. setaceum) (Kativu e Mithen, 1987; Martel et al., 1997). Desde a primeira descrição, esta espécie foi incluída na seção Penicillaria, atualmente denominada seção Pennisetum, na qual também se encontra a espécie P. glaucum (Brunken, 1977).

A espécie Pennisetum purpureum apresenta ciclo vegetativo perene, porte elevado, cespitosa, rizomatosa, colmos eretos, cilindricos e cheios, com nós bem salientes, medindo entre 1,5 a 5,0 m de altura, folhas largas e compridas, inflorescência primária terminal do tipo panícula e abundante lançamento de perfilhos aéreos e basais, com reprodução por sementes e por rizomas (Diz, 1994; Pereira, 1993; Seixas, 1996). Os caracteres morfológicos podem apresentar ampla variação entre os diferentes ecótipos. O grau da variação morfológica chega a ser tão contrastante que vários autores propuseram uma subdivisão da variabilidade dentro da espécie. Diversas proposições de divisão da variabilidade foram apresentadas em relação a presença de pêlos (Bogdan, 1977), diâmetro do colmo, formato da touceira, época de florescimento (Xavier et al., 1993) e estabelecimento de tipo padrão (Pereira, 1993). Maire, citado por Pereira (1993), chegou a propor uma subdivisão da espécie Pennisetum purpureum em três subespécies: a ssp. benthamii, ssp. purpureum e ssp. flexipica. Entretanto para Brunken (1977), a natureza contínua da variação e a compatibilidade genética entre os diferentes ecótipos não permitem uma divisão intraespecífica.

Segundo Pereira (1994), essa espécie pode ser propagada de forma vegetativa com grande facilidade, o que favorece a manutenção da pureza original

do germoplasma durante as repicagens. Essa forma de propagação elimina o problema de recombinação durante o processo sexual, embora o uso de um único clone, em larga escala, possa aumentar o risco de vulnerabilidade genética.

O capim-elefante constitui uma das mais importantes forrageiras, sendo amplamente cultivado devido ao seu elevado potencial de produção de matéria seca, qualidade, palatabilidade, vigor e valor nutritivo, apresentando baixa incidência de pragas e doenças quando comparado a outras espécies (Seixas, 1996). A sua utilização mais freqüente ocorre no regime de corte (capineiras), podendo ser utilizado para ensilagem (Vilela, 1994) e pastejo rotativo (Deresz, 1999).

Por muito tempo, o capim-elefante foi empregado quase que exclusivamente para a formação de capineiras, sendo utilizado na forma de verde picado ou como silagem. Recentemente, com o desenvolvimento da tecnologia de pastejo rotativo, renovou-se o interesse pela sua utilização visando a intensificação da produção de leite a pasto. Resultados de pesquisas com o capim-elefante sob pastejo rotativo têm demonstrado ser possível obter produtividade acima de 15.000 kg de leite/ha/ano (Deresz, 1999). Resultados como este têm contribuído para seleção do capim-elefante como a espécie de maior potencial para produção de leite a pasto.

2.2. Milheto [Pennisetum glaucum (L.) R.Br.]

2.2.1. Origem e distribuição

Os primeiros cultivos do milheto (*Pennisetum glaucum* L.), também comumente denominado como pasto italiano e tifóides, acredita-se que tenham ocorrido no norte e leste da África. Esta espécie foi domesticada como cereal no

sul do Sahara, há aproximadamente 4000-5000 anos. A seleção exercida pelos primeiros cultivos, sob condições culturais diversas, impulsionou o desenvolvimento de várias formas com características diferenciadas. Sua protoginia natural facilitou a introgressão de caracteres de outras espécies anuais cultivadas e selvagens (Jauhar, 1981). Atualmente, a espécie encontra-se distribuída nas áreas semi-áridas da África e Ásia onde é amplamente cultivada, sendo ainda considerada uma forrageira de alta qualidade nos Estados Unidos, Austrália e América do Sul (Kumar e Niamey citados por Mesquita, 1996).

2.2.2. Sistemática, morfologia e importância econômiça

O milheto pertence à familia *Poaceae*, subfamília *Panicoideae*, tribo *Paniceae*, gênero *Pennisetum*, sendo incluído, juntamente com o capim-elefante (*P. purpureum*), na seção *Pennisetum*, por Brunken (1977). Várias sinonímias botânicas são relatadas para essa espécie, entre as quais destacam-se *P. typhoides* Stapf e Hubbard e *P. americanum* (L.) Leeke, sendo que um grande número de trabalhos utiliza tais denominações científicas.

A espécie *Pennisetum glaucum* apresenta ciclo vegetativo anual, porte ereto, podendo apresentar um único caule e atingir de 1 a 3 m. Os caules são compactos, exceto abaixo da panícula. As folhas medem de 20 a 100 cm de comprimento e 5 a 10 mm de largura. A inflorescência é uma panícula densa ou contraída com 10 a 50 cm de comprimento e 0,5 a 4,0 cm de diâmetro (Bogdan, 1977; Pupo, 1979; Alcântara e Bufarah, 1988). A polinização é cruzada, principalmente devido ao seu hábito de floração protogínica, porém, é facilmente autofecundado (Powell, Hanna e Burton, 1975). O milheto apresenta boa resistência à seca e a doenças, é tolerante a baixos níveis de fertilidade do solo e tem boa produção de sementes não deiscentes.

O milheto é uma espécie com duplo propósito, cujos grãos são usados para consumo humano e a planta inteira pode ser utilizada como alimento para o gado, na forma de capineira ou pasto, pois produz grande quantidade de folhagem tenra, nutritiva, palatável e atóxica (Minocha, 1991). A espécie é também considerada o sexto cereal mais importante do mundo, depois do trigo, arroz, milho, cevada e sorgo. Segundo Pantulu e Rao (1982), nutricionalmente, o grão do milheto é superior ao do trigo, do arroz e do milho em relação ao conteúdo mineral (principalmente cálcio e ferro) e é semelhante quanto aos outros constituintes. Burton e Powell (1968) citaram que análises químicas feitas por Aykroyd et al., em 1963, revelaram que o conteúdo e balanço de aminoácidos essenciais no milheto é igual ou superior ao de outros cereais adaptados.

2.3. Importância econômica dos hibridos entre P. purpureum e P. glaucum

O capim-elefante e o milheto apresentam inúmeras cultivares com grande diversidade morfológica e ampla variabilidade genética para uma grande parte dos caracteres de importância agronômica. Essas duas espécies, ambas com número básico x = 7, por serem estreitamente relacionadas, trocam genes com grande facilidade, permitindo a obtenção de híbridos estéreis ou de baixa fertilidade mas de boa qualidade forrageira (Jauhar, 1981; Muldoon e Pearson citados por Diz, 1994). A restauração da fertilidade do híbrido pode ser conseguida pela duplicação do conjunto cromossômico (Hanna e Dujardin, 1985 e 1986).

Vários programas de melhoramento genético têm aproveitado a possibilidade de cruzamento entre *P. purpureum* e *P. glaucum*. Este tipo de combinação genética busca reunir no híbrido algumas das características desejáveis do milheto, tais como qualidade da forragem, resistência à seca,

tolerância às doenças e boa produção de sementes não deiscentes, com a agressividade, rusticidade, perenidade e a elevada produção de matéria seca do capim-elefante (Schank et al., 1993; Diz, 1994). Segundo Jauhar (1981), a forragem desses híbridos interespecíficos apresenta melhor aceitação pelos bovinos do que o próprio capim-elefante.

Os triplóides e hexaplóides têm sido considerados como importantes fontes de variação para a seleção de clones superiores. Entre os híbridos triplóides observa-se grande variabilidade para caracteres de importância forrageira, tendo sido já selecionados materiais com 23% de proteína bruta nas folhas, valor este superior à média de 16% encontrada para o capim-elefante (Pereira, 1998). Entretanto, ainda há pouca disponibilidade de dados bibliográficos sobre as informações botânico-agronômicas, bioquímicas, genéticas e citológicas para híbridos entre *P. purpureum* e *P. glaucum*.

Bogdan (1977) apontou a superioridade de alguns híbridos sobre o capim-elefante em determinados aspectos, tais como: presença de folhas maiores e em maior número, colmos mais desenvolvidos, pêlos foliares mais macios e caules menos fibrosos, além da produção de matéria seca ser também mais elevada.

Techio (1998), analisando dados da inflorescência de dois acessos de híbridos e quatro acessos de capim-elefante do Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Gado de Leite, verificou semelhanças entre eles. Embora não se tenha feito analogia com os mesmos dados de *P. glaucum*, foi observado pela autora que muitas estruturas características de *P. purpureum* manifestam-se nos híbridos, como é o caso da forma, tamanho e cor da panícula e das espiguetas. Essas informações são congruentes com os relatos de Gonzalez e Hanna (1984), que justificam este fato pela maior contribuição genética e dominância do genoma B de *P. purpureum* sobre o genoma A de *P. glaucum*.

2.4. Citogenética do gênero Pennisetum

Veyret, citado por Manara (1973), já havia sugerido para esse gênero dois números básicos, x = 7 e x = 9, o primeiro ocorrendo na Seção *Penicillaria* e o segundo característico das demais Seções *Gymnothrix*, *Brevivalvula*, *Eupennisetum* e *Heterostachya*, segundo classificação estabelecida por Stapf e Hubbard, em 1934 (citados por Schmelzer, 1997). Outros trabalhos referentes ao complemento cromossômico das espécies mais conhecidas do gênero *Pennisetum* evidenciam uma variação no número básico de x = 5, 7, 8 e 9 cromossomos (Hanna, 1981; Hanna e Dujardin, 1983, 1985 e 1986; Minocha, 1991; Martel et al., 1997).

Uma relação entre o tamanho e o número cromossômico foi apresentada por Pantulu e Rao (1982), os quais verificaram que, em todas as espécies de Pennisetum com x = 9, os cromossomos eram pequenos; enquanto que em P. purpureum e P. typhoides (P. glaucum), com x = 7, os cromossomos apresentavam tamanho médio e a espécie P. ramosum (x = 5) apresentou os maiores cromossomos entre os representantes da tribo Paniceae.

De acordo com a classificação proposta por Harlan e de Wet, citados por Martel, Ricroch e Sarr (1996), as espécies de *Pennisetum* podem ser agrupadas em três conjuntos gênicos. O conjunto gênico primário inclui três espécies com 2n = 2x = 14 cromossomos: a cultivada, *P. glaucum* e as duas selvagens, *P. violaceum* e *P. molissimum*. O capim-elefante compõe o conjunto gênico secundário com 2n = 4x = 28, enquanto que o conjunto gênico terciário é caracterizado por apresentar ampla diversidade de números básicos de cromossomos (x = 5, 7, 8 e 9) e níveis de ploidia (diploidia a octaploidia) compreendendo todas as outras espécies do gênero, sendo a espécie

P. schweinfuthii a única representante deste conjunto gênico com 2n = 2x = 14 cromossomos.

2.4.1. Citogenética de Pennisetum purpureum

O capim-elefante tem número básico de cromossomos x = 7. Trata-se de um alotetraplóide (2n = 4x = 28) perene, com comportamento diplóide normal (Burton, 1942; Manara, 1973; Brunken, 1977), possuindo genomas A'A'BB, sendo que o primeiro apresenta grande homologia com o genoma A do milheto e o outro é proveniente de um doador desconhecido (Jauhar, 1981).

Com base em estudos do paquíteno, Pantulu e Venkateswarlu (1968) avaliaram a morfologia dos cromossomos de *P. purpureum*. Os cromossomos 1 e 14 foram considerados os organizadores do nucléolo. Segundo os mesmos autores, o comprimento do maior cromossomo (par I) é 2,7 vezes maior que o comprimento do menor (par XIV), caracterizando um cariótipo assimétrico. Ainda em relação à morfologia cromossômica, Jauhar (1981) acrescentou que o cariótipo de *P. purpureum* é constituído de cromossomos metacêntricos, submetacêntricos e um acrocêntrico. Com base nestas observações, o cariótipo de *P. purpureum* foi incluído na categoria 2b, na classificação de assimetria proposta por Stebbins (1958).

Além disso, a presença de constrição secundária é considerada uma característica morfológica importante nos cromossomos de algumas espécies de *Pennisetum*. As constrições secundárias são também denominadas regiões organizadoras do nucléolo (RONs), em função de serem vistas, durante a prófase, freqüentemente associadas ao nucléolo. Isto porque, de acordo com Guerra (1989), nas constrições secundárias encontram-se genes que produzem

determinados tipos de RNA ribossomais os quais irão constituir grande parte do nucléolo.

O tamanho, número e posição das constrições secundárias e satélites, juntamente com outras características morfológicas dos cromossomos, têm sido empregados extensivamente na caracterização e comparação de cariótipos, auxiliando na determinação de polimorfismos e na distinção de espécies (Guerra, 1989; Techio, 1998).

Algumas hipóteses apresentadas por Stebbins (1971) sobre as variações que podem ocorrer nesta região do cromossomo e também em outras características, procuram esclarecer a origem dessas alterações. Para o autor, as diferenças em número, tamanho e posição dos satélites refletem rearranjos estruturais ocorridos no complemento cromossômico.

Manara (1973) relatou a presença de satélites ocorrendo em apenas um dos homólogos do par cromossômico, com variação em número de 1 a 2, em 8 variedades de *P. purpureum*. Segundo a autora, a presença de satélite constatada em apenas um dos cromossomos de diferentes pares de homólogos parece ser resultado do desaparecimento deste marcador citológico no curso da evolução da espécie, pela perda do segmento contendo satélite ou por efeito da hibridação em que uma das espécies parentais não apresentava satélite.

2.4.2. Citogenética de Pennisetum glaucum

O milheto é uma espécie diplóide anual com 2n = 2x = 14 cromossomos, genoma AA.

O cariótipo do milheto tem sido estudado em vários cultivares, mas poucos marcadores citológicos foram descobertos que pudessem auxiliar na identificação dos cromossomos. Os relatos sobre o cariótipo dessa espécie têm

sido divergentes e, apesar dos vários trabalhos de melhoramento, ainda se sabe muito pouco sobre as barreiras para a recombinação com espécies relacionadas.

Avdulov (1931), estudando os cromossomos do milheto, apresentou um idiograma dos 14 cromossomos com centrômeros medianos e submedianos. Foi observado pelo autor que o menor par de cromossomos apresentava satélite no braço curto e representava, aproximadamente, 66% do tamanho do maior par de cromossomos do complemento.

Pantulu (1958), examinando meiócitos no paquíteno fez o agrupamento dos cromossomos em 4 classes com base no comprimento relativo e na posição do centrômero: 1) dois pares longos (cromossomos 1 e 2) com centrômero mediano; 2) dois pares um pouco menores (cromossomos 3 e 4) com centrômero mediano a submediano; 3) dois pares de tamanho médio (cromossomos 5 e 6) com centrômero submediano e 4) o menor par com o organizador nucleolar. Segundo o mesmo autor, a maioria das linhagens de milheto tem um par de cromossomos com organizador nucleolar, entretanto, exceções têm sido relatadas.

Estudos cariotípicos sobre o milheto realizados por vários autores (Krishnaswamy, 1962; Al-Fakhry et al., 1964; Gill e Gupta, 1966), citados por Burton e Powell (1968), relatam a presença de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos e dois cromossomos com organizadores nucleolares. A localização do satélite foi observada no braço curto do cromossomo maior e no braço longo do 14º cromossomo do complemento.

Burton e Powell (1968), avaliando cariótipo de cinco linhagens de milheto, averiguaram a similaridade com os relatos de Avdulov (1931). Nessas linhagens, o satélite foi localizado no braço curto do menor cromossomo e este era aproximadamente 2/3 do comprimento do maior cromossomo, sendo observados centrômeros medianos e submedianos. Esses dados foram confirmados por Pantulu e Venkateswarlu (1968).

Virmani e Gill (1972) e Tyagi (1975) também obtiveram o cariótipo do milheto e classificaram os cromossomos 1, 2, 3 e 5 como metacêntricos, 4 e 6 como submetacêntricos e o cromossomo 7 como acrocêntrico e com satélite.

Jauhar (1981) descreveu o cariótipo do milheto como simétrico, devido a presença de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos e pelo fato de o maior deles ser 1,5 vez maior que o menor, sendo, portanto, incluído na categoria la da classificação de assimetria proposta por Stebbins (1958).

Pantulu e Rao (1982) descreveram, em algumas variedades de origem africana, um ou dois dos pares de cromossomos grandes com a presença de constrição secundária em seus braços longos.

De acordo com Jauhar (1981), divergências entre os trabalhos relacionados à classificação dos cromossomos e localização do satélite são notórias. Considerando uma metáfase mitótica com os cromossomos condensados não seria inesperado que um pesquisador localizasse o centrômero mediano onde outros haviam classificado como submediano. O autor relatou ainda que essas diferenças podem estar relacionadas à magnitude de erro na medição dos cromossomos, tendo em vista que esse procedimento é geralmente feito na metáfase, após pré-tratamentos para condensação e espalhamento dos cromossomos.

Trabalhos comparando cromossomos no paquíteno e em células somáticas também chegaram a diferentes conclusões. Virmani e Gill (1972), analisando cromossomos mitóticos de milheto, classificaram o cromossomo 1 como metacêntrico, enquanto que Lobana e Gill (1973), baseados em análises do paquíteno, classificaram o mesmo cromossomo como submetacêntrico.

A presença de cromossomos B foi registrada por Pantulu (1960) na espécie P. typhoydes (atualmente denominada P. glaucum), tendo o autor verificado uma variação de 1 a 3 em relação ao complemento normal de 2n = 14.

Na metáfase mitótica, esses cromossomos destacavam-se por apresentarem a metade do tamanho dos cromossomos A, também por serem heterocromatinizados e por estarem localizados na periferia da placa metafásica. Jones e Rees (1982) relataram a presença de até 8 cromossomos B em *P. typhoides* (*P. glaucum*).

2.5. Citogenética de híbridos interespecíficos entre Pennisetum purpureum e Pennisetum glaucum

Os híbridos possuem 2n = 3x = 21 cromossomos, possuindo os genomas AA'B, dos quais sete são oriundos do diplóide (2x) *P. glaucum* e 14 do tetraplóide (4x) *P. purpureum*. A homologia dos sete cromossomos do milheto com sete dos quatorze cromossomos de capim-elefante foi demonstrada por Jauhar (1981). De acordo com Burton (1942), existe grande facilidade de identificar os cromossomos das duas espécies pelo tamanho e forma na placa equatorial, pois os cromossomos de *P. glaucum* são de maior tamanho que os de *P. purpureum*. Normalmente o híbrido assemelha-se mais ao capim-elefante, por causa da maior contribuição genética (2/3 dos cromossomos) e da dominância do genoma B de *P. purpureum* sobre o genoma A de *P. glaucum*, com relação as características forrageiras analisadas (Gonzalez e Hanna, 1984).

Vários autores (Krishnaswamy, 1951; Ramulu, 1968; Rangaswamy, 1972), citados por Jauhar (1981), estudaram o pareamento cromossômico no híbrido. Com base na formação de 7_{II} e 7_I em muitas células e a ausência de trivalentes foi confirmado que o genoma A do *P. glaucum* é homólogo ao genoma A' do *P. purpureum*. Pantulu e Rao (1982) relataram que os cromossomos 1 a 5 do milheto são homólogos aos cromossomos 1 a 5 do capim-elefante e os cromossomos 6 e 7 do milheto são homólogos aos cromossomos 8 e 14 do capim-elefante, respectivamente. Contudo, há poucos registros na literatura sobre o

estudo cariotípico desses híbridos bem como de marcadores citológicos que pudessem auxiliar na identificação dos cromossomos.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material Genético

Foram caracterizados citogeneticamente cinco supostos híbridos resultantes do cruzamento entre capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) e milheto [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.], bem como seus respectivos genitores.

Para obtenção dos supostos híbridos foram selecionados cinco acessos de capim-elefante e cinco acessos de milheto pertencentes ao Banco de Germoplasma de Plantas Forrageiras da Embrapa Gado de Leite, os quais encontram-se discriminados na Tabela 1. Os acessos de capim-elefante e de milheto foram escolhidos com base na complementação alélica e presença de caracteres de importância forrageira. Foram realizadas diversas combinações de cruzamentos interespecíficos, tendo sido selecionados para este estudo, os cinco supostos híbridos da geração F₁ de melhor comportamento forrageiro.

As análises citogenéticas do material citado foram realizadas no Laboratório de Citogenética Vegetal do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras - UFLA.

3.2. Avaliação citogenética

3.2.1. Preparação citológica

As análises citogenéticas foram realizadas a partir de células

meristemáticas de pontas de raízes obtidas pelo enraizamento de estacas ou por germinação de sementes.

Para os acessos de capim-elefante e híbridos, estacas de plantas adultas, com dois a três nós foram colocadas para enraizar em recipientes plásticos contendo água destilada, a temperatura ambiente. Para os acessos de milheto, sementes

TABELA 1. Acessos de *Pennisetum purpureum*, *Pennisetum glaucum* e supostos hibridos interespecíficos do Banco de Germoplasma da Embrapa Gado de Leite, Coronel Pacheco-MG. UFLA. Lavras-MG, 2000.

Acesso	Denominação comum	Identificação
BAG 54	Capim Cana D'África	P. purpureum
BAG 63	Cuba 169	P. purpureum
BAG 65	Roxo Botucatu	P. purpureum
BAG 75	U 7136	P. purpureum
BAG 91	Pasto Panamá	P. purpureum
M 24	ICMB 90111	P. glaucum
M 35	ICMP 89410	P. glaucum
M 36	AFPOP88	P. glaucum
M 38	AFPOP 90	P. glaucum
M 44	Bulk 1	P. glaucum
CNPGL 94-F44-03	BAG 63 x M36	Hibrido interespecífico
CNPGL 94-F49-06	BAG 91 x M38	Hibrido interespecífico
CNPGL 94-F52-02	BAG 54 x M44	Híbrido interespecífico
CNPGL 94-F53-02	BAG 65 x M35	Híbrido interespecífico
CNPGL 94-F60-01	BAG 75 x M24	Híbrido interespecífico

foram colocadas para germinar em placas de Petri sobre papel de filtro umidificado com água destilada, a temperatura ambiente.

All Shapped to

Para obtenção de metáfases foi utilizada a técnica de esmagamento e coloração para espécies de *Pennisetum*, adaptada por Techio (1998).

As raízes com aproximadamente 1,0cm de comprimento foram submetidas à sincronização do ciclo celular (procedimento adaptado de Lee et al., 1997), através do tratamento com hidroxiuréia a 2,5mM, por 14 horas, mantendo-se as mesmas condições de germinação.

Em seguida, as estacas e sementes foram lavadas e transferidas para recipientes contendo água destilada para a retomada do processo de divisão celular, onde permaneceram por 6 horas.

Após a sincronização e a recuperação, as raízes foram coletadas e prétratadas com solução de ciclohexamida 25mg/l e hidroxiquinoleína 300mg/l (1:1) por 2h 45min. A fixação foi feita em metanol : ácido acético (3:1) por 24h, sob resfriamento; em seguida, o material foi lavado rapidamente em água destilada, transferido e armazenado em álcool 70%, a 10°C.

Para degradar a parede celular e facilitar a retirada do meristema possibilitando assim um melhor espalhamento do material sobre a lâmina, as raízes foram submetidas a maceração enzimática com Pectinase (SIGMATM) diluída em tampão citrato pH 4,6 (5:1), em tubos de EppendorfTM, onde permaneceram por 2h 45min.

Para coloração, foi utilizado o reativo de Schiff por 1h 30min, após realizada hidrólise de 8 minutos em HCl 1N a 60°C. Os meristemas corados, foram seccionados sob um microscópio estereoscópio. O esmagamento foi realizado em ácido acético 45% e a lamínula removida com nitrogênio líquido. As lâminas, após serem secadas ao ar, foram montadas com Entellan®.

3.2.2. Análise morfológica dos cromossomos

Para cada acesso estudado foram avaliadas de 10 a 20 metáfases para determinação do número de cromossomos e destas foram selecionadas pelo menos cinco, as quais foram fotomicrografadas em microscópio Olympus BX50, utilizando-se filmes preto e branco APX asa 25, revelados com D-76 (Kodak) e copiados em papel Kodabrome Print RCF3.

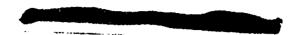
á,

As melhores fotomicrografias foram selecionadas e digitalizadas por meio de um Scan Jet 4c, 2000 DPI, acoplado a um microcomputador. As imagens digitalizadas foram analisadas utilizando software Jandel Sigma Scan[®] Pro v. 2,0. As medidas de comprimento dos cromossomos, obtidas pelo processo de análise de imagem, foram determinadas pela média de cinco avaliações, utilizando-se as "ferramentas" do programa citado.

A medida do comprimento dos braços dos cromossomos foi feita a partir da extremidade até o centrômero, incluindo constrições secundárias quando presentes.

Foram avaliados: a) comprimento do braço maior: BL; b) comprimento do braço menor: BC; c) comprimento total do cromossomo i: Cti = BL + BC; d) relação de braços: RB = BL / BC; e) comprimento total do lote haplóide: CTLH= Σ Cti/2; f) comprimento relativo: CR = Cti/CTLH x 100.

Com esses dados foi feita a identificação dos pares homólogos em cada célula dos genitores. Uma vez identificados os cromossomos, foram calculadas as médias dos valores de relação de braços (RB) e de comprimento relativo (CR). Os cromossomos foram organizados e numerados em ordem decrescente de tamanho de I a VII, I a XIV e I a XXI para milheto, capim-elefante e híbridos interespecíficos, respectivamente, e representados na forma de idiograma.



A classificação morfológica dos cromossomos foi feita de acordo com a nomenclatura proposta por Levan et al. (1964), baseada na relação de bracos.

3.3. Avaliação do comprimento total do complemento cromossômico entre os acessos

Foi efetuada a análise de variância para detectar a existência de variação para o comprimento total do complemento (Ctc) entre acessos dentro de genótipos.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado considerando-se 15 acessos e 5 repetições.

O modelo estatístico adotado foi:

 $\mathbf{Y}_{ii} = \mathbf{m} + \mathbf{t}_i + \mathbf{e}_{ii}$

Y_{ij} = observação do acesso i referente a repetição j

m = média geral do experimento

t_i = efeito do acesso i

 e_{ii} = erro experimental

A comparação entre os acessos foi feita utilizando-se o teste de Scott-Knott (1974) adotando-se o nivel de significância de 5%.

As análises foram realizadas utilizando o programa Sisvar versão 4.0, desenvolvido pelo Prof. Daniel Ferreira Furtado do Departamento de Ciências Exatas da Universidade Federal de Lavras (DEX / UFLA).



4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número somático de cromossomos para os cinco acessos de milheto, capim-elefante e dos híbridos interespecíficos, foi obtido em conformidade com a literatura, sendo 14, 28 e 21, respectivamente (Burton, 1942; Pantulu, 1958; Burton e Powell, 1968; Manara, 1973; Brunken, 1977; Jauhar, 1981; Pantulu e Rao, 1982; Techio, 1998). Entre os acessos avaliados neste trabalho, somente os BAGs 54 e 65 já haviam sido descritos por Techio (1998)

Nas Tabelas 2, 3, 4 e 5 estão expressas as características do complemento haplóide dos cromossomos dos cinco acessos de cada taxa estudado, cujas metáfases e idiogramas estão apresentados nas Figuras 1, 3 e 5 e 2, 4 e 6, respectivamente. Na Tabela 6, é apresentado o resumo da análise de variância para o comprimento total do complemento (Ctc) entre acessos dentro dos taxas. A Tabela 7 apresenta o comprimento total do complemento cromossômico (CTc) e a classificação dos acessos segundo o teste de Scott-Knott.

4.1. Caracterização citogenética dos acessos de P. purpureum

A comparação do complemento cromossômico dos acessos de capimelefante, de modo geral, mostrou grande similaridade, o que, segundo Manara (1973), já era esperado para *P. purpureum*.

No entanto, quando se comparam os acessos com relação a determinados parâmetros verifica-se algumas diferenças. Com relação ao comprimento relativo dos cromossomos, por exemplo, observa-se para os BAGs 54, 65 e 91, que o

maior par de cromossomos representa, em média, 10,7% do comprimento do lote haplóide, chegando a ser o dobro do último par, cujo comprimento relativo representa, em média, 5% do lote haplóide (Tabela 2). Para os BAGs 63 e 75 a relação entre os cromossomos maior e menor não atingiu a proporção de 2:1. O comprimento relativo tem como vantagem em relação ao comprimento absoluto ser menos influenciado pelas variações devidas ao grau de contração cromossômica entre as diferentes metáfases.

....

Nos cinco acessos de capim-elefante avaliados foram observados cromossomos metacêntricos e submetacêntricos em algumas metáfases, porém, ao calcular-se a média das metáfases avaliadas para cada acesso, os cromossomos submetacêntricos foram suprimidos por estarem presentes em algumas poucas metáfases. Contudo, foi observado que, entre os sete primeiros pares de cromossomos, há, pelo menos, dois pares submetacêntricos e entre os sete pares restantes ocorre pelo menos um par submetacêntrico. Este fato, associado à diferença de comprimento relativo ser praticamente o dobro entre o maior e o menor par nos BAGs 54, 65 e 91 (Tabela 3), sugere a inclusão do cariótipo desses acessos na categoria 2b, de acordo com a classificação de Stebbins (1958) para classificação da assimetria de complementos cromossômicos. Para os acessos BAGs 63 e 75, devido à relação entre o maior e menor braço ter sido menor que 2 : 1 (Tabela 3), o cariótipo enquadra-se na categoria 1a - simétrico.

Pantulu e Venkateswarlu (1968), em estudos no paquíteno avaliaram a morfologia dos cromossomos de *P. purpureum* e verificaram que o comprimento do maior cromossomo do complemento foi 2,7 vezes maior que o comprimento do cromossomo menor. Este dado, segundo os autores, caracteriza um cariótipo assimétrico. No entanto, Manara (1973), analisando oito variedades de capimelefante relatou a ocorrência de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos

TABELA 2. Valores médios, em micrômetros (μm), das variáveis cromossômicas dos acessos de capim-elefante (P. purpureum). (C = cromossomo; BL = braço maior; BC = braço menor; Cti = comprimento total do cromossomo; RB = relação de braços; CR = comprimento relativo e CL = classificação dos cromossomos em relação a posição do centrômero, sendo: m = metacêntrico) UFLA. Lavras - MG, 2000.

BAG 54 B.				BA	G 6	3		BAG 65						BAG 75				BAG 91												
C	BI	Be	Cti	CR	RB	CL	BI	Bo	Cti	CR	RĐ	CL	Bl	Во	Cti	CR	RB	CL	BI	Bo	Cti	CR	RB	CL	Bl	Bc	Cti	CR	RB	CL
I	1,70	1,21	2,91	10,70	1,40	m+	1,76	1,40	3,16	10,19	1,26	m*	1,66	1,34	3,00	10,85	1,24	m	1,49	1,20	2,69	10,05	1,25	m+	1,67	1,28	2,95	10,57	1,30	m ⁴
II	1,35	1,02	2,37	8,72	1,32	m	1,53	1,23	2,76	8,88	1,24	m	1,41	1,17	2,58	9,31	1,20	m	1,47	1,00	2,47	9,25	1,47	m	1,51	1,21	2,72	9,78	1,25	m
Ш	1,32	1,05	2,37	8,70	1,26	m	1,46	1,13	2,59	8,32	1,29	m	1,25	1,02	2,2	7 8,24	1,23	m	1,23	0,98	2,21	8,23	1,26	m	1,29	0,98	2,27	8,11	1,32	m
IV	1,23	0,88	2,11	7,76	1,39	m	1,29	1,12	2,41	7,79	1,15	m*	1,21	0,92	2,13	7,71	1,3 1	m	1,15	1,00	2,15	8,04	1,15	m	1,15	1,00	2,15	7,70	1,14	m
V	1,10	0,96	2,06	7,58	1,15	m	1,22	1,07	2,29	7,36	1,14	m	1,12	0,96	2,0	7,53	1,17	m	1,06	0,95	2,01	7,51	1,11	m	1,18	0,85	2,03	7,28	1,39	m
VI	1,14	0,83	1,97	7,22	1,35	m	1,26	0,97	2,23	7,18	1,30	m	1,12	0,8	2,0	1 7,29	1,26	m	1,02	0,91	1,93	7,20	1,11	m	1,09	0,91	2,00	7,20	1,20	m
VII	1,00	0,86	1,86	6,84	1,16	m	1,26	0,91	2,17	6,98	1,38	m	1,12	0,82	1,9	7,00	1,36	m	1,03	0,82	1,85	6,92	1,27	m	1,05	0,89	1,94	6,95	1,18	m
VIII	1,07	0,75	1,82	6,69	1,41	m	1,15	0,9	2,0	6,70	1,23	m	1,04	0,8	1,8	6,85	1,23	m	0,97	0,84	1,81	6,75	1,15	m	1,04	0,84	1,88	6,72	1,24	m
IX	0,98	0,81	1,79	6,58	1,20	m	1,15	0,9	2,0	5 6,2	1,21	m	0,96	0,86	5 1,8	2 6,57	1,12	វារ	0,96	0,81	1,7	7 6,60	1,18	m	0,98	0,81	1,79	6,41	1,20	m
X	0,94	0,80	1,74	6,36	1,18	m	1,10	0,87	1,97	6,36	1,26	m	0,96	0,79	1,7	6,31	1,22	m	0,91	0,81	1,72	6,43	1,13	m	0,94	0,82	1,76	6,30	1,15	m
ΧI	0,90	0,78	1,68	6,19	1,15	m	1,06	0,8	7 1,9:	3 6,23	1,22	m	0,86	0,80	1,6	5 5,97	1,08	m	0,93	0,72	1,65	5 6,15	1,30	m	0,93	0,75	1,68	6,02	1,23	m
XII	0,88	0,71	1,59	5,87	1,24	m	1,08	0,7	9 1,8	7 6,01	1,36	m	0,90	0,7	3 1,6	3 5,89	1,23	m	0,84	0,74	1,5	8 5,91	1,13	m	0,88	0,75	1,63	5,85	1,18	m
XIII	0,80	0,70	1,50	5,50	1,14	m	0,97	0,84	1,8	5,82	1,15	m	0,82	0,70	1,5	2 5,45	1,18	m	0,83	0,69	1,52	2 5,70	1,20	m	0,85	0,75	1,60	5,74	1,14	m
ΧIV	0,79	0,64	1,43	5,25	1,22	m	0,95	0,7	5 1,7	5,49	1,26	m	0,72	0,6	5 1,3	7 4,93	3 1,11	m	0,73	0,65	1,38	5,18	1,13	m	0,82	0,66	1,48	5,03	1,26	m
CTL	H		27,20)				-	31,0	2					27,0	iS					26,7	4					27,8	3		

^{*} presença de satélite

TABELA 3. Índice de diferença de tamanho entre o cromossomo maior e o menor, para os acessos de *P. purpureum*, *P. glaucum* e supostos hibridos entre *P. purpureum* e *P. glaucum*. UFLA, Lavras-MG, 2000.

Acessos	Diferença	Acessos	Diferença	Acessos	Diferença
BAG 63	1,8	M 36	1,7	F94-44-02	2,6
BAG 91	2,0	M 38	1,5	F94-49-06	2,6
BAG 54	2,0	M 44	1,7	F94-52-02	2,5
BAG 65	2,2	M 35	1,5	F94-53-02	2,6
BAG 75	1,9	M 24	1,5	F94-60-01	2,9

e que a relação entre o maior e o menor cromossomo foi menor que 2:1. Esses dados associados à ausência de cromossomos acrocêntricos levaram a autora a incluir o cariótipo das oito variedades na categoria 1a, considerando os cariótipos como simétricos. Essa divergência de resultados confirma a ocorrência de variação intravarietal em *P. purpureum* e permite inferir que alterações estruturais, como deleções e adições, devem ter contribuído para aumentar ou diminuir a diferença de tamanho entre o maior e o menor cromossomo entre os diferentes acessos de capim-elefante.

No BAG 63 (Figuras 1B e 2B) verificou-se a presença de satélites no braço curto em um dos homólogos do 1º par em uma metáfase e no 4º par de cromossomos em outra metáfase. Nos BAGs 65 (Figuras 1C e 2C), 75 (Figuras 1D e 2D) e 91 (Figuras 1E e 2E) foi observada a presença de satélite no braço curto em um dos homólogos do 1º par de cromossomos. No BAG 54 (Figura 1A e 2A) também foi observada a ocorrência de satélite no braço curto do 1º par de cromossomos, porém nos dois homólogos. Techio (1998) também já havia registrado a presença de satélites em dois cromossomos nesse mesmo acesso.

A presença destas estruturas tem sido registrada como uma importante característica morfológica nos cromossomos de algumas espécies de *Pennisetum*. Pantulu e Venkateswarlu (1968) observaram no paquíteno que o 1º e o 14º pares de cromossomos do complemento de *P. purpureum* apresentavam satélites terminais, enquanto que Manara (1973) observou a presença de satélites em oito variedades de *P. purpurem* no braço curto de um dos homólogos de 1 ou 2 pares cromossômicos.

Observa-se, portanto, que este trabalho vem comprovar a presença de satélite no maior par de cromossomo do capim-elefante, onde essa estrutura parece ser mais estável. Um segundo cromossomo do complemento pode apresentar satélite, como é o caso do cromossomo IV do BAG 63 estudado neste trabalho e do 14º par, observado por Pantulu e Venkateswarlu (1968).

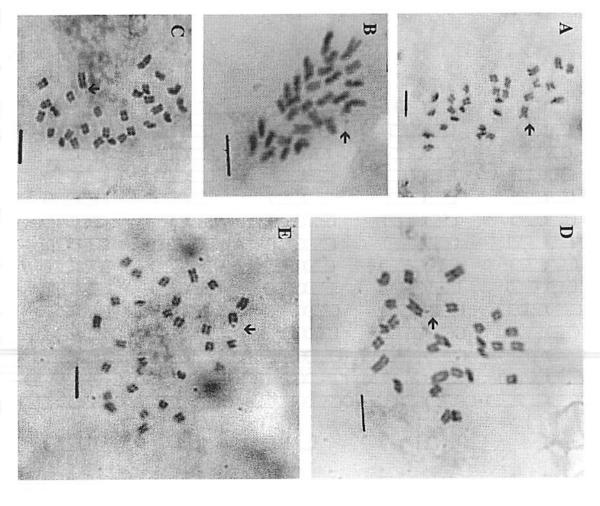


Figura satélites e as barras representam 5 µm. Schumack) com 2n = 4x = 28. As letras representam: A-BAG 54, B-BAG 63, C-BAG 65, D-BAG 75, E-BAG 91. As setas indicam Metáfases somáticas de capim-elefante (P. purpureum

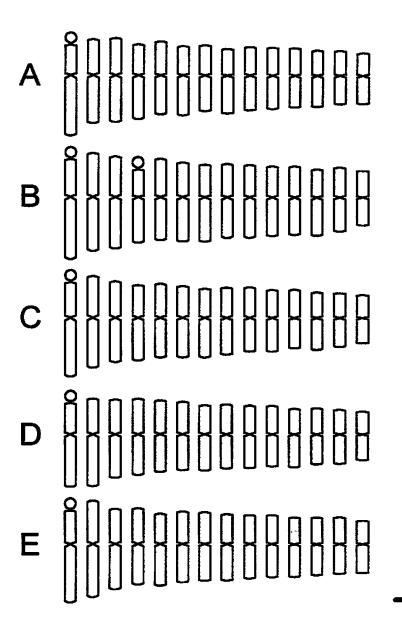


Figura 2 - Idiogramas de capim-elefante (*P. purpureum*), sendo A-BAG 54, B-BAG 63, C-BAG 65, D-BAG 75 e E-BAG 91. A barra representa 1µm.

O registro de satélites em apenas um dos homólogos do par de cromossomos poderia ser explicado, segundo Manara (1973), pela simples perda de um segmento do braço possuidor do satélite ou, possivelmente, devido a ocorrência de combinações híbridas, nas quais não havia a presença de satélite em uma das espécies parentais. Outra explicação é dada pela possibilidade de ocorrerem erros na classificação dos pares de cromossomos devido às diferenças mínimas existentes entre alguns deles no que se refere ao tamanho e morfologia. Nesse caso, o uso das técnicas de bandeamento poderia auxiliar na elucidação da formação dos pares cromossômicos.

Embora a análise estatística não tenha detectado diferença entre os acessos de capim-elefante com relação ao comprimento total do complemento, pode-se observar que o BAG 63 apresentou tendência para maior comprimento total do lote haplóide (CTLH) com 31,02 µm (Tabela 5). Os BAGs 54, 65 e 91 mostraram CTLH semelhantes em torno de 27,5 µm e o BAG 75 apresentou o menor CTLH entre os acessos estudados com 26,74 µm (Tabela 5). No estudo realizado por Manara (1973), foram também constatadas diferenças no comprimento total do complemento cromossômico entre variedades de *P. purpureum*. É interessante notar que a presença de um satélite a mais no BAG 63 não foi responsável pelo seu maior complemento, uma vez que o comprimento relativo do 4º cromossomo desse acesso foi muito semelhante ao dos BAGs 54, 65 e 91. O 4º par apresentou-se maior no BAG 75 (Tabela 2).

Em um núcleo, a massa total de cromossomos é estreitamente correlacionada com seu conteúdo de DNA. Stebbins (1971) relatou ser possível, através da análise dos cromossomos fazer inferências sobre o conteúdo de DNA de um organismo, ou seja, ter noção sobre a quantidade de material genético existente no núcleo. Porém, para que inferências desse tipo possam ser feitas é necessário que as comparações entre a quantidade de DNA e o comprimento do

TABELA 4. Análise de variância para o comprimento total do lote haplóide (CTLH) entre acessos dentro das espécies. UFLA, Lavras-MG, 2000.

GL	QM		
14	484.531**		
59	30.567		
73	117.628		
	14 59	14 484.531** 59 30.567	

CV (%) = 16,00

TABELA 5. Comprimento total do lote haplóide (CTLH), expresso em micrômetro (μm), para os acessos de *P. purpureum*, *P. glaucum* e híbridos interespecíficos entre *P. purpureum* e *P. glaucum* e classificação baseada no teste de Scott-Knott para fonte de variação acesso ao nível de significância de 5%. UFLA, Lavras-MG, 2000.

P. purpureum		P. glaucum		Híbridos interespecíficos	
BAG 63	31,02 a1	M36	30,21 a1	F94-44-02	50,98 a3
BAG 91	27,88 al	M38	23,14 a1	F94-49-06	43,36 a2
BAG 54	27,20 a1	M44	28,89 a1	F94-52-02	49,74 a3
BAG 65	27,64 al	M35	26,99 a1	F94-53-02	50,46 a3
BAG 75	26,74 a1	M24	32,58 a1	F94-60-01	43,97 a2

complemento cromossômico dos acessos sejam realizadas em condições ambientais e estágios de desenvolvimento semelhantes.

4.2. Caracterização citogenética dos acessos de P. glaucum

Os acessos de milheto apresentaram grande similaridade quanto a morfologia e tamanho dos cromossomos.

Com relação ao comprimento relativo, observa-se que, em média, o maior par de cromossomos representou 17,1% do comprimento do lote haplóide,

chegando a ser 1,6 vez maior que o último par, cujo comprimento relativo representa, em média, 10,9% do lote haplóide (Tabela 6).

Os cinco acessos de milheto estudados apresentaram cromossomos metacêntricos e submetacêntricos em várias metáfases. Com base na média das metáfases observadas em quatro dos acessos estudados (M 24, M 35, M 36 e M 44), os cromossomos I, II, IV, V e VII foram classificados como metacêntricos e os cromossomos III e VI como submetacêntricos. O acesso M 38 apresentou os cromossomos IV e VI classificados como submetacêntricos e os demais como metacêntricos (Tabela 6).

Estudos sobre os cromossomos do milheto relatam a ocorrência de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos e que o maior par seria aproximadamente 1,5 vez maior que o comprimento do menor par (Avdulov, 1931; Burton e Powell, 1968; Jauhar, 1981). Baseado nesses dados, Jauhar (1981) classificou o cariótipo do milheto como simétrico. Além disso, o cariótipo do milheto foi considerado por esse mesmo autor como o mais representativo da categoria la na classificação de assimetria proposta por Stebbins (1958).

A observação de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos tem sido relatada para o milheto por vários autores, porém, o número e o tamanho destes cromossomos têm sido contrastantes em alguns trabalhos. Pantulu (1958), baseando-se no comprimento relativo e na posição do centrômero, classificou os cromossomos 1 e 2 como medianos, 3 e 4 como medianos a submedianos e os cromossomos 5 a 7 como submedianos. Virmani e Gill (1972) e Tyagi (1975) classificaram os cromossomos 1, 2, 3 e 5 como metacêntricos, 4 e 6 como submetacêntricos e o 7 como acrocêntrico.

TABELA 6. Valores médios, em micrômetros (μm), das variáveis cromossômicas dos acessos de milheto (*P. glaucum*). (C = cromossomo; BL = braço maior; BC = braço menor; Cti = comprimento total do cromossomo; RB = relação de braços; CR = comprimento relativo e CL = classificação dos cromossomos quanto a posição do centrômero, sendo: m = metacêntrico e sm = submetacêntrico) UFLA. Lavras - MG, 2000.

	M 24		M 35	M 36	M 38	M 44
C Bl	Bc Cti CR	RB CL	Bl Bc Cti CR RB CL	Bl Bc Cti CR RB CL	Bl Bc Cti CR RB CL	Bl Bc Cti CR RB CL
3,24 2	2,26 5,50 16,89	1,46 m	2,58 1,87 4,45 16,51 1,38 m*	3,01 2,42 5,43 17,97 1,24 m*	2,14 1,75 3,89 16,82 1,22 m*	2,89 2,17 5,06 17,51 1,33 m ^o
2,83	2,55 5,38 16,49	1,11 m	2,41 1,97 4,38 16,23 1,22 m	2,75 2,22 4,97 16,45 1,24 m	2,15 1,62 3,77 16,27 1,32 m	2,70 2,05 4,75 16,44 1,32 m
3,08	1,80 4,88 14,98	1,71 sm	2,62 1,54 4,16 15,39 1,70 sm	2,98 1,72 4,70 15,55 1,73 sm	2,00 1,55 3,55 15,33 1,29 m	2,74 1,60 4,34 15,03 1,71 sm
V 2,70	2,03 4,73 14,51	1,33 m	2,26 1,67 3,93 14,55 1,35 m	2,43 1,68 4,11 13,61 1,44 m	2,10 1,23 3,33 14,38 1,75 sm	2,44 1,70 4,14 14,33 1,43 m
2,71	1,89 4,60 14,10	l,44 m	2,05 1,58 3,63 13,42 1,29 m	2,20 1,88 4,08 13,48 1,17 m	1,80 1,35 3,15 13,60 1,34 m	2,28 1,69 3,97 13,74 1,35 m
7I 2,52	1,42 3,94 12,10	1,78 sm	2,16 1,26 3,42 12,67 1,71 sm	2,38 1,37 3,75 12,41 1,73 sm	1,79 1,05 2,83 12,27 1,70 sm	2,30 1,34 3,64 12,58 1,71 sm
11 2,06	1,49 3,55 10,91	1,38 m*	1,84 1,18 3,02 11,19 1,56 m*	1,91 1,26 3,17 10,49 1,51 m*	1,51 1,11 2,62 11,30 1,36 m*	1,62 1,37 2,99 10,53 1,19 m*
TLH	32,58		26,99	30,21	23,15	28,89

^{*} presença de satélite.

Divergências entre os diferentes trabalhos com relação a classificação dos cromossomos e a localização do satélite são notórias. Jauhar (1981) considerou que essas diferenças podem estar relacionadas a magnitude de erro nas medições dos cromossomos.

Os resultados obtidos neste trabalho, principalmente com relação à diferença de tamanho entre o maior e o menor cromossomo, 1,6 vez (Tabela 3), permitem incluir os acessos de milheto na categoria 1a de Stebbins (1958), como já havia sido proposto por Jauhar (1981).

Nos acessos M 35, M 36, M 38 e M 44 (Figuras 3B a 3E e 4B a 4E) verificou-se a presença de satélites no braço curto em um dos homólogos do 1° e 7° pares de cromossomos. No acesso M 24 (Figura 3A e 4A), o satélite foi observado no braço curto de um dos homólogos do par VII.

A presença de satélites em 1 ou 2 pares de cromossomos foi observada no milheto por vários autores (Pantulu, 1958; Burton e Powell, 1968; Pantulu e Venkateswarlu, 1968; Jauhar, 1981). Gill e Gupta, citados por Burton e Powell (1968), localizaram o satélite no braço curto do maior cromossomo do complemento. Em todos os relatos o menor par de cromossomos apresentou-se satelitado.

Com relação ao comprimento total dos cromossomos, verificou-se que o acesso M24 apresentou o maior comprimento total do lote haplóide (CTLH) com 32,58 µm. Pode-se perceber que houve uma tendência de variação entre os acessos de milheto com relação ao CTLH (Tabela 5), embora a análise estatística não tenha detectado diferença entre os acessos de milheto.

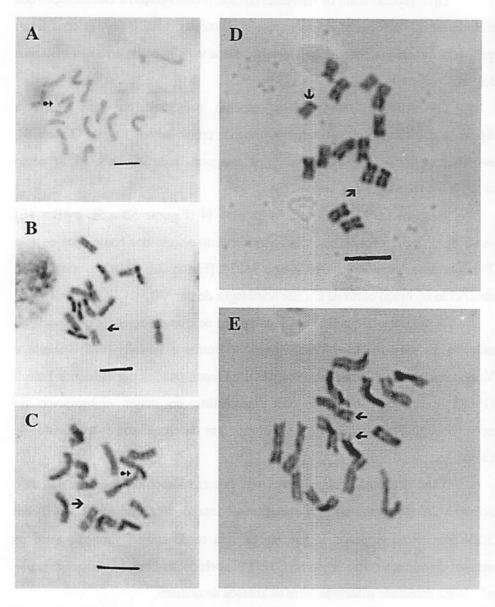


Figura 3 - Metáfases somáticas de milheto (P. glaucum L.) com 2n = 2x = 4. As letras representam: A-M24, B-M35, C-M36, D-M38 e E-M44. As setas indicam satélites e as barras representam 5 μ m.

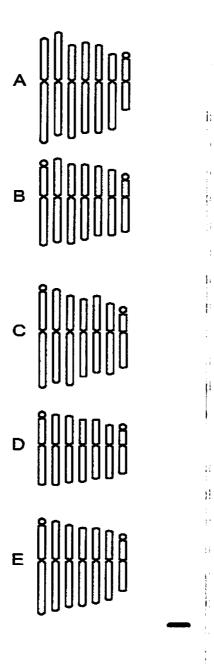


Figura 4 - Idiogramas de milheto (P. glaucum L.), sendo A-M 24, B-M 35, C-M 36, D-M 38 e E-M 44. A barra representa 1 µm.

4.3. Caracterização citogenética dos acessos de híbridos interespecíficos entre P. purpureum e P. glaucum

A caracterização citogenética existente para híbridos entre capim-elefante e milheto é baseada no comportamento cromossômico durante a meiose (Burton, 1942; Burton e Powell, 1968; Jauhar, 1981; Pantulu e Rao, 1982). A disponibilidade de dados bibliográficos referentes a caracterização do cariótipo somático dos híbridos interespecíficos entre *P. purpureum* e *P. glaucum* é bastante restrita. Além disso, não há registros de marcadores citológicos que possam auxiliar na identificação dos cromossomos.

A análise citogenética dos acessos estudados neste trabalho permitiu verificar a presença de sete cromossomos maiores oriundos do diplóide (2x) *P. glaucum* e os quatorze cromossomos provenientes do tetraplóide (4x) *P. purpureum*. Essa observação é consonante com os dados apresentados por Burton (1942) e Jauhar (1981).

Com relação ao comprimento relativo observa-se que o maior cromossomo representa, em média, 7,68% do comprimento do lote cromossômico, chegando a ser 2,6 vezes maior que o último, cujo comprimento relativo representa, em média, 2,94% do lote cromossômico (Tabela 7).

Nos cinco acessos híbridos avaliados foram observados cromossomos metacêntricos e submetacêntricos em algumas metáfases. Com base na média das metáfases observadas, o acesso CNPGL 94-44-02 apresentou os cromossomos VI e X classificados como submetacêntricos. O 2º cromossomo dos acessos CNGL 94-49-06 e CNPGL 94-52-02 e o 10º cromossomo do acesso CNPGL 94-53-02 foram classificados como submetacêntricos, enquanto que os demais foram descritos como metacêntricos. Para o acesso CNPGL 94-60-01 foram registrados apenas cromossomos metacêntricos (Tabela 7).

Baseados no fato de o maior cromossomo ter, em média, o comprimento relativo 2,6 vezes maior que o menor cromossomo do complemento (Tabela 3), poderíamos incluir o cariótipo dos acessos de híbridos interespecíficos na categoria 2b de Stebbins (1958) para classificação de cariótipos assimétricos.

Nas metáfases analisadas do acesso CNPGL 94-44-02 (Figura 5A e 6A) foi observada a presença de satélite no braço curto dos cromossomos I e VII. Este híbrido tem como genitores os acessos BAG 63 e M 36 e ambos apresentaram cromossomos satelitados. Como é relatado na literatura que os sete maiores cromossomos observados no híbrido são provenientes do parental milheto, poderíamos inferir que os cromossomos I e VII são provenientes do genitor M 36. Embora o BAG 63 tenha apresentado satélite no 1º e 4º pares, pode-se constatar que o híbrido não apresentou satélite entre os primeiros dos quatorze cromossomos menores provenientes deste genitor.

No híbrido CNPGL 94-49-06 (Figura 5B e 6B) constatou-se a presença de satélites no braço curto do cromossomo III. Esse acesso tem como genitores o BAG 91 e o M 38, e a presença de satélite foi registrada em ambos. Porém, como o satélite no híbrido se encontra no cromossomo III podemos inferir que este cromossomo é proveniente do genitor M 38, tendo em vista que neste parental foi registrada a presença de satélite no cromossomo I. A não coincidência pode ser explicada, como já citado anteriormente, pela possibilidade de ocorrerem erros na classificação dos cromossomos em função das difrenças mínimas existentes entre alguns deles no que se refere ao tamanho e morfologia.

No híbrido CNPGL 94-52-02 (Figura 5C e 6C) foi observada a ocorrência de satélites nos cromossomos I e IX. Esse acesso tem como genitores os acessos BAG 54 e M 44.

TABELA 7. Valores médios, em micrômetros (μm), das variáveis cromossômicas dos acessos de híbridos interespecíficos entre
P. purpureum e P. glaucum. (C = cromossomo; BL = braço maior; BC = braço menor; Cti = comprimento total do cromossomo; RB = relação de braços; CR = comprimento relativo e CL = classificação dos cromossomos quanto a posição do centrômero, sendo: m = metacêntrico e sm = submetacêntrico). UFLA. Lavras - MG, 2000.

	CNPGL 94-44-02	CNPGL 94-49-06	CNPGL 94-52-02	CNPGL 94-53-02	CNPGL 94-60-01
C	BL BC Cti CR RB CL	BL BC Cti CR RB CL	BL BC Cli CR RB CL	BL BC Cti CR RB CL	BL BC Cii CR RB CL
	2,41 1,71 4,12 8,07 1,41 m°	1,95 1,23 3,18 7,32 1,59 m	2,31 1,51 3,82 7,68 1,53 m*	2,21 1,88 4,09 8,10 1,17 m	1,91 1,68 3,59 8,17 1,13 m
II	2,10 1,54 3,64 7,14 1,36 m	1,91 1,11 3,02 6,95 1,72 sm	2,26 1,33 3,59 7,20 1,70 sm	1,99 1,41 3,40 6,73 1,41 m*	
111	2,10 1,40 3,50 6,87 1,50 m	1,65 1,19 2,84 6,54 1,39 m°	1,85 1,40 3,25 6,53 1,32 m	1,73 1,42 3,15 6,23 1,21 m	1,80 1,41 3,21 7,30 1,28 m
IV	1,99 1,37 3,36 6,58 1,45 m	1,61 1,08 2,69 6,18 1,49 m			1,73 1,27 3,00 6,80 1,36 m
v	100 100 000 000	• •	1,82 1,28 3,10 6,23 1,41 m	1,61 1,34 2,95 5,85 1,20 m	1,60 1,24 2,84 6,46 1,29 m
•		1,40 1,21 2,61 6,03 1,16 m	1,81 1,18 2,99 6,01 1,53 m	1,56 1,31 2,88 5,68 1,19 m	1,63 1,11 2,74 6,21 1,47 m
VI	1,78 1,01 2,79 5,45 1,72 sm	1,35 1,15 2,50 5,76 1,17 m	1,65 1,25 2,90 5,84 1,32 m	1,48 1,11 2,59 5,11 1,33 m	1,45 1,09 2,54 5,77 1,33 m
VII	1,62 1,08 2,70 5,29 1,49 m+	1,30 1,09 2,39 5,50 1,19 m	1,60 1,07 2,67 5,36 1,49 m	1,38 1,08 2,46 4,88 1,27 m	1,35 1,05 2,40 5,47 1,28 m
VIII	1,37 1,16 2,53 4,98 1,18 m	1,28 0,96 2,24 5,18 1,33 m	1,51 1,00 2,51 5,05 1,50 m	1,33 1,06 2,39 4,74 1,25 m	1,37 0,93 2,30 5,24 1,47 m
IX	1,48 0,88 2,36 4,62 1,68 m	1,14 1,02 2,16 4,99 1,11 m	1,40 1,01 2,41 4,85 1,37 m*	1,49 0,87 2,36 4,67 1,71 sm	1,20 0,85 2,05 4,67 1,42 m
X	1,43 0,82 2,25 4,40 1,74 sm	1,11 0,94 2,05 4,75 1,18 m	1,26 1,01 2,27 4,56 1,25 m	1,25 1,06 2,31 4,59 1,18 m*	1,08 0,83 1,91 4,36 1,30 m
ΧI	1,25 0,92 2,17 4,27 1,36 m	1,11 0,81 1,92 4,44 1,36 m	1,31 0,89 2,20 4,42 1,48 m	1,22 1,04 2,26 4,49 1,18 m	1,01 0,87 1,88 4,26 1,16 m
XII	1,23 0,90 2,13 4,16 1,37 m	0,97 0,86 1,83 4,22 1,12 m	1,17 0,90 2,07 4,16 1,30 m	1,27 0,97 2,24 4,44 1,31 m	0,99 0,80 1,79 4,08 1,24 m
XIII	1,16 0,90 2,06 4,04 1,30 m	1,00 0,79 1,79 4,13 1,26 m	1,14 0,87 2,01 4,05 1,30 m	1,28 0,89 2,17 4,31 1,44 m	· · · · · ·
XIV	1,17 0,85 2,02 3,97 1,37 m	0,95 0,78 1,73 3,99 1,22 m	1,05 0,89 1,94 3,91 1,17 m	1,16 0,97 2,13 4,22 1,19 m	1,00 0,75 1,75 3,98 1,34 m
χv	1,05 0,88 1,93 3,78 1,20 m	0,94 0,75 1,69 3,90 1,25 m	1,00 0,83 1,83 3,69 1,21 m	1,21 0,89 2,10 4,16 1,36 m	0,91 0,80 1,71 3,90 1,14 m
XVI		0,93 0,75 1,68 3,86 1,24 m	1,02 0,78 1,80 3,62 1,30 m		0,87 0,77 1,64 3,75 1,13 m
XVII		0,85 0,74 1,59 3,66 1,15 m	1,01 0,77 1,78 3,57 1,31 m	1,18 0,89 2,07 4,09 1,33 m	0,87 0,72 1,59 3,61 1,21 m
XVIII		0,83 0,65 1,48 3,43 1,26 m		1,12 0,90 2,02 4,01 1,25 m	0,83 0,73 1,56 3,56 1,14 m
XIX			1,01 0,75 1,76 3,53 1,34 m	1,14 0,76 1,90 3,77 1,50 m	0,77 0,70 1,47 3,34 1,10 m
XX		0,78 0,62 1,40 3,24 1,24 m	0,92 0,78 1,70 3,43 1,18 m	0,97 0,80 1,77 3,51 1,22 m	0,79 0,61 1,43 3,20 1,28 m
-		0,72 0,61 1,35 3,08 1,17 m	0,90 0,73 1,63 3,28 1,22 m	0,90 0,80 1,70 3,39 1,12 m	0,72 0,64 1,36 3,11 1,12 m
XXI	0,84 0,72 1,56 3,08 1,16 m	0,64 0,58 1,22 2,83 1,23 m	0,89 0,62 1,51 3,03 1,43 m	0,89 0,63 1,52 3,02 1,40 m	0,65 0,56 1,21 2,75 1,17 m

^{*} presença de satélite

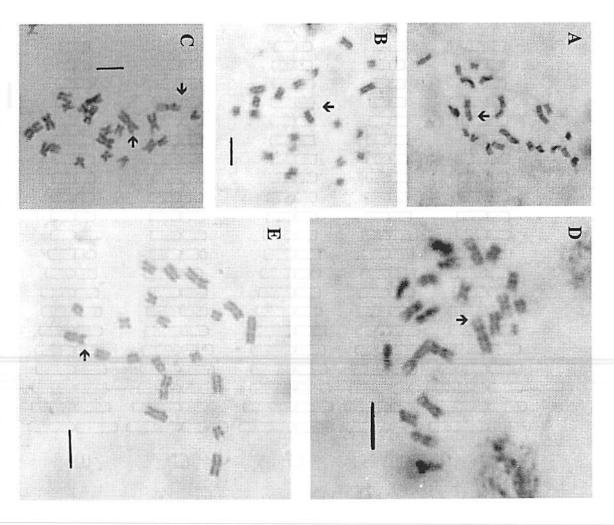


Figura 5 - Metáfases 5 µm. P. purpureum e P. glaucum com 2n = 3x = 21. As letras representam: A-F94-44-02, B-F94-49-06, C-F94-52-02, D-F94-53-02, E-F94-60-01. As setas indicam satélites e as barras representam somáticas de híbridos interespecíficos entre

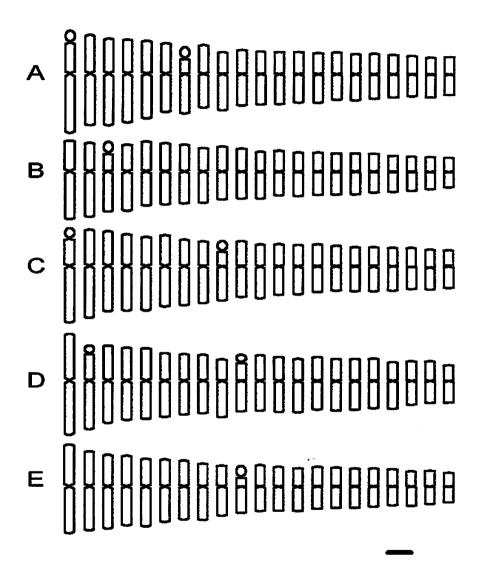


Figura 6 - Idiograma de híbridos interespecíficos de *P. purpureum* e *P. glaucum*, sendo A-CNPGL 94-44-02, B-CNPGL 94-49-06, C-CNPGL 94-52-02, D-CNPGL 94-53-03 e E-CNPGL 94-60-01. A barra representa 1 µm.

O cromossomo I é, provavelmente, proveniente do parental M44 enquanto que o cromossomo IX, por ser o segundo entre os quatorze cromossomos menores do complemento híbrido, pode corresponder ao cromossomo I satelitado do BAG 54.

No híbrido CNPGL 94-53-03 (Figura 5D e 6D) observou-se a presença de satélite nos cromossomos II e IX. Esse híbrido é resultante do cruzamento entre os acessos BAG 65 e M 35, em ambos foi observada a presença de satélite no primeiro par de cromossomos. Embora não haja coincidência em relação aos cromossomos que apresentaram satélites nos genitores, podemos inferir que os cromossomos II e IX são provenientes do cromossomo II dos parentais milheto e capim-elefante, respectivamente.

No híbrido CNPGL 94-60-01 (Figura 5E e 6E) verificou-se a presença de satélite no cromossomo X. Esse acesso tem como genitores os acessos BAG 75 e M 24, nos quais a presença de satélite também foi observada. Como o satélite se encontra no cromossomo X e este é o terceiro entre o quatorze cromossomos menores, podemos sugerir que esse cromossomo é proveniente do genitor BAG 75, tendo em vista que no BAG 75 foi registrada a presença de satélite no cromossomo I.

Com relação ao CTLH, o acesso CNPGL 94-44-02, oriundo do cruzamento entre o BAG 63 e M 36 apresentou o maior comprimento total do lote cromossômico com 51,21 µm (Tabela 5). Esse dado está de acordo com o que foi encontrado para o genitor BAG 63, que apresentou o maior CTLH (31,02 µm) e o M 36, o segundo maior (30,21 µm) entre os acessos de milheto (Tabela 5). Observa-se, para os acessos híbridos, uma tendência de variação com relação ao comprimento total do lote cromossômico semelhante àquela observada para o milheto.

A análise estatística realizada para comparação dos CTLHs dos acessos dos três taxa estudados mostrou diferenças significativas somente entre os acessos híbridos, ficando os acessos de capim-elefante e milheto em uma mesma categoria. Assim, o teste de Scott-Knott (Tabela 5) mostrou três agrupamentos baseado no comprimento total do complemento cromossômico: o primeiro incluindo os acessos de capim-elefante e milheto, o segundo reunindo os acessos híbridos de menor comprimento do complemento cromossômico e o terceiro grupo que inclui os híbridos de maior comprimento. Observa-se, portanto, que a contribuição do genitor capim-elefante, em termos de quantidade de DNA, é similar àquela fornecida pelo milheto, embora 2/3 dos cromossomos do híbrido sejam doados pelo capim-elefante. A semelhança morfológica dos híbridos com o parental capim-elefante pode ser explicada pela dominância do genoma B do capim-elefante sobre o genoma A do milheto, com relação as características forrageiras analisadas.

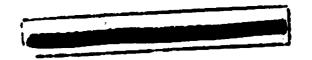
لأسوق بدفورهور

Embora existam algumas dúvidas na determinação exata da procedência de todos os cromossomos em relação aos parentais, as medidas de comprimento total do cromossomo, comprimento relativo, relação de braços e a localização dos satélites, quando presentes, podem dar uma idéia de como o genoma do hibrido foi constituído. Através das pequenas diferenças no cariótipo foi possível distinguir os cromossomos do parental diplóide (*P. glaucum*) e do tetraplóide (*P. purpureum*) no híbrido.

Ainda assim, seria recomendável a continuidade deste trabalho, acrescentando a aplicação de técnicas de bandeamento cromossômico que possibilitariam acompanhar de maneira mais precisa o comportamento dos dois conjuntos cromossômicos das espécies genitoras no triplóide.

6. CONCLUSÕES

- Foi confirmado o número somático de cromossomos para os cinco acessos de milheto e de capim-elefante, sendo 14 e 28, respectivamente para cada taxa.
- A natureza híbrida dos cinco acessos resultantes do cruzamento entre
 P. purpureum e P. glaucum, foi confirmada pela de 21 cromossomos em suas metáfases mitóticas.
- 3. Os cariótipos dos acessos de *P. glaucum* são simétricos, o que permitiu incluí-los na categoria 1a na classificação de Stebbins (1958), enquanto que, para os híbridos, os cariótipos foram classificados como assimétricos e incluídos na categoria 2b. Para *P. purpureum*, dois acessos (BAGs 63 e 75) mostraram cariótipos simétricos e três (BAGs 54, 65 e 91) assimétricos.
- 4. Nos híbridos interespecíficos entre P. purpureum e P. glaucum foi possível inferir a procedência de alguns cromossomos parentais, com base nas medidas de comprimento total do cromossomo, presença de satélite e classificação do cromossomo quanto a posição do centrômero.



7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALCÂNTARA, P. B.; BUFARAH, G. Plantas forrageiras gramíneas e leguminosas. São Paulo: Nobel, 1988. 162p.
- AVDULOV, N. P. Karyosystematicshe Untersuchung der Familie Graamineen. Bulletin Applied Botany and Plant Breeding, Leningrad, v. 4, p.1-428, 1931. Supplement.
- BENNETT, H. W. Pasto Johnson, pasto alfombra y otras gramíneas del sur humedo de los Estados Unidos. In: HUGES, H.D.; HEATH, M.; METEALFE, D.S. Forrages: la ciencia de la agricultura basada en la produccion de pasto. 3 ed. México: Compania Editorial Continental, 1972. cap. 29, p.321-334.
- BOGDAN, A. V. Tropical pasture and fodder plants (grasses and legumes). London: Longman, 1977. 241p. (Tropical Agricultural Series)
- BRUNKEN, J. N. A systematic study of *Pennisetum* Sect *Pennisetum* (Graminea). American Journal of Botany, New York, v. 64, n.2, p. 161-176, 1977.
 - BURTON, G. W. A cytological study of some species in the Tribe *Paniceae*. American Journal of Botany, New York, v. 29, p. 355-361, 1942.
 - BURTON, G. W.; POWELL, J. B. Pearl millet breeding and cytogenetics. Advances in agronomy, New York, v. 20, p.49-89, 1968.
 - DERESZ, F. Capim-elefante manejo em sistema rotativo para produção de leite e came. In: PASSOS. L. P.; CARVALHO, L. A.; MARTINS, C. E. BRESSAN, M.; PEREIRA, A. V. (eds) Biologia e manejo do capim-elefante. Juiz de Fora: Embrapa Gado de Leite, 1999. p.161-172.
 - DIZ, D. A. Breeding procedures and seed production management in pearl millet x elephantgrass hexaploids hybrids. Florida University of Florida, 1994. 118p. (Tese PhD)
 - FARIA, V. P. Evolução no uso do capim-elefante: uma visão histórica. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DO CAPIM-ELEFANTE, 10., 1992, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALO, 1993, p.19-45.

- SONZALEZ, B.; HANNA, W.W. Morphological and fertility responses in isogenic triploid and hexaploid pearl millet x napiergrass hybrids. Journal Heredity, New York, v.75, n. 4, p.317-318, 1984.
- GRANATO, L. O. Capim-elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.) São Paulo: Secretaria de Agricultura, 1924. 96p.
 - GUERRA, M. Introdução à citogenética geral. Rio de Janeiro: Guanabara, 1989. 142p.
 - HANNA, W. W. Method of reproduction in napiergrass and in the 3X and 6X alloploid hybrids with pearl millet. Crop Science, Madison, v. 21, p. 123-126, 1981.
 - HANNA, W. W.; DUJARDIN, M. Cytogenetics of *Pennisetum schweinfurthii*Pilger and its hybrids with pearl millet. Crop Science, Madison, v. 26, n. 3, p. 449-453, 1986.
 - HANNA, W. W.; DUJARDIN, M. Cytology and reproductive behavior of pearl millet napiergrass hexaploids x *Pennisetum squamulatum* trispecific. The Journal of Heredity, Washington, v. 76, n. 5, p. 382-384, 1985.
- HANNA, W. W.; DUJARDIN, M. Meiotic and reproductive behavior of facultative apomitic BC1 offspring derived from *Pennisetum americanum P. orientale* interespecif hybrids. Crop Science, Washington, v. 23, n. 1, p. 156-160, jan/ feb. 1983.
- JAHUAR, P. P. Cytogenetics and breeding of pearl millet and related species.

 New York: Alan R. Liss, 1981.
 - JONES, R. N.; REES, H. B Chromosomes. New York: Academic Press, 1982. 266 p.
 - KATIVU, S.; MITHEN, R. Pennisetum in southern Africa. FAO/IBPGR. Plant Genetic Resources Newsletter, v.73/74, p.1-8, 1987.
 - LEE, J.; ARUMUGANATHAN, K.; YEN, Y.; KAEPPLER, S.; KAEPPLER, H.; BAENZIGER, P. S. Root tip cell-cycle synchronization and metaphase-chromosome isolation suitable for flow sorting in common wheat (*Triticum aestivum* L.). Genome, Otawa, v. 40, n. 5, p.633-638, 1997.
 - LEVAN, A.; FREDGA, K. SOUBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, v 52, p. 201-220, 1964.
 - LOBANA, K. S.; GILL, B. S. Pachytene chromosomes of *Pennisetum typhoides*. Cytologia, v 38, p.713-717, 1973.

- MANARA, N. T. F. Citogenética de variedades de capim elefante (Pennisetum purpureum Schum.). Piracicaba: ESALQ, 1973. 63p. (Dissertação em Genética).
- MARTEL, E.; DE NAY, D.; SILJAK-YAKOVLEV, S.; BROWN, S.; SARR, A. Genome size variation and basic chromosome number in pearl millet and fourteen related *Pennisetum* species. The Journal of Heredity, Washington, v. 88, n. 2, p.139-143, 1997.
- MARTEL, E.; RICHROCH, A.; SAAR, A. Assessment of genome organization among diploid species (2n=2x=14) belonging to primary and tertiary gene pools of pearl millet using fluorescent in situ hybridization with rDNA probes. Genome, Otawa, v. 39, n. 4, p.680-687, 1996.
- MESQUITA, E. E. Efeito de doses de nitrogênio e métodos de semeadura no rendimento de sementes e de forragem de milheto [Pennisetum americanum (L.) Leeke]. Lavras: UFLA, 1996. 86 p. (Dissertação em Forragicultura e Pastagem)
 - MINOCHA, J. L. Pearl Millet Cytogenetics. In: GUPTA, P. K.; TSUCHIVA. Chromosome engineering in plants genetics. Amsterdam: Elsevier, 1991. p. 599-611.
 - PANTULU, J. V. Accessory chromosomes in Pennisetum typhoides. Current Science, Calcutta, v 29, p.28-29, 1960.
 - PANTULU, J. V. A case of chromosomal interchange in pearl millet. Current Science, Calcutta, v 27, p.497-498, 1958.
 - PANTULU, J. V.; RAO, K. Cytogenetics of pearl millet. Theor. Appl. Genet., Berlin, v. 61, p. 1-17, 1982.
 - PANTULU, J. V. & VENKATESWARLU, J. Morphology of the pachytene chromosomes of *Pennisetum purpureum* Schum. Genetica, Grauenhage, v 39, p.41-44, 1968.
- PEREIRA, A. V. Escolha de variedades de capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 10., 1992, Piracicaba. Anais... Piracicaba: FEALQ, 1993. p. 45-62.
- PEREIRA, V. A. Germoplasma e diversidade genética do capim-elefante. In: SIMPÓSIO SOBRE CAPIM-ELEFANTE, 2, 1994, Juiz de Fora. Anais... Coronel Pacheco-MG: EMBRAPA CNPGL, 1994. p. 1-11.

- PEREIRA, A. V.; MARTINS, C. E.; CRUZ FILHO, A. B.; CÓSER, A.C.; TELES, F. M.; FERREIRA, R. P.; AMORIM, M. E. T.; ROCHA, A. F. Pioneiro nova cultivar de capim-elefante para pastejo. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, v. 34, 1997, Juiz de Fora. Anais... Juiz de Fora: EMBRAPA-CNPGL. p.102-104.
- PEREIRA, A. V. Mehoramento de plantas forrageiras. In. AGUIAR, A. M.; ROSAL, C. J. S.; MENEZES, C. B.; RAPOSO, F. V.; CORTE, H. R.; FUZATTO, S. R. eds. In: SIMPÓSIO SOBRE ATUALIZAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 2, 1998, Lavras. Anais... UFLA/FAEP. p.135-162.
- POWELL, J.; HANNA, W.; BURTON, G. Origin, cytology and reproductive characteristic of haploids in pearl millet. Crop Science, Madison, v. 15, n. 3 p.389-392, 1975.
- PUPO, N. I. H. Manual de pastagens e forrageiras. Campinas: Instituto Campineiro de Ensino Agrícola, 1979. 343p.
- SCHANK, S. C.; CHYNOWETH, D. P. Napier grass genotypes as biomassa and (or) forage. Trop. Agric. Trinidad, v.60, n.1, p. 83-87, jan. 1993.
 - SCHMELZER, G. H. Review of *Pennisetum* section *Brevivalvula* (Poaceae). Euphytica, Netherlands, v.97, n.1, p.1-20, 1997.
 - SCOOT, A. J.; KNOTT, M. A cluster analysis method for grouping measn in the analysis of variance. Biometrics, Releigh, v. 30, p.507-512, 1974.
 - SEIXAS, L. F. Z. Avaliação do potencial de propagação através de sementes dos cultivares Mott e Cameroon de capim-elefante (Pennisetum purpureum Schum.). Jaboticabal: UNESP, 1996. 82 p. (Tese de Mestrado)
 - STEBBINS, G. L. Longevity, habitat, e release of genetic variability in the higher plants. Cold Spring Harbor Symposia Quantitative Biology, v 23, p.365-378, 1958.
 - STEBBINS, G. L. Chromosomal evolution in higher plants. Reading: Addison Wesley, 1971. 215 p.
 - VIRMANI, S. S.; GILL, B. S. Somatic chromosomes of *P. typhoides* (Burm.) S & H. Cytologia, v 37, p. 257-260, 1972.
 - TECHIO, V. H. Citotaxonomia de algumas espécies e de hibridos interespecíficos de *Pennisetum*. Lavras : UFLA, 1998. 112p (Dissertação em Genética e Melhoramento de Plantas).

- TYAGI, B. R. Karyomorphology of somatic chromosomes in pearl millet. Proceedings of the Indian National Science Academy, Bangalore, v 41, part B, p.462-465, 1975.
- VILELA, D. Utilização do capim-elefante na forma de forragem conservada. In: CARVALHO, M. M.; ALVIN, M. J.; XAVIER, D. F.; CARVALHO, L. de A., (eds) Capim-elefante: produção e utilização. Coronel Pacheco: EMBRAPA-CNPGL, 1994. p.117-164.
- XAVIER, D. F.; DAHER, R. F.; BOTREL, M. A.; PEREIRA, J. R. Poder germinativo de sementes de capim-elefante. Revista da Sociedade Brasileira de Zootecnia, Viçosa, v.22, n. 4, p. 565-571, 1993.