

**CITOGENÉTICA E ANATOMIA FOLIAR DE
ACESSOS E PROGÊNIES DE *Brachiaria***

JEANNE DE CÁSSIA GOULART

2008

JEANNE DE CÁSSIA GOULART

**CITOGENÉTICA E ANATOMIA FOLIAR DE ACESSOS E PROGÊNIES
DE *Brachiaria***

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

Orientadora:
Prof. Dra. Lisete Chamma Davide

LAVRAS
MINAS GERAIS - BRASIL
2008

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Goulart, Jeanne de Cássia.

Citogenética e anatomia foliar de acessos e progênies de *Brachiaria*.
/ Jeanne de Cássia Goulart. – Lavras : UFLA, 2008.

71 p. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2008.

Orientador: Lisete Chamma Davide.

Bibliografia.

1.Citogenética. 2. Cromossomos. 3. Pólen. 4. Melhoramento. 5.
Anatomia foliar. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 631.53202

JEANNE DE CÁSSIA GOULART

**CITOGENÉTICA E ANATOMIA FOLIAR DE ACESSOS E PROGÊNIES
DE *Brachiaria***

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

APROVADA em 10 de julho de 2008.

Prof. Dr. Evaristo Mauro de Castro

UFLA

Dr. Fausto de Souza Sobrinho

Embrapa

Prof. Dr. Sandro Barbosa

UNIFAL

Profa. Dra. Lisete Chamma Davide

UFLA

(Orientadora)

LAVRAS

MINAS GERAIS - BRASIL

A minha família,
pelo amor e pelo apoio incondicional,
OFEREÇO.

Ao Fabricio, pelo amor, companheirismo e amizade,
DEDICO.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por mais uma oportunidade de aprendizado.

A minha mãe, Tânia, pelo amor, ensinamento e pelo incansável e incondicional apoio, o meu eterno agradecimento.

Aos meus irmãos, Rodolfo e Hebert; à minha tia, Márcia e a minha avó, Marieta, pelo imenso amor que, mesmo a distância, posso sentir sempre.

Ao Fabrício, pelo amor e convivência.

A professora e orientadora, Lisete, pela orientação, carinho e ensinamentos de que vou me lembrar sempre.

Ao Prof. Dr. Sandro Barbosa, uma pessoa fundamental nesse sucesso, meu agradecimento especial pela força desde a época da graduação.

Ao Dr. Fausto e ao Prof. Dr. Evaristo, pelo enriquecimento deste trabalho e contribuições valiosíssimas.

A Giovana, pela amizade e pelas sugestões.

Aos amigos especiais que encontrei em Lavras: Ligia, Ju, Letícia, Rafa e Raoni, pelos momentos inesquecíveis que fizeram o mestrado valer a pena.

Aos colegas e amigos de laboratório: Ju, Kátia, Saulo, Fernanda, Iara, Ana Luiza, Patricia, Soraya, Rose, Fernando, Patricia Pierre e Léo, pelas ótimas contribuições e convivência.

Aos amigos Pedro, Paulo, Renata, pelos momentos de descontração.

Aos amigos que me acompanham desde a graduação, Mairon e Douglas, uma obrigada especial.

Aos amigos e colegas de turma: Lidiane, Ranoel, Paula, Cris, Dani e Isabela.

Aos amigos e colegas da pós-graduação em Genética.

Aos professores do Departamento de Biologia.

Aos funcionários: Elaine, Erundina, Lamartine, Rafaela, Patrícia e Zélia, pela disponibilidade sempre.

À Universidade Federal de Lavras, pela oportunidade de realização do mestrado e pelo ensino de qualidade.

À Capes, pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO GERAL.....	i
GENERAL ABSTRACT.....	ii
CAPÍTULO 1.....	
1 Introdução geral.....	1
2 Revisão de literatura.....	3
2.1 Origem, citogenética e melhoramento do gênero <i>Brachiaria</i>	3
2.2 Anatomia foliar.....	12
3 Referências bibliográficas.....	15
CAPÍTULO 2 Citogenética de acessos e progênies de <i>Brachiaria</i> (<i>Poaceae</i>)	21
1 Resumo.....	22
2 Abstract.....	23
3 Introdução.....	24
4 Material e métodos.....	26
4.1 Material botânico.....	26
4.2 Preparação das lâminas.....	26
4.3 Viabilidade do pólen	27
5 Resultados e discussão.....	28
5.1 Avaliação do número cromossômico.....	28
5.2 Viabilidade polínica.....	30
6 Conclusões.....	34
7 Referências bibliográficas.....	35
CAPÍTULO 3 Caracterização polínica em <i>Brachiaria</i>	38
1 Resumo.....	39
2 Abstract.....	40
3 Introdução.....	41
4 Material e métodos.....	43
4.1 Material botânico.....	43
4.2 Morfologia polínica.....	43
5 Resultados e discussão.....	45
6 Conclusões.....	49
7 Referências bibliográficas.....	50
CAPÍTULO 4 Anatomia foliar de <i>Brachiaria</i>	51
1 Resumo.....	52
2 Abstract.....	53
3 Introdução.....	54
4 Material e métodos.....	56
4.1 Material botânico.....	56

4.2 Cortes transversais e paradérmicos.....	56
5 Resultados e discussão.....	58
5.1 Cortes paradérmicos.....	58
5.2 Cortes transversais.....	65
6 Conclusões.....	69
7 Referências bibliográficas.....	70

RESUMO GERAL

GOULART, Jeanne de Cássia. **Citogenética e anatomia foliar de acessos e progênies de *Brachiaria***. 2008. 66 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG. *

O gênero *Brachiaria* é constituído por cerca de cem espécies, várias delas com potencial forrageiro e, portanto, de interesse para os programas de melhoramento. Nestes, a correta classificação e a ampla caracterização dos acessos e progênies são de suma importância para seu sucesso. Este trabalho foi conduzido com o objetivo de realizar a certificação taxonômica de progênies e acessos utilizados no programa de melhoramento genético de *Brachiaria ruziziensis* da Embrapa Gado de Leite, por meio da avaliação do número cromossômico. Foram também fornecidas informações a respeito da viabilidade e caracterização dos grãos de pólen dos acessos e das progênies para fins de cruzamentos, além da caracterização da lâmina foliar, relacionada com a qualidade da forrageira. Dos genótipos de *Brachiaria* analisados, 77,7% dos acessos e 100% das progênies confirmaram tratar-se de *B. ruziziensis*. Das progênies analisadas, 100% delas apresentaram alta viabilidade polínica. Já com relação aos acessos de *Brachiaria decumbens*, a baixa viabilidade sugere alta instabilidade meiótica e que esta espécie seja apomítica. A maior razão P/E e a maior espessura da parede do grão de pólen para *B. decumbens* podem estar relacionadas com o nível de ploidia da espécie. As progênies, com menor média para epiderme adaxial e abaxial e mesofilo, são as que apresentam melhor potencial para digestibilidade.

* Comitê Orientador: Lisete Chamma Davide - UFLA (Orientadora); Fausto de Souza Sobrinho (co-orientador) - Embrapa

GENERAL ABSTRACT

GOULART, Jeanne de Cássia. **Cytogenetic and anatomy leaf of accessions and progenies of *Brachiaria***. 2008. 66 p. Dissertation (Master's degree in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras, MG

The genus *Brachiaria* consists of about a hundred species, several of them with forage potential and therefore of interest for breedings programs. The correct classification and the wide characterization of accessions and progenies are extremely important to their success. This work was carried out to achieve the taxonomic certification of progenies and accessions used in the breeding programme of *Brachiaria ruziziensis* of Embrapa Gado de Leite through the evaluation of chromosome number. Information were also provided about the viability and characterization of pollen grain of accessions and progenies for crossing purpose beside the characterization of the leaf blade, concerning forage quality. From the genotypes to be tested, 77.7% from the accessions and 100% of the progenies confirmed to be *B. ruziziensis*. From the progenies studied, 100% had high pollen viability. To the accessions *Brachiaria decumbens*, the low pollen viability suggests high meiotic instability and that this species is apomítica. The high P / E ratio and the thicker pollen grain wall of *B. decumbens* may be related to the ploidy level of the species. The progenies, with the lowest average for adaxial and abaxial epidermis and mesophyll are those with potential for better digestibility.

* Guidance committee: Lisete Chamma Davide - UFLA (Adviser), Fausto de Souza Sobrinho (co-orientador) (Co-Adviser).

CAPÍTULO 1

1 INTRODUÇÃO GERAL

As pastagens tropicais, além de fornecer meios para a transformação das fibras cultivadas, mais comumente em solos com baixos níveis de fertilidade, em proteína de alta qualidade para o consumo humano, têm uma abordagem ecológica e sustentável por agirem assim. Pastagens nativas ou cultivadas cobrem grandes extensões de terra nos trópicos e estes ambientes naturais abrangem um vasto conjunto de gêneros e espécies de plantas forrageiras. Somente no Brasil estão, presumivelmente, 20% de toda diversidade do planeta (Vilela-Morales & Valois, 2000). No entanto, poucas são as cultivares de forrageiras, disponíveis no Brasil, resultantes de programas de melhoramento genético. A grande maioria é resultado da seleção realizada sobre acessos introduzidos ou coletados no país e algumas, do trabalho de seleção em grandes coleções representativas da variabilidade natural (Valle et al., 2004).

Embora o número de espécies forrageiras disponíveis no Brasil seja elevado, os gêneros *Brachiaria* e *Panicum* apresentam maior importância, expressa pela maior área cultivada e pelo grande valor agregado ao comércio de suas sementes (Fernandes et al., 2000).

Forrageiras pertencentes ao gênero *Brachiaria*, da família Poaceae, destacam-se no cenário brasileiro. Este gênero possui cerca de 100 espécies encontradas principalmente na África. Apesar da indiscutível importância de várias espécies deste gênero, como *B. decumbens*, *B. brizantha* e *B. ruziziensis*, pouco foi feito quanto ao melhoramento genético propriamente dito, pois a maioria dos acessos é poliplóide e reproduz-se por apomixia.

A apomixia é caracterizada pelo desenvolvimento do embrião a partir de uma célula não-fertilizada. Assim, a descendência contém exatamente a constituição genética da planta-mãe. Esse fato também dificulta o aumento da variabilidade genética desse gênero (Goulart et al., 2007). A espécie *B.*

ruzizensis é a única diplóide e sexual cultivada no Brasil, permitindo a geração de variabilidade genética para a atuação da seleção.

Existem sete importantes coleções de *Brachiaria* no mundo, todas *ex situ*, que possuem um total de 987 acessos de 33 espécies conhecidas. No entanto, problemas relacionados com classificações incorretas são frequentes entre as espécies de *Brachiaria* comumente utilizadas nas pastagens, assim como entre os acessos das coleções de germoplasma. O intenso intercâmbio de germoplasma também tem causado certa confusão sobre a identidade dos acessos. Diversos autores (Loch, 1977; Mass, 1998; Renvoize et al., 1998) destacaram a necessidade de classificar acessos e discriminar espécies corretamente, inclusive para que os bancos de germoplasma possam ser utilizados com eficiência no melhoramento genético desse gênero (Keller-Grein et al., 1998).

A Embrapa Gado de Leite iniciou, recentemente, um programa de melhoramento genético de *B. ruzizensis*, baseado na identificação e coleta de plantas em pastagens cultivadas no Brasil para a obtenção de uma população de trabalho. Como, na maioria das vezes, há a ocorrência de misturas nestas pastagens e a identificação das melhores plantas é realizada com base em características fenotípicas (seleção visual), há a necessidade de confirmação taxonômica.

Neste contexto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de realizar a certificação taxonômica de progênies e acessos utilizados no programa de melhoramento genético de *Brachiaria ruzizensis* da Embrapa Gado de Leite, por meio da avaliação do número cromossômico e análise cariotípica. Foram também obtidas informações a respeito da viabilidade e da caracterização dos grãos de pólen dos acessos e das progênies para fins de cruzamentos, além da caracterização da lâmina foliar, relacionada com a qualidade da forrageira.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Origem, citogenética e melhoramento do gênero *Brachiaria*

A introdução do gênero *Brachiaria* (Trininus) Grisebach é mais recente nas Américas do que a de outros gêneros de gramíneas forrageiras, como *Panicum* (capim-colonião), *Pennisetum* (capim-elefante), *Melinis* (capim-gordura) ou *Hyparrhenia* (capim-jaraguá) trazidos da África na época colonial (Parsons, 1972). Por uma adaptação excepcional a solos ácidos e de baixa fertilidade natural, alguns ecótipos de *Brachiaria*, introduzidos entre 1960 e 1975, tiveram, nas três décadas seguintes, ampla expansão nos cerrados brasileiros e savanas da América tropical (Valle, 2007).

O gênero possui cerca de 100 espécies de origem essencialmente africana (Renvoize et al., 1996), das quais algumas são de grande importância econômica, como, por exemplo, *B. decumbens*, *B. brizantha* e *B. ruziziensis*. No Brasil, foram encontradas 15 espécies deste gênero, algumas de introdução mais recente: *B. brizantha*, *B. decumbens*, *B. dictyoneura*, *B. humidicola*, *B. arrecta*, *B. ruziziensis*, *B. vittata*, *B. jubata*, *B. nigropedata*, *B. serrata*, *B. platynota*, *B. subulifolia* e *B. bovonei*. Outras espécies foram introduzidas há várias décadas e são consideradas naturalizadas. São elas *B. extensa*, *B. mutica* e *B. plantaginea*. Além dessas, ocorrem cinco espécies nativas, *B. adpersa*, *B. fasciculata*, *B. mollis*, *B. reptens* e *B. venezuelae* (Soares Filho, 1996).

A maioria das espécies do gênero é poliplóide e apomítica. Darlington & Wylie (1955) determinaram os números básicos cromossômicos $x=7$ e $x=9$. Recentemente, Risso-Pascotto et al. (2006) descreveram um novo número básico de cromossomos, $x=6$, encontrado em alguns acessos de *B. humidicola* com 42 cromossomos e 8 acessos de *B. dictyoneura* com 24 cromossomos. Variações intra-específicas no número de cromossomos também foram relatadas para outras espécies (Tabela 1). Observa-se que entre as espécies cultivadas, somente

B. ruziziensis é tipicamente diplóide. *B. brizantha* é reconhecidamente polimórfica (Valle, 2008) e já foram relatadas variações quanto à ploidia de 2x a 6x.

TABELA 1 Número básico, ploidia e número somático disponíveis na literatura, para oito das principais espécies de *Brachiaria*. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Espécie	Número básico	Ploidia	2n	Referências
<i>B. brizantha</i>	x = 9	2x	18	de Wet (1960); Nath e Swaminthan (1957)
		4x	36	Sotomayor-Rios et al. (1960); Valle (1985)
		5x	45	Mendes et al. (2006)
		6x	54	Carnahn e Hill (1961)
<i>B. decumbens</i>	x = 9	2x	18	Zerpa (1952); Pritchard (1967)
		4x	36	Nath et al (1970); Valle (1985)
<i>B. ruziziensis</i>	x = 9	2x	18	Scank & Sotomayor (1968); Ferguson (1974); Valle (1985)
<i>B. humidicola</i>	x = 9	4x	36	Bernini e Marin Morales (2001)
		6x	54	Valle (1985)
		8x	72	Carnahn e Hill (1961); de Wet e Anderson (1956)
	x = 7	6x	42	Bernini e Marin Morales (2001)
	x = 6	7x	42	Risso-Pascotto et al. (2006)
<i>b. dictyoneura</i>	x = 9	6x	54	Valle (1985);
		6x	42	Morffet e huicomo (1949); Carnahn e Hill (1961)
	x = 6	4x	24	Risso-Pascotto et al. (2006)
<i>B. deflexa</i>	x = 9	2x	18	Goldblatt (1984)
		4x	36	Valle (1985)
<i>B. plantaginea</i>	x = 9	4x	36	Moore (1970)
		8x	72	Valle (1985)
<i>B. jubata</i>	x = 9	4x	36	Goldblatt (1984); Valle (1985)

Adaptado de Valle (2008).

Bernini e Marin-Morales (2001) caracterizaram, pela primeira vez, os cariótipos de 12 acessos de 5 espécies de *Brachiaria*. Variações no número de cromossomos foram observadas em *B. decumbens* ($2n = 18$, $2n = 36$) e em *B. humidicola* ($2n = 36$, $2n = 42$, $2n = 54$). Em *B. brizantaha* e *B. jubata*, o número cromossômico encontrado foi $2n = 36$ e, em *B. ruziziensis*, foi $2n = 18$. Todos os acessos apresentaram número básico $x = 9$, à exceção do acesso H13 de *B. humidicola*, que apresentou $x = 7$. Os números cromossômicos $2n = 36$ e $2n = 42$ foram descritos, pela primeira vez, em *B. humidicola*.

Para efeito de melhoramento genético envolvendo cruzamentos intra e interespecíficos em espécies poliplóides, a determinação de níveis de ploidia e de modo de reprodução, a fim de escolher progenitores compatíveis para a realização de cruzamentos, torna-se imperativa (Leterriello et al., 1999). É inegável a contribuição da citogenética para o melhoramento de plantas. Desde a caracterização de ploídias, a descrição da meiose e mitose, a cariotipagem, o bandeamento e a identificação de alterações cromossômicas, ao desenvolvimento de linhas de adição, estudos da mutagênese e da herdabilidade por mapas de ligação, a citogenética acompanhou, par e passo, os sucessos na evolução dos métodos de melhoramento e de produção de híbridos e variedades (Valle, 2007).

Sybenga (2007) apresenta dois aspectos fundamentais da citogenética no melhoramento de plantas: 1) fornecer informações e 2) fornecer métodos para a manipulação do material genético. Segundo o autor, a contribuição do citogeneticista no melhoramento de plantas é viabilizar e monitorar o processo de transferência de genes, explicando resultados obtidos em termos de proporções não esperadas na segregação, na esterilidade nos cruzamentos e incompatibilidade entre genomas.

A necessidade de estudos básicos de citogenética para realizar o melhoramento em *Brachiaria* foi evidenciada na década de 1970, quando as

primeiras tentativas de cruzamento entre *B. ruziziensis* e *B. decumbens* fracassaram (Ferguson e Crowder, 1974). Esses autores optaram por cruzar a espécie diplóide sexual *B. ruziziensis* com a tetraplóide apomítica, *B. decumbens*. Das 11 plântulas obtidas, 4 eram resultantes de autofecundação de *B. ruziziensis* e as outras 7 eram provenientes de contaminação por pólen de outras *B. ruziziensis*, não ocorrendo, portanto, hibridação interespecífica neste caso. Entre as sugestões dos autores estão duplicar o número cromossômico da espécie sexual, verificar o modo de reprodução e cruzá-la com espécies tetraplóides apomíticas (Valle, 2008).

A poliploidia está relacionada, muitas vezes, com anormalidades que comprometem a estabilidade meiótica. Um dos problemas relacionados a poliplóides é a formação de quadrivalentes, trivalentes e univalentes, no lugar de bivalentes durante a meiose. Essas irregularidades na segregação cromossômica, observadas na diacinese, ocasionam a formação de gametas com números cromossômicos não balanceados (Valle, 2007).

Várias conseqüências dessas irregularidades são observadas em *Brachiaria*, como: migração precoce dos cromossomos para os pólos nas metáfases e retardatários, levando à formação de micronúcleos que permanecem nas tétrades; fusões nucleares dando origem a sincícios e falhas na citocinese que podem originar díades ou tríades ou, ainda, a núcleos de restituição, dando origem a gametas não reduzidos no final do ciclo meiótico (Valle, 2007; Felismino et al., 2006).

Um híbrido entre *B. ruziziensis* e *B. decumbens* estudado teve a meiose interrompida após a metáfase I (Risso-Pascotto et al., 2004). Neste mesmo trabalho, sincícios envolvendo grande número de células foram observados em mais de 15% dos meiócitos, que receberam o sinal para entrar em meiose, mas faltou o sinal para seguir além do leptóteno. Neste caso, apesar de essa anormalidade atingir 15% dos meiócitos no híbrido, a esterilidade do pólen foi

completa, pois ocorreram ainda outras anormalidades ligadas à poliploidia. Essas descobertas explicam a pouca ou nenhuma produção de sementes viáveis em alguns híbridos selecionados pelo fenótipo favorável em *Brachiaria*.

Mendes et al. (2006) estudaram a assincronia na meiose em dois acessos pentaplóides naturais de *B. brizantha*. Esse nível pentaplóide estaria relacionado com um evento de hibridação entre duas espécies: uma apomítica tetraplóide e uma sexual. Os autores observaram a falta de afinidade entre genomas pela assincronia na divisão meiótica dos dois genomas. A similaridade em assincronia, observada anteriormente em um híbrido triplóide entre *B. brizantha* e *B. ruziziensis*, permitiu aos autores sugerirem que esses acessos pentaplóides seriam aloautotetraplóides, com genomas de *B. brizantha* e um genoma de *B. ruziziensis*.

Em um programa de melhoramento, os principais fatores para o sucesso são a seleção e o intercruzamento dos genótipos superiores. A eficiência dos cruzamentos depende da estabilidade meiótica e da viabilidade do pólen (Techio et al., 2006). O estudo do comportamento meiótico pode identificar os acessos e progênies estáveis e possíveis genitores que tenham a capacidade de produzir grande quantidade de sementes viáveis (Kaneshima et al., 2007).

A viabilidade do pólen é um entre os diversos fatores que têm influência direta no sucesso da fertilização e da produção de sementes (Souza et al., 2004). A quantidade e a qualidade do pólen produzido por flor são componentes importantes da produção. A qualidade do pólen é igualada, freqüentemente, à viabilidade do pólen, isto é, à proporção dos grãos de pólen que são viáveis (Vianna et al., 2006). A avaliação da viabilidade do pólen é considerada uma medida de fertilidade masculina muito empregada no monitoramento de pólen armazenado, de modo a garantir a fecundação, tornando possíveis cruzamentos entre genótipos de potencial econômico que apresentam floração em épocas distintas (Kearns e Inouye 1993; Miranda, 1993).

A viabilidade do pólen é um parâmetro de grande importância no estudo de plantas. Além de evidenciar a potencialidade reprodutora masculina da espécie, ela contribui em estudos taxonômicos, ecológicos e palinológicos, fornecendo informações básicas para a aplicação prática na conservação genética, bem como na agricultura, para o planejamento de algum tipo de melhoramento ou cultivo (Alexander, 1980; Arroyo, 1981; Guinet, 1989).

A determinação da viabilidade do pólen pode ser feita por métodos diretos, tais como a indução da germinação do pólen *in vivo* ou *in vitro* e métodos indiretos, baseados em parâmetros citológicos, como a coloração (Shivanna e Johri, 1985; Dafni, 1992; Shivanna e Rangaswamy, 1992; Kearns e Inouye, 1993; Felismino et al., 2006). Determinação da viabilidade dos grãos de polens baseada na técnica da coloração utiliza os corantes carmim acético, azul de anilina, azul de algodão, iodeto de potássio, cloreto de trifenilterazólio e tetrazólio vermelho, os quais promovem diferenças na coloração dos grãos de pólen, fornecendo resultados de forma rápida e com baixo custo (Techio et al., 2006).

Felismino et al. (2006) realizaram testes com vários corantes (cloreto de trifeniltetrazólio, iodeto de potássio, verde malaquita com fucsina ácida, azul de metileno e carmim propiônico) para a viabilidade polínica em *Brachiaria*. Todos os corantes utilizados revelaram-se eficientes na determinação na viabilidade do pólen, havendo pouca diferença na porcentagem de viabilidade entre eles. Segundo a argumentação dos autores, não há um teste de viabilidade universal, pois a coloração depende do conteúdo químico do grão de pólen da espécie em estudo, de sua morfologia e das propriedades do corante.

Quanto à caracterização dos grãos de pólen das espécies de *Brachiaria*, não são encontrados dados na literatura. Esse estudo pode ser feito por meio de mensurações da vista equatorial e polar dos grãos de polens e avaliação da exina (Punt et al., 1999), após acetolisados (Erdtman, 1960). Martins et al. (2003)

caracterizaram a morfologia do pólen de 10 populações de *Elaeis oleifera* (caiaué), utilizada em cruzamentos com *E. guineensis* (dendê). Pelos resultados da morfologia, podem-se separar as populações em três grupos. Essa técnica, quando associada a outras análises (isoenzimas e DNA), pode representar uma ferramenta importante na discriminação de populações.

Gobbe et al. (1981) fizeram uma comparação entre os diplóides naturais de *Brachiaria ruziziensis* e tetraplóides induzidos, em tratamento com colchicina. Observaram que, pelo diâmetro dos grãos de pólen e dos estômatos e pela densidade estomática, entre outros caracteres analisados, foi possível observar dois grupos: um (tetraplóide) com maior diâmetro dos grãos de pólen e dos estômatos e menor densidade estomática e outro (diplóide) com menor diâmetro dos grãos de pólen e dos estômatos e maior densidade estomática.

Como já mencionado, a determinação do modo de reprodução é essencial para fins de cruzamentos. Várias das gramíneas tropicais de importância econômica são apomíticas (Valle, 2007). O termo apomixia vem do grego e significa "sem mistura". Originalmente, ele foi utilizado para designar diferentes modos de reprodução assexual de modo amplo, incluindo propagação vegetativa, em que não ocorre a "mistura" dos genomas materno e paterno. Atualmente, em plantas, ele é restrito à reprodução assexual por meio de sementes, ou seja, é sinônimo de agamospermia (Nogler, 1984).

A maioria das plantas apomíticas é poliplóide, embora alguns apomíticos diplóides já tenham sido descritos (Asker e Jerling, 1992). A impossibilidade de se fazer cruzamentos em nível tetraplóide, em que a maior variabilidade agronomicamente importante ocorre pela incompatibilidade com as variedades sexuais, normalmente diplóides, é uma grande limitação do melhoramento. A transferência de características entre cultivares apomíticas requer uma intermediária, de reprodução sexual. Em *Brachiaria*, por exemplo, todo o programa de melhoramento envolve uma variedade única tetraplóide e

sexual de *B. ruziziensis*, que tem o complemento cromossômico duplicado por exposição à colchicina, e cruzamentos interespecíficos (Swenne et al., 1988).

Análises de progênie podem ser os primeiros indicadores de apomixia em uma determinada cultura, já que ela é totalmente uniforme e idêntica à planta-mãe. As características típicas maternas são também observadas na progênie de cruzamentos de F1, pois não há segregação e, mesmo na progênie em F2 de cruzamentos entre parentes distintos, pouca ou nenhuma variabilidade genética ocorre (Hanna e Bashaw, 1987).

Em plantas de *Brachiaria*, a apomixia foi identificada na maioria dos acessos poliplóides. As plantas com reprodução sexual apresentam, exclusivamente, saco embrionário do tipo polygonum (Vale e Savidan, 1996). Já nas plantas apomíticas, além dos sacos embrionários apospóricos, pode ocorrer, no mesmo óvulo, a formação de um saco embrionário do tipo polygonum. Este saco pode ser fecundado, formar zigoto e dar origem a uma progênie por meio da sexualidade, caracterizando, assim, a apomixia facultativa, que é, por definição, a ocorrência de sementes viáveis oriundas da fecundação de um saco embrionário do tipo polygonum em uma planta apomítica (Nogler, 1984).

Araújo et al. (2004), visando verificar a ocorrência de apomixia facultativa em *Brachiaria*, iniciaram estudos para a identificação de acessos de *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. jubata* com características reprodutivas de interesse ao entendimento da apomixia. Observações indicaram que aproximadamente 42% dos ovários continham, além de saco embrionário do tipo polygonum, um saco embrionário do tipo panicum. As plantas analisadas possuem pólen viável, autocompatível e fértil.

Muito esforço tem sido dedicado à elucidação das bases citológica e genética da apomixia nos últimos 20 anos e, graças a isto, já se considera a possibilidade de manipular e controlar a apomixia como ferramenta no melhoramento. A apomixia associada à sexualidade num programa de

melhoramento permite combinar características desejáveis de progenitores através de cruzamentos e fixá-las permanentemente pela seleção de híbridos altamente apomíticos (Valle, 2008).

No Brasil, o melhoramento genético de *Brachiaria* é conduzido pela Embrapa Gado de Corte, em Campo Grande, MS, que conta com um germoplasma contendo mais de 400 acessos, em sua maioria de *B. brizantha*. As principais estratégias de melhoramento consistem na avaliação e na seleção de acessos promissores, explorando a variabilidade do germoplasma, e cruzamentos interespecíficos envolvendo *B. brizantha*, *B. decumbens* e *B. ruziziensis* (Souza Sobrinho, 2005).

As avaliações do modo de reprodução dos híbridos oriundos dos cruzamentos interespecíficos detectaram plantas sexuais e apomíticas na geração F₁, na proporção 1:1. Dentre os híbridos que se destacam, aqueles apomíticos seguem para avaliações posteriores e os sexuais são retrocruzados com *B. brizantha* ou *B. decumbens*, alimentando o programa de melhoramento (Pereira et al., 2001).

No Brasil, especialmente, os investimentos em melhoramento de forrageiras são escassos e inversamente proporcionais à importância que essas espécies representam para o país. O número de pessoas trabalhando nessa área é muito pequeno, não chegando a 20 melhoristas em todo o país. Considerando a imensa área cultivada com forrageiras, aproximadamente 200 milhões de hectares, esse número torna-se insignificante. Como o número de pessoas envolvidas no melhoramento de forrageiras é restrito, há a necessidade de se elegerem espécies com maior potencial forrageiro para serem trabalhadas (Souza Sobrinho, 2005).

A estratégia para o melhoramento de forrageiras deve conter as seguintes fases: identificação das características importantes a serem melhoradas; escolha da metodologia adequada para a avaliação do material;

identificação de fontes de variação genética dentro do germoplasma disponível; escolha e recombinação dos progenitores; seleção dos segregantes superiores; comparação do material melhorado com um padrão existente; avaliação do comportamento animal e da planta e distribuição dos novos materiais (Valle, 2007).

O programa de melhoramento de *B. ruziziensis* da Embrapa Gado de Leite se baseou na coleta e na seleção fenotípica dos materiais para montar a população de trabalho. Portanto, a identificação citogenética desses materiais para o sucesso dos cruzamentos é fundamental, uma vez que a caracterização do germoplasma e dos materiais identificados como promissores é fase essencial para qualquer programa de melhoramento.

2.2 Anatomia foliar

A qualidade da forrageira pode, também, estar diretamente relacionada com sua capacidade fotossintética. Para isso, os estômatos são, entre outras, uma das mais importantes características anatômicas foliares a serem estudadas. De acordo com Stenglein et al. (2005), a densidade, o tamanho e a posição dos estômatos na folha influenciam o processo de trocas gasosas e estão de acordo com a proporção de transpiração da planta. A densidade também é influenciada pelas condições ambientais de estresse.

No entanto, a proporção de tecidos tem sido a característica anatômica usada como indicativo do valor qualitativo das forrageiras. A possibilidade de se associar esta característica com a qualidade de espécies forrageiras surgiu com a observação de que diferentes tipos de tecidos apresentavam taxa e extensão de digestão diferenciadas (Akin e Burdick, 1975).

A epiderme das plantas é a primeira barreira na folha a ser vencida pelos microrganismos do rúmen para digestão das partículas, pois é um tecido de proteção, com estrutura para resistir ao estresse físico normal (murchamento,

estiramento, expansão e compressão) e à invasão por microrganismos (Wilson, 1997); suas paredes periclinais externas dificultam essa penetração por serem de natureza cutinizada e lignificada (Hanna et al., 1973).

Em termos gerais, as células do mesofilo e as do floema de parede celular delgada são rapidamente digeridas (Akin e Burdick, 1973). As células da epiderme e da bainha parenquimática dos feixes são reconhecidas como de digestão lenta e parcial. Tecidos como esclerênquima e o xilema, que apresentam parede celular espessa e lignificada, são muito pouco digeridos (Akin, 1989).

Quimicamente, a parede celular é uma matriz composta de polissacarídeos, proteínas, compostos fenólicos, água e sais minerais. Dos polissacarídeos, destacam-se a celulose, a hemicelulose e a pectina (Paciullo, 2002). Existem fortes evidências de que os polissacarídeos isolados apresentam relativa facilidade de degradação pelos microrganismos do rúmen ou por enzimas isoladas (Hatfield, 1989).

Dos componentes químicos associados à parede celular, a lignina é aquele que, reconhecidamente, limita a digestão dos polissacarídeos da parede celular no rúmen (Jung e Deetz, 1993).

Assim, medidas da proporção dos tecidos com elevado conteúdo celular e ou delgada parede primária (não lignificada), de alta digestibilidade e daqueles tecidos com baixo conteúdo celular e espessa parede celular (frequentemente lignificada), normalmente associados à baixa digestibilidade, podem explicar diferenças qualitativas entre espécies e ou cultivares de forrageiras (Wilson, 1997).

Vários trabalhos têm sido desenvolvidos a fim de estabelecer ou caracterizar a digestibilidade em função da anatomia da planta. Brito e Rodella (2002) caracterizaram a morfo-anatomia do caule e da folha de *Brachiaria brizantha* e *B. humidicola*, em três estratos, objetivando diferenciar tais estratos

e espécies e justificar a diferença de consumo com o envelhecimento da planta. Os estudos indicaram parâmetros que podem interferir na digestibilidade de seus tecidos e que as espécies apresentaram diferenças quanto aos aspectos morfológicos, destacando-se, em *B. humidicola*, menores valores de comprimento e largura do limbo. Isso pode dificultar a seleção das folhas inferiores, interferindo no consumo dessa forrageira. Constatou-se, também, que o caule foi a fração que mais variou entre as espécies, apresentando *B. brizantha* diâmetro do entrenó maior e “parede” do colmo mais espessa, o que sugere maior número de feixes vasculares e, conseqüentemente, porcentagem de tecidos lignificados.

Paciullo (2002) avaliou os efeitos da idade, do nível de inserção da folha no perfilho e da estação de crescimento (verão ou outono) sobre a proporção de tecidos e a espessura da parede celular em lâminas foliares e segmentos de colmo de capim-braquiária (*Brachiaria decumbens*), capim-gordura (*Melinis minutiflora*) e capim-tifton 85 (*Cynodon sp.*). O autor constatou que a proporção de tecidos da lâmina foliar não variou após sua completa expansão, mas a anatomia do colmo alterou-se em função de sua idade. Além disso, as lâminas foliares de mais alto nível de inserção apresentaram maior porcentagem de tecidos de sustentação e células com paredes mais espessas que lâminas da base do perfilho. Também foi possível verificar que segmentos de colmos apresentaram maior porcentagem de esclerênquima e paredes celulares mais espessas no verão.

As modificações anatômicas das plantas, as diferenças estomáticas, os sítios de lignificação e os fatores que afetam a degradação dos tecidos vegetais pelos microrganismos do rúmen podem ser analisados pelas técnicas de microscopia e, assim, auxiliar na avaliação do valor nutricional de plantas forrageiras (Travis et al., 1997).

3 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIN, D.E.; BURDICK, D. Microanatomical differences of warm season grasses revealed by light and electron microscopy. **Agronomy Journal**, Madison, v. 65, p. 533-537, 1973.

AKIN, D.E.; BURDICK, D. Percentage of tissue types in tropical and temperate grass leaf blades and degradation of tissues by rumen microorganisms. **Crop Science**, Madison, v. 15, n. 5, p. 661-668, 1975.

AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 17-25, 1989.

ALEXANDER, M.P.A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Biotechnic and Histochemistry**, v. 1, n. 5, p. 13-8, 1980.

ARAÚJO, A.C.G.; FALCÃO, R.; SIMÕES, K.C.R.; CARNEIRO, V.T.C. **Identificação de acessos de *Brachiaria* com interesse ao estudo da apomixia facultativa**. Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2004. 29 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento).

ARROYO, M.T.K. Breeding systems and pollination biology in leguminosae. In: POLHILL, M.; RAVEN, P.H. (Ed.). **Advances in legumes systematics**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p. 723-769.

ASKER, S.E.; JERLING, L. **Apomixis in plants**. Boca Raton, Florida, 1992. 298 p.

BERNINI, C.; MARIN MORALES, M.A. Karyotype analysis in *Brachiaria* (Poaceae) species. **Cytobios**, v. 104, p. 157-171, 2001.

BRITO, C.J.F.A.; RODELLA, R.A. Caracterização morfo-anatômica da folha e do caule de *Brachiaria brizantha* (Hochst. & A. Rich.) Stapf e *B. humidicola* (Renle) Schweick. (Poaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 2, p. 221-228, 2002.

DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach** (the practical approach series). New York: Oxford University, 1992. 250 p.

DALINGTON, C. D.; WYLIE, A. P. **Chromosome atlas of flowering plants**. London, UK: Allen & Unwin, 1955. 519 p.

ERDTMAN, G. The acetolysis method: a revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, v. 39, p. 561-564, 1960.

FELISMINO, M.F.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; RESENDE, R.S. Avaliação da viabilidade polínica em acessos e híbridos de *Brachiaria* (Poaceae: paniceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 52, 2006, Foz do Iguaçu. **Resumo...** Ribeirão Preto: SBG, 2006. 1 CD-ROM.

FERGURSON, J.E.; CROWDER, L.V. Cytology and breeding behavior of *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard. **Crop Science**, Madison, v. 14, p. 893-895, 1974.

FERNANDES, C.D.; VALÉRIO, J.R.; FERNANDES, A.T.F. Ameaças apresentadas pelo atual sistema de produção de sementes à agropecuária na transmissão de doenças e pragas. In: WORKSHOP SOBRE SEMENTES DE PLANTAS FORRAGEIRAS, 2000, Sete Lagoas-MG. **Anais...** Sete Lagoas-MG: Embrapa-Negócios Tecnológicos, 2000.

GOBBE, J.; SWENNE, A.; LOUANT, B.P. Diploides naturels et autotetraploides induits chez *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard: criteres d'identification. **Agronomie Tropicale**, v. 36, n. 4, p. 339-346, 1981.

GOULART, J.C.; MORETO, A.L.; DAVIDE, L.C.; SOUZA SOBRINHO, F.; TORRES, G.A. Número cromossômico de acessos de *Brachiaria*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2006, São Lourenço. **Resumo...** Lavras: UFLA, 2007. 1 CD-ROM.

GUINET, P.H. **Advances in legume biology**: struture evolution, and biology of pollen in Leguminosae. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 1989. 842 p.

HANNA, W.W.; BASHAW, E.C. Apomixis: its identification and use in plant breeding. **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 1136-1139, 1987.

HANNA, W.W.; MONSON, W.G.; BURTON, G.W. Histological examination of fresh forage leaves after *in vitro* digestion. **Crop Science**, Madison, v. 13, p. 98-102, 1973.

HATFIELD, R.D. Structural polysaccharides in forages and their degradability. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 30-46, 1989.

JUNG, H.G.; DEETZ, D.A. Cell wall lignification na degradability. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATIFIELD, R.D. (Ed.). **Forage cell wall structure na digestibility**. Madison: Crop Science, 1993. p. 315-346.

KANESHIMA, A.M. de S.; RICCI, G.C.L.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. Comportamento meiótico em híbridos pré-selecionados de *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick (Poaceae). In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE MELHORAMENTO DE FORRAGEIRAS, 2007, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande, 2007. 1 CD-ROM.

KEARNS, C.A.; INOUE, D. **Techniques for pollinations biologists**. Niwot, Colorado: University of Colorado, 1993. 579 p.

KELLER-GREIN, G.; MAASS, B.L.; HANSON, J. Variación natural en *Brachiaria* y bancos de germoplasma existentes. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. (Ed.). **Brachiaria: biología, agronomía y mejoramiento**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1998. p. 18-45.

LETERIELLO, G.O.; VALLE, C.B.; CHRISTIANE, D.; PENTEADO, M.I.O. Citologia e modo de reprodução de acessos pentaplóides de *Brachiaria brizantha*. In: REUNIAO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** São Paulo: SBZ / Videolar, 1999.

LOCH, D.S. *Brachiaria decumbens* (signal grass) – a review with particular reference to Australia. **Tropical Grasslands**, v. 11, n. 2, p. 141-157, 1977.

MAASS, B.L. Identificación y nomenclatura de las especies de *Brachiaria*. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. (Ed.). **Brachiaria: biología, agronomía y mejoramiento**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1998. p. ix-xiii.

MARTINS, L.H.P.; MIRANDA, I.P.A.; NUNES, C.D. Morfologia polínica de populações amazônicas de *Elaeis oleifera*. **Acta Amazônica**, v. 33, n. 2, p. 159-166 2003.

MENDES, D.V.; BOLDRINI, K.R.; MENDES-BONARO, A.B.; PAGLIARINI, M.S. Cytological evidence of natural hybridization in *Brachiaria brizantha* Stapf (Gramineae). **Botanical Journal of the Linnen Society**, London, v. 150, p. 441-446, 2006.

MIRANDA, I.P.A. A importância da conservação *in vitro* do pólen da pupunheira (*Bactris gasipaes* Kunth) Arecaceae para o melhoramento genético. In: FERREIRA, E.J.G.; SANTOS, G.M.; LEÃO, E.L.M.; OLIVEIRA, L.A. (Ed.). **Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia**. Manaus: SCT/INPA, 1993. v. 2, p. 361-371.

NOGLER, G.A. Gametophytic apomixis. In: JOHR, B.M. (Ed.). **Embryology of angiosperms**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1984. p. 475-518.

PACIULLO, D.S.C. Características anatômicas relacionadas ao valor nutritivo de gramíneas forrageiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 357-364, 2002.

PARSONS, J.J. Spread of African grasses to the American tropics. **Journal of Range Management**, v. 25, p. 12-17, 1972.

PEREIRA, A. V.; VALLE, C. B.; FERREIRA, R. P.; MILES, J. W. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: NASS, L. L.; VALOIS, C. C.; MELO, I. S.; VALADARES-INGRES, M. C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento de plantas**. Rondonópolis: Fundação Mato Grosso, 2001. p. 549-602.

PUNT, W.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. **Glossary of pollen and spore terminology**. 1999. Disponível em: <Http: <www.biol.ruu.nl/~palaeo/glossary/glos-int.htm>. Acesso em: 10 jan. 2008.

RENVOIZE, S.A.; CLAYTON, W.D.; KABUYE, C.H.S. Morfología, taxonomía y distribución natural de *Brachiaria* (Trin.) Griseb. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. (Ed.). **Brachiaria: biology, agronomy and improvement**. Campo Grande: Embrapa, 1996. p. 16-42.

RENVOIZE, S.A.; CLAYTON, W.D.; KABUYE, C.H.S. Morfología, taxonomía y distribución natural de *Brachiaria* (Trin.) Griseb. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. (Ed.). **Brachiaria: biología, agronomía y mejoramiento**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1998. p. 1-17.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. do. A new basic chromosome number for the genus *Brachiaria* (Trin.) Griseb. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Genetic Resources Crop Evolution**, Netherlands, v. 53, p. 7-10, 2006.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. do; JANK, L. Asynchronous meiosis in an interspecific hybrid of *Brachiaria ruzizensis* and *B. brizantha*. **Plant Cell Reports**, Berlin, v. 23, n. 5, p. 304-310, Nov. 2004.

SHIVANNA, K.R.; JOHRI, B.M. **The angiosperm pollen: structure and function**. New Dehli: Wiley Eastern, 1985.

SHIVANNA, K.R.; RANGASWAMY, N.S. **Pollen biology: a laboratory manual**. Berlin: Springer-Verlag, 1992. 119 p.

SOARES FILHO, C.V. **Brachiaria: espécies e variedades recomendadas para diferentes condições**. Campinas: Coordenadoria de Assistência Técnica Integral – CATI, 1996. 26 p. (Boletim Técnico).

SOUZA, M.M.; PEREIRA, T.N.S.; VIANA, A.P.; PERERIRA, M.G.; MADUREIRA, H. C. Flower receptivity and fruit characteristics associated to time of pollination in the yellow passion fruit *Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener (Passifloraceae). **Scientia Horticulturae**, v. 101, p. 373-385, 2004.

SOUZA SOBRINHO, F. Melhoria de forrageiras no Brasil. In: SIMPÓSIO DE FORRAGICULTURA E PASTAGENS, 5., 2005, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA/FAEPE, 2005. 1 CD-ROM.

STENGLEIN, S. A.; ARAMBARRIA, A.M.; SEVILLANOD, M.D.C.M.; BALATTI, P.A. Leaf epidermal characters related with plant's passive resistance to pathogens vary among accessions of wild beans *Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus* (Leguminosae– Phaseoleae). **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 200, p. 285-295, 2005.

SWENNE, A.; LOUANT, B.P.; DUJARDIN, M. Induction par la colchicine de formes autotetraploïdes chez *Brachiaria ruzizensis* Germain et Evrard (Graminée). **Agronomie Tropicale**, v. 36, n. 2, p. 134-141, 1998.

SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding: a personal view. In: VALLE, D.B. do. A citogenética e o melhoramento de *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 11., 2007, Lavras. **Anais...** Lavras, 2007. p. 84-103.

TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEDROZO, C.A.; PEREIRA, A.V. Viabilidade do grão de pólen de acessos de capim-elefante, milheto e híbridos interespecíficos (capim elefante x milheto). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 28, p. 7-12, 2006.

TRAVIS, A.J.; MURISON, S.D.; PERRY, P.; CHESSON, A. Measurement of cell wall volume using confocal microscopy and its application to studies of forage degradation. **Annals of Botany**, v. 80, p. 1-11, 1997.

VALLE, C.B. **Citologia, modo de reprodução e melhoramento de Brachiaria**. 2008. Disponível em: <
<http://www.inta.gov.ar/mercedes/grupocampos/IX/Tema%20recoleccion%20evaluacion%20y%20mejoramiento.pdf>>. Acesso em: 16 jan. 2008.

VALLE, D.B. do. A citogenética e o melhoramento de *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 11., 2007, Lavras. **Anais...** Lavras, 2007. p. 84-103.

VALLE, C.B.; JANK, L.; RESENDE, R.M.S.; CANÇADO, L.J. O papel da biotecnologia de forrageiras para a produção animal. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41., 2004, Campo Grande. **Anais...** Campo Grande: SBZ, 2004. 1 CD-ROM.

VALLE, C.B. do; SAVIDAN, Y.H. Genetics, cytogenetics and reproductive biology of *Brachiaria*. In: MILES, J.W.; MASS, B.L.; VALLE, C.B. (Ed.). **Brachiaria: biology, agronomy and improvement**. Brasília: Embrapa-CNPGC, 1996. p. 147-163.

VIANNA, R.A.P.; BOBROWSKIV, L.; SILVA, D.S.; SILVA, S.D. Avaliação de diferentes corantes como indicadores de viabilidade do pólen de mamona. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MAMONA, 2., 2006, Aracajú. **Anais...** Campina Grande: Embrapa Algodão, 2006. 1 CD-ROM.

VILELA-MORALES, E.A.; VALOIS, A.C.C. Recursos genéticos vegetais autóctones e seus usos no desenvolvimento sustentável. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 11-42, maio/ago. 2000.

WILSON, J.R. Structural and anatomical traits of forages influencing their nutritive value for ruminants. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE PRODUÇÃO ANIMAL EM PASTEJO, 1997, Viçosa, MG. **Anais...** Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 1997. p. 173-208.

CAPÍTULO 2

CITOGENÉTICA DE ACESSOS E PROGÊNIES DE *Brachiaria* (POACEAE)

1 RESUMO

GOULART, Jeanne de Cássia. Citogenética de acessos de progênies de *Brachiaria* (Poaceae) In: **Citogenética e anatomia foliar de acessos e progênies de *Brachiaria***. 2008. cap. 2, p. 22-36. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG*.

Entre as espécies de *Brachiaria* cultivadas no Brasil, existem semelhanças morfológicas que dificultam a coleta e a correta identificação precisa dos genótipos necessários ao programa de melhoramento. Para ao sucesso desse programa, além da correta identificação dos genótipos, é necessário definir sua estratégia com base no modo de reprodução dos genótipos envolvidos. O presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o número cromossômico e fornecer informações a respeito da viabilidade de acessos e progênies de *Brachiaria* utilizados no Programa de Melhoramento da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG, para fins de cruzamento. Dos acessos avaliados, somente R09 e R11 apresentaram 18 cromossomos, indicando tratar-se de representantes de *B. ruziziensis*, assim como todas as progênies analisadas. Os acessos R02, R03, R04, R08, R10, 86 e 360 apresentaram 36 cromossomos. Esses acessos são representantes de *B. decumbens*, coletados entre os genótipos de *B. ruziziensis*. Entre as progênies e o acesso de *B. ruziziensis* não houve diferença significativa para a porcentagem de viabilidade e, em média, os genótipos apresentaram alta viabilidade polínica. Já os acessos de *B. decumbens* apresentaram taxa de viabilidade abaixo de 65%, que pode estar relacionada com a ocorrência da apomixia na espécie.

* Comitê Orientador: Lisete Chama Davide – UFLA (Orientadora); Fausto de Souza Sobrinho (co-orientador) (Embrapa).

2 ABSTRACT

GOULART, Jeanne de Cássia. Cytogenetics of the accessions and progenies of *Brachiaria* (Poaceae). In: **Cytogenetic and anatomy leaf of accessions and progenies of *Brachiaria***. 2008. chap. 2, p. 22-36. Dissertation (Master's degree in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.

Among the species of *Brachiaria* grown in Brazil, there are morphological similarities that make it difficult to collection accurate and precise identification of genotypes required for the improvement programme. For the success of this programme, besides the correct identification of genotypes, it is necessary to define the strategy based on the mode of reproduction of genotypes involved. The purpose of this work was to count chromosome number and provide information about the viability for crossing of accessions and progenies of *Brachiaria* used in the breeding program of Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG. Among the accessions only R09 and R11 presented 18 chromosomes, indicating they are representatives of *B. ruziziensis* as well as all progenies examined. The accessions R02, R03, R04, R08, R10, 86 and 360 possessed 36 chromosomes. These accessions are representatives of *B. decumbens*, collected between the genotypes of *B. ruziziensis*. Among the progenies and the accessions of *B. ruziziensis* there was no significant difference in the percentage of viability and, on average, the genotypes showed high pollen viability. The accessions of *B. decumbens* showed the viability rate below 65%, which may be related to the occurrence of apomixis in the species.

* Guidance committee: Lisete Chamma Davide - UFLA (Adviser), Fausto de Souza Sobrinho (co-orientador) (Co-Adviser).

3 INTRODUÇÃO

O gênero *Brachiaria* é constituído por cerca de cem espécies e com limites taxonômicos ainda mal definidos, tanto em termos de espécies componentes, como da sua inter-relação com outros gêneros. A origem da grande maioria das espécies é o continente africano, incluindo todas as espécies de importância para a pecuária tropical (Valle et al., 2001).

O gênero *Brachiaria* tem fornecido importantes espécies forrageiras para as regiões tropicais, tanto na e Austrália como na América do Sul. Nestas áreas, espécies de *Brachiaria* formam pastagens que se adaptam às mais variadas condições de solos, desenvolvendo-se desde solos úmidos e férteis até os solos pobres de Cerrado sujeitos a secas estacionais (Seiffert, 1980).

Entre as espécies de *Brachiaria* cultivadas mais importantes, existem semelhanças morfológicas que dificultam a coleta e a identificação precisa de acessos necessários ao programa de melhoramento. Segundo Serrão & Simão Neto (1971), *B. brizantha* difere de *B. decumbens* e *B. ruziziensis*, principalmente por ser de porte quase ereto e por enraizar muito pouco nos nós. Já *B. ruziziensis* está mais proximamente relacionada com *B. decumbens*, da qual difere, no entanto, por ser de porte maior, chegando a 1,50 m e apresentar a gluma inferior distante do resto da espiguetta. Segundo Seiffert (1980), a alta pilosidade das folhas também ajuda na identificação de *B. decumbens*. Apesar dessas diferenças morfológicas, é comum ocorrerem misturas e identificações incorretas dos genótipos de *Brachiaria*, quando as coletas são realizadas com base nesses caracteres.

As outras características que distinguem essas espécies são o número cromossômico e o modo de reprodução. *B. ruziziensis* é diploide e sexual ($2n = 2x = 18$) (Ferguson e Crowder, 1974), enquanto *B. brizantha* e *B. decumbens* são teraplóides e apomíticas, apesar de acessos diplóides e hexaplóides já terem sido

relatados (De Wet, 1960).

Apesar da imensa área ocupada pelas pastagens cultivadas, as variedades de *Brachiaria* disponíveis ainda são poucas, pois o melhoramento de *Brachiaria* não é uma tarefa simples, visto que a maioria dos acessos é poliplóide e apomítico (Felismino et al., 2006). Dessa forma, torna-se importante a definição de uma estratégia com base no modo de reprodução dos genótipos envolvidos. Métodos de melhoramento e esquemas de cruzamento serão mais eficientes se corretamente aplicados para plantas autógamas, alógamas, mistas ou apomíticas (Valle, 2007).

Em muitas circunstâncias, para efeito de cruzamento, há necessidade de se avaliar a viabilidade dos grãos de pólen, sejam eles recém-liberados da antera ou armazenados por curtos ou longos períodos. Vários fatores externos, como umidade relativa do ar, temperatura, percentagem de gás carbônico na atmosfera e pressão de oxigênio, afetam sobremaneira a viabilidade do grão do pólen, principalmente daqueles estocados por longos períodos (Pagliarini e Pozzobon, 2006).

Recentemente, a Embrapa Gado de Leite iniciou um programa de melhoramento genético de *B. ruziziensis*. Como a coleta de material para compor a população de trabalho foi baseada na identificação, baseada em características morfológicas, de plantas em pastagens cultivadas no Brasil, com grande risco de mistura de espécies, há a necessidade de se realizar a certificação taxonômica dos materiais coletados para o programa de melhoramento é imprescindível.

Nesse contexto, o presente trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o número cromossômico e a viabilidade dos grãos de pólen, para fins de cruzamentos, de acessos e progênes de *Brachiaria* utilizados no Programa de Melhoramento da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material botânico

As estacas de 9 acessos (R02, R03, R04, R08, R09, R10, R11, 86, 360) e 17 progênies (4, 10, 20, 79, 82, 83, 84, 94, 243, 298, 300, 315, 323, 324, 326, 329, 336) de *Brachiaria* do Programa de Melhoramento da Embrapa Gado de Leite, localizada em Juiz de Fora, MG, foram coletadas no campo experimental e trazidas para a casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras, em Lavras, MG. Esses genótipos foram escolhidos no campo experimental por apresentarem características fenotípicas semelhantes a *B. decumbens*.

Os acessos (R 03 e R 10 e R 11) e as progênies (10, 20, 82, 83, 84, 300, 323, 324 e 336) de *Brachiaria*, previamente identificados com base na contagem cromossômica, foram analisados quanto à viabilidade do pólen.

Para a coleta das pontas de raízes, as estacas foram cultivadas em vasos com substrato, sendo feitas coletas de 4 em 4 dias, entre 8 e 10 horas da manhã.

4.2 Preparação das lâminas

Para a obtenção de cromossomos metafásicos, adaptou-se a metodologia proposta por Techio et al. (2006). As pontas de raízes coletadas foram submetidas a pré-tratamentos com ciclohexamida 25 mg.L⁻¹ e hidroxiquinoleína 300 mg.L⁻¹ (1:1) por 2 horas e 45 minutos em geladeira. Após o tratamento, as raízes foram lavadas em água destilada, por 5 minutos (3x), secas e fixadas em solução de Carnoy (etanol: ácido acético - 3:1) por, no mínimo, 24 horas. Em seguida, as raízes foram submetidas à maceração enzimática em solução de pectinase (40%)/celulase (4%), por 2 horas e 30 minutos, seguida de hidrólise (quando necessária) em HCl 1N, a 60°C, por 5 minutos, extração e fragmentação

do meristema. Para a montagem das lâminas, utilizou-se a técnica de esmagamento ou a de secagem ao ar e a coloração com Giemsa 5%, por 10 minutos.

Foram avaliadas 20 metáfases de cada acesso e progênes em estudo para a determinação do número cromossômico.

4.3 Viabilidade do pólen

Os botões florais, dos acessos e das progênes descritas anteriormente, em estágio ideal para o estudo, foram coletados entre 8 e 9 horas da manhã. As anteras frescas foram retiradas sobre uma lâmina e os grãos de pólen foram extraídos. Foi utilizado o corante de Alexander (Alexander, 1980) e considerados viáveis os polens que apresentaram coloração azul-escura e inviáveis aqueles que apresentaram coloração azul-clara.

Foram avaliadas 5 lâminas para cada acesso e progênie e 200 grãos de pólen foram analisados ao acaso, em cada lâmina. A percentagem de polens viáveis foi obtida em função do número total de pólenes avaliados.

Os resultados foram submetidos ao teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Avaliação do número cromossômico

Os números cromossômicos somáticos das progênies e acessos avaliados encontram-se na Tabela 2. Dos acessos avaliados, somente R09 e R11 apresentaram 18 cromossomos (Figura 1), indicando tratar-se de representantes de *B. ruziziensis*, assim como todas as progênies analisadas.

Os acessos R02, R03, R04, R08, R10, 86 e 360 apresentaram 36 cromossomos (Figura 1). Das espécies de *Brachiaria* com 36 cromossomos, somente *B. decumbens* e *B. brizantha* são cultivadas no Brasil e, pelo fato de de esses genótipos apresentarem porte inferior ao dos genótipos de *B. ruziziensis*, sugere-se tratarem-se de *B. decumbens*, uma vez que *B. brizantha* tem maior porte.

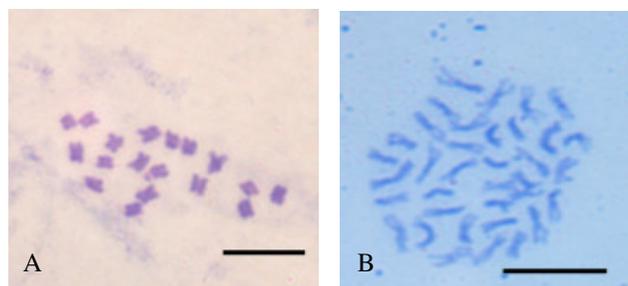


FIGURA 1. Metáfases somáticas das espécies de *Brachiaria*. A - *B. ruziziensis* ($2n = 2x = 18$); B - *B. decumbens* ($2n = 4x = 36$). As barras das figuras correspondem a 10 micrômetros. UFLA, Lavras, MG, 2008

TABELA 2 Número cromossômico encontrado nos acessos e progênies de *Brachiaria* analisados. UFLA, Lavras, MG. 2008.

Acessos	Ploidia	Espécie
R 02	2n = 4x = 36	<i>Brachiaria decumbens</i>
R 03	2n = 4x = 36	<i>Brachiaria decumbens</i>
R 04	2n = 4x = 36	<i>Brachiaria decumbens</i>
R 08	2n = 4x = 36	<i>Brachiaria decumbens</i>
R 09	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
R 10	2n = 4x = 36	<i>Brachiaria decumbens</i>
R 11	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
86	2n = 4x = 36	<i>Brachiaria decumbens</i>
360	2n = 4x = 36	<i>Brachiaria decumbens</i>
Progênies		
4	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
10	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
20	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
79	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
82	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
83	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
84	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
94	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
243	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
298	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
300	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
315	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
323	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
324	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
326	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
329	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>
336	2n = 2x = 18	<i>Brachiaria ruzizienis</i>

Em todas as metáfases analisadas, o número básico encontrado foi $x=9$, confirmando o trabalho de Darlington & Wylie (1955), que definiram os números básicos $x=9$ ou $x=7$ para o gênero *Brachiaria*. Mais recentemente, no entanto, foram descritos complementos cromossômicos com $x=6$ para as espécies de *B. humidicola* e *B. dictyoneura* (Risso-Pascotto et al., 2006).

Problemas relacionados com classificações incorretas são frequentes entre as espécies de *Brachiaria* comumente utilizadas nas pastagens, assim como entre os acessos das coleções de germoplasma. Atualmente, a descrição e a distinção das espécies do gênero *Brachiaria* podem ser feitas, além da contagem de cromossomos e da citometria de fluxo, com base em chaves de classificação. No entanto, segundo Renvoize et al. (1998), não existe nenhuma chave adequada de *Brachiaria*, embora uma classificação setorial tenha sido proposta por Stapf (1919), para 56 espécies africanas e, em âmbito mundial, (Pilger, 1940) para 50 espécies (Assis, 2001).

O intenso intercâmbio de germoplasma também tem causado certa confusão sobre a identidade dos genótipos. Diversos autores (Loch, 1977; Maass, 1998; Renvoize et al., 1998) destacaram a necessidade de se classificar acessos e discriminar espécies corretamente, inclusive para que os bancos de germoplasma possam ser utilizados com eficiência no melhoramento genético desse gênero (Keller-Grein et al., 1998).

5.2 Viabilidade polínica

Na Figura 2 podem-se observar os grãos de pólen viáveis (corados de azul escuro) e os inviáveis (corados de azul claro).

O corante Alexander foi escolhido para o teste de viabilidade, pois ele reage onde há plena atividade enzimática, indicada pela presença da esterase. Felismino et al. (2006) realizaram testes com corantes (cloreto de

trifeniltetrazólio, iodeto de potássio, verde malaquita com fucsina ácida, azul de metileno e carmim propiônico) para a viabilidade polínica em *Brachiaria* e todos os corantes utilizados revelaram-se eficientes na determinação na viabilidade do pólen, havendo pouca diferença na porcentagem de viabilidade entre eles. Segundo os autores, não há um teste de viabilidade universal, pois a coloração depende do conteúdo químico do grão de pólen da espécie em estudo, de sua morfologia e das propriedades do corante.

As taxas de viabilidade do pólen dos genótipos de *Brachiaria* estudados encontram-se na Tabela 3.

Entre as progênies (10, 20, 82, 83, 84, 300, 323, 324 e 336) e o acesso (R 11) de *Brachiaria ruziziensis* não houve diferenças significativas de viabilidade polínica, a 5% de probabilidade, pelo teste de Scott-Knott. Em média, os genótipos apresentaram alta viabilidade (superior a 90%). Esse resultado era esperado, por se tratar de genótipos de uma espécie diplóide ($2n=2x=18$). Estudos sobre o comportamento meiótico dessa espécie já demonstraram que, em geral, acessos diplóides apresentam algumas anormalidades na primeira divisão, como alguns cromossomos em ascensão precoce e cromossomos retardatários, dando origem a poucos micronúcleos em telófase I. Já na segunda divisão meiótica é sempre muito mais regular e o produto final da meiose é normal (Mendes-Bonato et al., 2002).

Já os acessos de *Brachiaria decumbens* (R 03 e R 10) apresentaram taxa de viabilidade abaixo de 65%. Esses acessos são tetraplóides e, geralmente, nessa espécie, a poliploidia resulta em indivíduos apomíticos que apresentam muitas irregularidades meióticas.

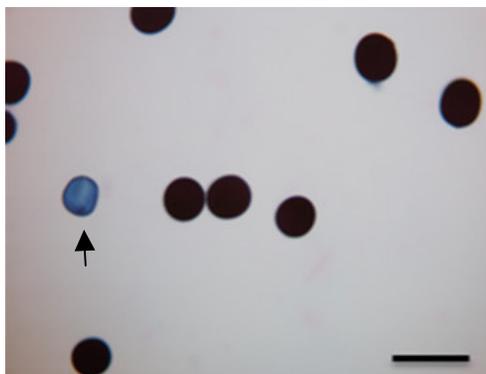


FIGURA 2 Viabilidade do pólen. Polens viáveis e inviáveis (seta). A barra na figura corresponde a 100 μm . UFLA, Lavras, MG, 2008.

Mendes-Bonato et al. (2001) citam, entre as irregularidades meióticas encontradas em *Brachiaria decumbens*, segregação cromossômica irregular, dessinapse, aderência cromossômica e sincícios fusionais. Neste trabalho, os autores também relatam terem encontrado 52% de polens inviáveis, além de anormalidades, como pólen com micronúcleos. Como, nessas plantas, a produção de sementes não foi afetada por essas irregularidades, os autores sugerem que estas sejam apomíticas.

Para o sucesso do programa de melhoramento, resultados como este sobre a viabilidade do pólen são de fundamental importância, visto que a eficácia dos cruzamentos depende da escolha de doadores de pólen com alta estabilidade meiótica e alta fertilidade do pólen. Como entre as progênes de *B. ruziziensis* a taxa de viabilidade foi alta e não houve diferença significativa entre elas, o programa de melhoramento de *B. ruziziensis* da Embrapa Gado de Leite pode continuar o trabalho de seleção para esses genótipos.

TABELA 3 Valores médios da viabilidade por coloração dos grãos de pólen dos acessos e progênies de *Brachiaria*. UFLA, Lavras, MG, 2008

Genótipos	Médias viabilidade
R 10	51.80 c
R 03	64.20 b
323	93.40 a
324	93.80 a
20	94.40 a
84	94.60 a
300	95.00 a
R 11	95.40 a
336	95.40 a
82	96.20 a
10	96.60 a
83	97.20 a
Média	89,00
CV%	3,93

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

6 CONCLUSÕES

Dos genótipos de *Brachiaria* analisados, 77,7% dos acessos e 100% das progênies confirmaram tratar-se de *B. ruzizensis*.

Das progênies analisadas, 100% delas apresentaram alta viabilidade polínica. Já os acessos de *Brachiaria decumbens*, a baixa viabilidade sugere alta instabilidade meiótica e que esses genótipos sejam apomíticos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEXANDER, M.P. A versatile stain for pollen from fungi, yeast na bactéria. **Stain Technology**, Blatimore, v. 55, p. 13-18, 1980.

ASSIS, G.M.L. **Análise discriminante e divergência genética em espécies de *Brachiaria***. 2001. 76 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, MG.

DARLINGTON, C.D.; WYLIE, A.P. **Chromosome atlas of flowering plants**. London, UK: Allen & Unwin, 519 p. 1955.

DE WET, J.M.J. Chromosome numbers and some morphological attributes of various South African grasses. **American Journal Botany**, v. 47, p. 44-49, 1960.

FELISMINO, M.F.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B.; RESENDE, R.S. Avaliação da viabilidade polínica em acessos e híbridos de *Brachiaria* (Poaceae: paniceae). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 52, 2006, Foz do Iguaçu. **Resumo...** Foz do Iguaçu, 2006. 1 CD-ROM.

FERGURSON, J.E.; CROWDER, L.V. Cytology and breeding behavior of *Brachiaria euziziensis* Germain et Evrard. **Crop Science**, Madison, v. 14, p. 893-895, 1974.

KELLER-GREIN, G.; MAASS, B.L.; HANSON, J. Variación natural en *Brachiaria* y bancos de germoplasma existentes. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. (Ed.). **Brachiaria: biología, agronomía y mejoramiento**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1998. p. 18-45.

LOCH, D.S. *Brachiaria decumbens* (signal grass) – a review with particular reference to Australia. **Tropical Grasslands**, v. 11, n. 2, p. 141-157, 1977.

MAASS, B.L. Identificación y nomenclatura de las especies de *Brachiaria*. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. (Ed.). **Brachiaria: biología, agronomía y mejoramiento**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1998. p. ix-xiii.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; FORLI, F.; VALLE, C.B. do; PENTEADO, M.I.O. Chromosome number and microsporogenesis in *Brachiaria brizantha* (Gramineae). **Euphytica**, Wageningen, v. 125, p. 419-425, 2002.

MENDES-BONATO, A.B.; PAGLIARINI, M.S.; SILVA, N.; VALLE, C.B. do. Meiotic instability in invader plants of signal grass *Brachiaria decumbens* Stapf (Gramineae). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 23, n. 2, p. 619-625, 2001.

PAGLIARINI, M.S.; POZZOBOM, M. Meiose em vegetais: um enfoque para a caracterização de germoplasma. In: PENALOZA, A. del P. de S. **II Curso de citogenética aplicada a recursos genéticos vegetais**. 154. ed. Brasília: Embrapa, 2006. v. 1, p. 24-41.

PILGER, R. Panicoideae. In: ENGLER, A. (Ed.). Die natürlichen Pflanzenfamilien. **Verlag Wilhelm Engelmann**, Leipzig, v. 14, p. 26-28, 1940.

RENVOIZE, S.A.; CLAYTON, W.D.; KABUYE, C.H.S. Morfología, taxonomía y distribución natural de *Brachiaria* (Trin.) Griseb. In: MILES, J.W.; MAASS, B.L.; VALLE, C.B. (Ed.). **Brachiaria: biología, agronomía y mejoramiento**. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 1998. p.1-17.

RISSO-PASCOTTO, C.; PAGLIARINI, M.S.; VALLE, C.B. A new basic chromosome number for the genus *Brachiaria* (Trin.) Griseb. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Genetic Resources Crop Evolution**, Netherlands, v. 53, p. 7-10, 2006.

SEIFFERT, N.F. **Gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria***. Campo Grande, MS: EMBRAPA-CNPGC, 1980. 83 p. (Circular Técnica, 1).

SERRÃO, E.A.D.; SIMÃO NETO, M. Informações sobre duas espécies de gramíneas forrageiras do gênero *Brachiaria* na Amazônia: *B. decumbens* Stapf e *B. ruziziensis* Germain et Evrard. **Série: Estudos sobre forrageiras na Amazônia**, v. 2, n. 1, p. 31, 1971.

STAPF, O. Gramineae, Maydeae-Paniceae. In: PRAIN, D. (Ed.). **Flora of tropical África**. Ashford, Kent, RU: Reeve e Co., 1919. v. 9, 505 p.

TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEDROZO, C.A.; PEREIRA, A.V. Viabilidade do grão de pólen de acessos de capim-elefante, milheto e híbridos interespecíficos (capim elefante x milheto). **Acta Scientiarum**, Maringá, v. 28, p. 7-12, 2006.

VALLE, D.B. do. A citogenética e o melhoramento de *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 11., 2007, Lavras. **Anais...** Lavras, 2007. p. 84-103.

VALLE, C.B.; EUCLIDES, V.P.B.; MACEDO, M.C.M Características das plantas forrageiras do gênero *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DE PASTAGEM, 17., 2000, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: Fundação de Estudos Agrários Luiz de Queiroz, 2000. p. 65-108.

CAPÍTULO 3

CARACTERIZAÇÃO POLÍNICA EM *Brachiaria*

1 RESUMO

GOULART, J. C. Caracterização polínica em *Brachiaria* In: **Citogenética e anatomia foliar de acessos e progênies de *Brachiaria***. 2008. cap. 3, p. 37-46. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG *

No gênero *Brachiaria*, as espécies de maior importância agrônômica, como *B. decumbens* e *B. brizantha*, são predominantemente tetraplóides ($2n=4x=36$) e apomíticas, enquanto *B. ruziziensis* é realmente diplóide ($2n = 2x = 18$) e sexual. Além do estudo da viabilidade do pólen, a sua caracterização morfológica é uma ferramenta importante nos estudos taxonômicos do gênero. Este trabalho foi realizado com o objetivo de caracterizar morfológicamente os grãos de pólen de *Brachiaria ruziziensis* e *B. decumbens*, visto que há carência de informações a esse respeito, na literatura. A média da razão P/E está na faixa de 0,88 a 1,14 micrômetros, o que coloca as duas espécies no mesmo grupo de classificação. A espécie *B. ruziziensis* apresenta menor média para P/E e para exina que *B. decumbens*, o que leva a acreditar que a ploidia possa estar relacionada com o tamanho do grão de pólen e a espessura da parede. Esses resultados poderão subsidiar futuros trabalhos de taxonomia.

* Comitê Orientador: Lisete Chamma Davide – UFLA (Orientadora); Fausto de Souza Sobrinho (co-orientador) (Embrapa)

2 ABSTRACT

GOULART, Jeanne de Cássia. Characterization of the grain of the pollen in *Brachiaria*. In: **Cytogenetic and anatomy leaf of accessions and progenies of *Brachiaria***. 2008. chap. 3, p. 37-46. Dissertation (Master's degree in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.

In the genus *Brachiaria*, species of major agronomic importance such, as *B. decumbens* and *B. brizantha*, are predominantly tetraploid ($2n = 4x = 36$) and apomictics, while *B. ruziziensis* is truly diploid ($2n = 2x = 18$) and sexual. Besides studying pollen viability, their morphological characterization is an important tool in taxonomic studies of the genus. The purpose of this work was to morphologically characterize pollen grains of *Brachiaria ruziziensis* and *B. decumbens*, since there is a lack of information about this in the literature. The average P / E ratio is in the range of 0.88 to 1.14 micrometers, which put the two species in the same group of classification. *B. ruziziensis* presents lower average P / E ratio and exine than *B. decumbens*, which leads to believe that the ploidy may be linked to pollen size and wall thickness. These results could subsidize future taxonomy studies.

* Guidance committee: Lisete Chamma Davide - UFLA (Adviser), Fausto de Souza Sobrinho (co-orientador) (Co-Adviser).

3 INTRODUÇÃO

As pastagens cultivadas no Brasil tropical são base da produção de bovinos de corte e muito contribuem para a produção de leite. Elas cobrem extensas áreas, estimadas em cerca de 120 milhões de hectares e mais de 85% delas ocupadas com capim do gênero *Brachiaria* (Macedo, 2006).

Esse gênero compreende cerca de 100 espécies distribuídas pelas regiões tropicais de ambos os hemisférios. Algumas dessas espécies ganharam considerável importância como gramíneas forrageiras, por terem demonstrado uma plasticidade genética que permitiu a adaptação a variadas condições de solo numa ampla faixa de latitudes (Goulart et al., 2007).

As espécies de maior importância agrônômica, como *B. decumbens* e *B. brizantha*, são predominantemente tetraplóides ($2n=4x=36$) e apomíticas. A apomixia é caracterizada pelo desenvolvimento do embrião, sem a fusão dos gametas masculino e feminino. Assim, a descendência contém exatamente a constituição genética da planta-mãe. Somente *B. ruziziensis* é realmente diplóide ($2n = 2x = 18$) e sexual. Esse fato dificulta o melhoramento genético das espécies, uma vez que a ploidia se torna uma barreira à hibridação.

Segundo Valle (2007), para um programa de melhoramento eficiente, são necessários, além da existência de variabilidade genética numa coleção de genótipos de forrageiras, conhecimentos básicos sobre o material a ser trabalhado.

Assim, é necessário avaliar o modo de reprodução, a ploidia e compreender o comportamento meiótico dos genótipos em estudo para definir a melhor estratégia para o programa de melhoramento.

Estudos da morfologia polínica são escassos ou inexistentes para o gênero. Os resultados desses estudos podem contribuir de maneira relevante para problemas taxonômicos existente no gênero *Brachiaria*, além de fornecer

informações que, aliadas a estudos citogenéticos, podem ser de fundamental importância.

Neste contexto, o presente trabalho teve o objetivo de caracterizar morfológicamente os polens de acessos e progênies de *Brachiaria*.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material botânico

As estacas de acessos e as progênies de *Brachiaria* do programa de melhoramento da Embrapa Gado de Leite, localizada em Juiz de Fora, MG, foram coletadas no campo experimental e trazidas para a casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras (UFLA), Lavras, MG, onde foram plantadas em vasos de 8 litros, com substrato plantmax.

No período de florescimento, os botões florais dos acessos (R03 e R04) e das progênies (10 e 300), identificados previamente, foram coletados e analisados, quanto à morfologia polínica, no Laboratório de Citogenética Vegetal da UFLA.

4.2 Morfologia polínica

Os botões florais de *Brachiaria ruziziensis* e *Brachiaria decumbens* foram coletados entre 8 e 9 horas da manhã e fixados em Carnoy (álcool etílico:ácido acético, 3:1) por, no mínimo, 24 horas. As anteras foram retiradas e preparadas segundo o método acetolítico de Erdtman (1952), em que os grãos de pólen foram submetidos à acetólise, que consiste em anidrido acético e ácido sulfúrico, na proporção de 9:1, eliminando o conteúdo celular para observação da parede externa do pólen (exina). Os grãos de pólen foram montados em lâminas com gelatina glicerinada e as descrições polínicas e a terminologia, de acordo com Punt et al. (1999).

As lâminas foram avaliadas em microscópio de campo claro, equipado com microcâmera para a digitalização das imagens. Foram mensurados, aleatoriamente, 50 grãos de pólen de cada espécie, utilizando-se o programa Sigma ScanPro 5. Foi calculada a razão baseada na medida do eixo polar (P) e do eixo equatorial (E) (P/E), utilizando-se 25 grãos de pólen, sempre que estes

se apresentaram em vista equatorial. A espessura das camadas de exina também foram mensuradas (endoexina + ectoexina), utilizando-se 25 grãos de pólen.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e ao teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com Punt et al. (1999), os grãos de pólen das duas espécies estudadas são grandes, monocolporados e de âmbito circular. Como a média da razão do eixo polar (P) sobre o diâmetro equatorial (E) na vista equatorial ficou no intervalo de 0,88 a 1,14 micrômetros, os grãos de pólen podem ser classificados como esferoidais, nos quais o eixo polar e o diâmetro equatorial são semelhantes. Em *Brachiaria ruziziensis*, a endoexina é menos espessa que a ectoexina. Já em *Brachiaria decumbens*, a endoexina é mais espessa. As fotografias dos grãos de pólen das espécies em estudo podem ser visualizadas na Figura 3.

Nas Tabelas 4 e 5, pode-se verificar que as espécies não se diferenciaram entre si para a medida do eixo polar (P) e diferiram para o diâmetro equatorial (E), a 5% de probabilidade. Dessa maneira, diferiram significativamente para a razão P/E, em que *B. ruziziensis* se mostrou maior que *B. decumbens*. Porém, como a média da razão está na faixa de classificação que vai de 0,88 a 1,14 micrômetros, as duas espécies possuem a mesma classificação.

Com relação ao tegumento (Tabelas 4 e 6), ambas as espécies não diferiram significativamente com relação à medida da ectoexina, mas diferiram com relação à endoexina, tendo *B. decumbens* apresentado maior média que a *B. ruziziensis*. Assim, *B. decumbens* possui a parede mais espessa que *B. ruziziensis*.

A maior razão P/E e a maior espessura do tegumento para *B. decumbens* podem estar relacionado com a ploidia da espécie. *B. ruziziensis*, diplóide, apresenta menores valores para essas características que *B. decumbens*, tetraplóide.

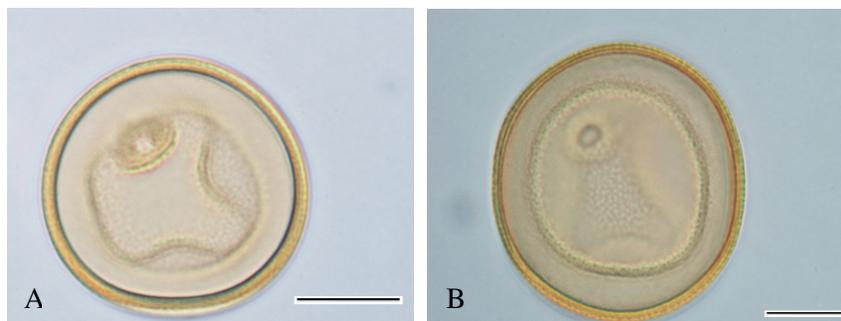


FIGURA 3 Grão de pólen das espécies de *Brachiaria*, na visão equatorial. A - *B. ruziziensis*; B - *B. decumbens*. As barras nas figuras correspondem a 100 μ m. UFLA, Lavras, MG, 2008

TABELA 4 Resumos das análises de variância para as características eixo polar (P), diâmetro equatorial (E), razão P/E, endoexina (endo), ectoexina (ecto) e exina obtidas nas mensurações realizadas nos grãos de pólen das espécies de *Brachiaria*.UFLA, Lavras, MG, 2008.

FV	GL	QM					
		P	E	P/E	ENDO	ECTO	EXINA
Espécies	1	1049,65 ^{ns}	3911,68*	0,02*	5,37*	2,06 ^{ns}	14,11*
Erro	24	355,81	272,71	0,003	0,65	0,68	1,98
Média		211,9	205,63	1,03	4,37	4,34	8,72
CV%		8,9	8,03	5,64	18,42	19,05	16,14

* significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F, ^{ns} - não significativo

TABELA 5 Médias (μm) do eixo polar, do diâmetro equatorial e da razão P/E (eixo polar/diâmetro equatorial) dos grãos de pólen das espécies de *Brachiaria* em vista equatorial, obtidas nas mensurações realizadas nos grãos de pólen espécies de *Brachiaria*.UFLA, Lavras, MG, 2008.

Espécies	Vista equatorial				P/E
	Eixo polar		Diâmetro equatorial		
	faixa de variação	m	faixa de variação	m	
<i>B. ruziziensis</i>	185,02 - 254,44	216,48 a	181.48 - 244,70	214,48 a	1.01 a
<i>B. decumbens</i>	177,18 - 232,29	207,32 a	176.43 - 226,97	196,79 b	1.05 b

m = média aritmética. *Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

TABELA 6 - Médias (μm) da parede dos grãos de pólen, endoexina, ectoexina e da exina (endoexina + ectoexina) das espécies de *Brachiaria* obtidas nas mensurações realizadas nos grãos de pólen espécies de *Brachiaria*.UFLA, Lavras, MG, 2008.

Espécies	Parede do pólen				Exina
	Endoexina		Ectoexina		
	faixa de variação	média	faixa de variação	média	
<i>B. ruziziensis</i>	3.54 - 6, 65	4,70 a	2.90 - 5, 93	4,54 a	8.19 a
<i>B. decumbens</i>	2.25 - 5,56	4,05 b	2.64 - 5,80	4,14 a	9.25 b

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

6 CONCLUSÕES

A maior razão P/E e a maior espessura do tegumento para *B. decumbens* podem estar relacionadas com o nível de ploidia da espécie.

Como na literatura não foram encontrados relatos sobre a morfologia polínica de *Brachiaria*, este trabalho servirá como subsídio para estudos citogenéticos e taxonômicos das espécies do gênero.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

GOULART, J.C.; MORETO, A.L.; DAVIDE, L.C.; SOUZA SOBRINHO, F.; TORRES, G.A. Número cromossômico de acessos de *Brachiaria*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE MELHORAMENTO DE PLANTAS, 4., 2006, São Lourenço. **Resumo...** Lavras: UFLA, 2007. 1 CD-ROM.

MACEDO, M.C.M. Aspectos edáficos relacionados com a produção de *Brachiaria brizantha* cultivar Marandu. In: BARBOSA, R.A. (Ed). **Morte de pastos de Braquiárias**. Campo Grande, MS: Embrapa Gado de Corte, 2006. p. 35-65.

PUNT, W.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. **Glossary of pollen and spore terminology**. 1999. Disponível em: <Http: www.biol.ruu.nl/~palaeo/glossary/glos-int.htm>. Acesso em: 20 jan. 2008.

VALLE, D.B. do. A citogenética e o melhoramento de *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO DE ATUALIZAÇÃO E MELHORAMENTO DE PLANTAS, 11., 2007, Lavras. **Anais...** Lavras, 2007. p. 84-103.

CAPÍTULO 4

ANATOMIA FOLIAR DE *Brachiaria*

1 RESUMO

GOULART, Jeanne de Cássia. Anatomia foliar de *Brachiaria*. In: **Citogenética e anatomia foliar de acessos e progênies de *Brachiaria*** . 2008. cap. 4, p. 48-66. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG *

A qualidade da forrageira pode, também, estar diretamente relacionada com a sua capacidade fotossintética. No entanto, a proporção de tecidos tem sido a característica anatômica usada como indicativo do valor qualitativo das forrageiras. Neste contexto, este trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a espessura das epidermes e dos mesofilos de acessos e progênies de *Brachiaria* relacionada com a digestibilidade, assim como determinar a densidade estomática e o diâmetro equatorial e polar dos estômatos. As progênies de 4, 20 e 83, e os acessos R02, R04 e R11, por apresentarem maior densidade estomática, apresentam maior potencial para a produção de sementes e de massa verde. Todos os acessos de *Brachiaria* apresentaram maior média para espessura das epidermes da face adaxial e abaxial e do mesofilo que as progênies. Assim, os genótipos que apresentam menor espessura para epiderme e mesofilo apresentam maior potencial para digestibilidade.

* Comitê Orientador: Lisete Chamma Davide – UFLA (Orientadora).

2 ABSTRACT

GOULART, Jeanne de Cássia. Anatomy of leaf in Brachiaria In: **Cytogenetic and anatomy leaf of accessions and progenies of *Brachiaria***. 2008. chap. 3, p. 48-66. Dissertation (Master's degree in Genetics and Plant Breeding) – Federal University of Lavras, Lavras, MG.

Forage quality can be directly related to photosynthetic capacity. However, the proportion of leaf tissues has been used as an anatomical feature indicative of the qualitative value of fodder. The purpose of this work was to determine epidermis and mesophylls thickness of accessions and progenies of *Brachiaria* related to the digestibility, as well as determine the stomatal density and the polar and equatorial diameter of the stomata. The progenies 4, 20 and 83, and the accessions R02 and R04 and R11, presented bigger stomatal density, and have higher potential for seed and green mass production. All accessions of *Brachiaria* had bigger average for thickness of the epidermis of the adaxial and abaxial and mesophyll than the progenies. The genotypes wich present the epidermis and mesophyll least thick to show greatest potential for digestibility.

* Guidance committee: Lisete Chamma Davide - UFLA (Adviser), Fausto de Souza Sobrinho (co-orientador) (Co-Adviser).

3 INTRODUÇÃO

Aproximadamente 100 milhões, dos 180 milhões de hectares das pastagens brasileiras, são ocupados por forrageiras cultivadas e o restante é constituído de pastagens naturais compostas por espécies nativas ou exóticas (Pereira et al., 2001). Estima-se que mais de 80% dessa área utilize cultivares dos gêneros *Panicum* e *Brachiaria* (Fernandes et al., 2000).

O ambiente e a maturidade fisiológica podem influenciar significativamente a digestibilidade das plantas forrageiras. O maior efeito ambiental é provocado pela temperatura sob a qual a planta se desenvolve, pois altas temperaturas de crescimento aceleram o espessamento da parede celular e induzem à lignificação, sem causar mudanças marcantes na anatomia foliar (Akin et al., 1987). Contudo, a maturidade pode provocar, além da lignificação da parede celular, aumento na proporção dos tecidos lignificados (Paciullo et al., 2002). Segundo Akin e Burdick (1973), os sítios de lignificação podem ser mais importantes que a quantidade de lignina presente na planta.

O valor nutritivo da forragem, tradicionalmente, é avaliado por meio de análises químico-bromatológicas. Recentemente, têm-se aliado às avaliações do valor nutritivo estudos do arranjo e da proporção dos tecidos para elucidar o potencial de digestibilidade das plantas (Alves de Brito et al., 2004).

Em ruminantes, a taxa de degradação da parede celular das forragens é determinada, em grande parte, pela capacidade da biota ruminal de transpor barreiras anatômicas. Desse modo, a quantificação dos tecidos presentes nas forrageiras pode auxiliar a compreender melhor a qualidade nutricional da forragem (Alves de Brito et al., 1997).

Em parte, as variações na digestibilidade entre gramíneas podem ser explicadas pelas diferenças na proporção de tecidos, que degradam de forma

diferenciada em virtude dessa composição química, da espessura da parede celular e da compactação das células (Paciullo, 2002).

A epiderme e a bainha parenquimática do feixe de lâminas foliares de gramíneas tropicais são tecidos de lenta digestão ou parcialmente digestíveis. Normalmente, as células do mesófilo, assim como as do floema, são de rápida digestão, por possuírem parede celular delgada e não constituem barreira física, enquanto esclerênquima e xilema são de baixa digestão e indigestíveis, respectivamente (Akin, 1989, 1993).

Além da proporção dos tecidos, a qualidade da forrageira também está diretamente relacionada com sua capacidade fotossintética. Para isso, os estômatos são, entre outras, uma das mais importantes características anatômicas foliares a serem estudadas. De acordo com Stenglein et al. (2005), a densidade, o tamanho e a posição dos estômatos na folha influenciam o processo de trocas gasosas e estão de acordo com a proporção de transpiração da planta, sendo a densidade também influenciada pelas condições ambientais de estresse.

Neste contexto, o trabalho foi realizado com o objetivo de determinar a espessura das epidermes e do mesófilo de acessos e de progênies de *Brachiaria*, relacionada com a digestibilidade, assim como determinar o diâmetro polar e equatorial dos estômatos e a densidade estomática.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Material botânico

As estacas de acessos (R11, R02, R03, R04, R10, 86) e progênies (4, 10, 20, 83) de *Brachiaria* do programa de melhoramento de *Brachiaria ruziziensis* da Embrapa Gado de Leite, localizada em Juiz de Fora, MG, foram coletadas no campo experimental e trazidas para casa de vegetação da Universidade Federal de Lavras (UFLA), em Lavras, MG, onde foram plantadas em vasos de 8 litros com substrato plantmax.

Os genótipos de *Brachiaria* foram avaliados para densidade estomática, espessura das epidermes e do mesofilo. Para a coleta das folhas, os vasos foram mantidos nas mesmas condições ambientais. A coleta foi realizada nas folhas apicais, na porção mediana, 20 dias após o corte. Os materiais coletados foram fixados em álcool 70% (Jensen, 1962) por, no mínimo, 72 horas.

4.2 Cortes transversais e paradérmicos

As porções de folhas fixadas passaram por 2 banhos em água destilada, de 5 minutos cada. Foram efetuados cortes transversais e paradérmicos das faces adaxial e abaxial, à mão livre, com o auxílio de lâmina de barbear e inclusão do material em isopor. Adaptando a técnica de Kraus e Arduin (1997), as secções transversais e as paradérmicas foram clarificadas hipoclorito de sódio 100%, por 3 minutos. Uma mistura de azul de astra e safranina foi utilizada para a coloração das secções transversais. As secções paradérmicas foram coradas com uma solução de safranina 1%. Glicerina 50% foi utilizada na montagem das lâminas.

Para as secções transversais foram determinadas a espessura da epiderme adaxial e abaxial e a espessura do mesofilo. Para as secções paradérmicas foram determinadas a densidade e o índice estomático de cada face

e as medições do diâmetro polar e equatorial dos estômatos. O índice estomático foi calculado segundo a fórmula:

$$IE = N \text{ de estômatos} / (n \text{ de estômato} + n \text{ de células epidérmicas}) \times 100.$$

Para a determinação da densidade e do índice estomático foram utilizadas 5 lâminas de cada tratamento (progênies e acessos), 4 pontos por lâminas, num total de 20 repetições por tratamento.

Para as medições do diâmetro polar e equatorial dos estômatos das faces adaxial e abaxial, a espessura das epidermes adaxial e abaxial e a espessura do mesofilo, foram utilizadas 5 lâminas para cada tratamento (progênies e acessos), sendo medidos 5 pontos por lâminas, num total de 25 repetições por tratamento.

As imagens foram analisadas no software Sigma Scam Pro 5, no Laboratório de Citogenética da UFLA e os resultados foram submetidos ao teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Pelos dados da Tabela 7 verifica-se que os acessos e as progênies de *Brachiaria* diferiram significativamente, a 5% de probabilidade, para todas as variáveis analisadas.

Pela tabela 8 é possível verificar que a progênie 20 e os acessos 86 e R10 apresentam folhas anfi-hipoestomática, enquanto as demais progênies e acessos apresentam folhas anfi-hiperestomáticas.

A análise da variável IE AD (índice estomático da face adaxial) e da IE AB (índice estomático da face abaxial) mostra que as progênies apresentam menor média, enquanto os acessos, as maiores médias.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Cortes paradérmicos

Pela figura 4 pode-se observar que ambas as espécies apresentam folhas anfiestomáticas, com estômatos do tipo tetracítico, se dispondo em fileiras paralelas ao eixo maior da folha.

Pelos dados da Tabela 7 verifica-se que os acessos e as progênies de *Brachiaria* diferiram significativamente, a 5% de probabilidade, para todas as variáveis analisadas.

Pela tabela 8 é possível verificar que a progênie 20 e os acessos 86 e R10 apresentam folhas anfi-hipoestomática, enquanto as demais progênies e acessos apresentam folhas anfi-epiestomáticas.

A análise da variável IE AD (índice estomático da face adaxial) e da IE AB (índice estomático da face abaxial) mostra que as progênies apresentam menor média, enquanto os acessos, as maiores médias.

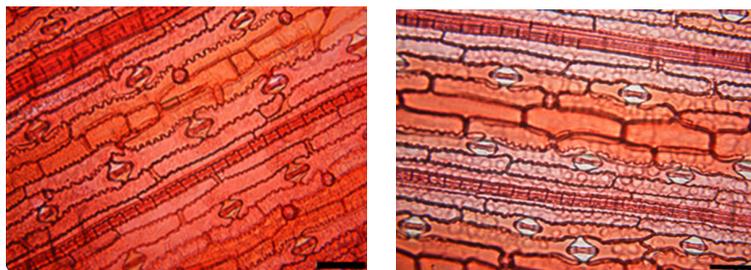


FIGURA 4 Secções paradérmicas das folhas de *Brachiaria*. A - face abaxial; B - face adaxial. As barras nas figuras correspondem a 50 micrômetros.

Segundo Larcher (1986), os estômatos são estruturas importantes para a produção vegetal, pois representam a porta de entrada e de escoamento dos gases para a fotossíntese. Em uma única planta, as folhas variam quanto ao número de estômatos, dependendo de sua forma e posição no ramo. Além disso, o comportamento dos estômatos tem relação direta com as condições abióticas.

TABELA 7 - Resumos das análises de variância para as características n. est./mm² ad (densidade estomática da face adaxial), n. est./mm² ab (densidade estomática da face abaxial), n. cel. ep./mm² ad (densidade de células epidérmicas da face adaxial), n. cel. ep./ mm² ab (densidade de células epidérmicas da face abaxial), IE AD (índice estomático da face adaxial) IE AB (índice estomático da face abaxial). UFLA, Lavras, MG, 2008.

QM							
FV	GL	n. est./ mm ² ad	n. est./ mm ² ab	n. cel. ep./ mm ² ad	n. cel. ep./ mm ² ab	IE AD	IE AB
Genótipo	9	25351,61*	27090,98*	2605091,58*	3848308,40*	346,35*	838,54*
Erro	172	1,247,93	836,66	9,001,12	7,309,53	3,72	5,25
Média		315,91	298,61	1,276,05	1,023,42	20,62	24,42
CV%		11,18	9,69	7,43	8,35	9,36	9,39

* significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F, CV%: porcentagem do coeficiente de variação

TABELA 8 Médias das variáveis analisadas n. est./mm² ad (densidade estomática da face adaxial), n. est./mm² ab (densidade estomática da face abaxial), n. cel. ep./mm² ad (densidade de células epidérmicas da face adaxial), n. cel. ep./mm² ab (densidade de células epidérmicas da face abaxial), IE AD (índice estomático da face adaxial) IE AB (índice estomático da face abaxial) obtidas de contagens das secções paradérmicas das folhas de Brachiaria. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Genótipos	n. est./ mm² ad	n. est./ mm² ab	n. cel. ep./ mm² ad	n. cel. ep./ mm² ab	IE AD	IE AB
4	332,30 c	290,75 c	1778,90 h	1438,55 e	15,70 a	16,85 b
10	286,40 b	274,55 b	1462,35 f	1132,20 d	16,35 a	19,50 d
20	327,05 c	366,35 e	1659,80 g	1713,85 f	16,30 a	17,70 c
83	371,50 d	305,65 c	1685,75 g	1698,30 f	18,00 b	15,30 a
R 11	322,65 c	240,00 a	1215,85 d	700,75 b	21,00 c	25,55 e
86	259,15 a	347,75 d	1025,60 c	813,95 c	20,20 c	30,10 f
R 02	352,30 d	296,80 c	1278,60 e	728,25 b	21,60 c	28,95 f
R 03	301,10 b	277,50 b	994,50 c	685,20 b	23,35 d	28,85 f
R 04	334,40 c	310,05 c	942,05 b	616,45 a	26,20 e	33,40 g
R 10	272,30 a	276,75 b	717,10 a	706,75 b	27,55 f	28,05 f

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Como, para este trabalho, as condições ambientais foram as mesmas e a posição das folhas foi padronizada para todos os acessos e progênies, as diferenças na densidade e nos índices estomáticos não podem ser explicados pela variação nas condições abióticas.

Maior número de estômatos por área ajudam a explicar as maiores taxas de condutância estomática, transpiratória e fotossintética das plantas (Rodella et al., 1982). Logo, as progênies de 4, 20 e 83, e os acessos R02 e R04 e R11, por apresentarem maior densidade estomática, têm maior atividade transpiratória e fotossintética, apresentando maior potencial para a produção de sementes e massa verde.

O índice estomático é um parâmetro constante para cada espécie (Cutter, 1986), tendo, portanto, maior relevância taxonômica. Porém, com bases nos resultados apresentados, o índice estomático não foi um parâmetro discriminatório para as espécies de *Brachiaria*, visto que R11, acesso identificado como *B. ruziziensis*, se enquadrava nas características dos acessos identificados como *B. decumbens*.

Pelos dados da Tabela 9 podem-se verificar diferenças significativas, a 5% de probabilidade, para os tamanhos dos estômatos, em todos os genótipos de *Brachiaria* estudados.

O tamanho dos estômatos da face adaxial, os genótipos R04, R03, R02 e R11 se apresentaram com maior média e os genótipos 10, 20 e 86 com menor média (Tabela 10). Já para o tamanho dos estômatos da face abaxial, a maior média foi encontrada nos genótipos 4 e R03, enquanto a menor foi encontrada nos genótipos 10, 20, R11 e 86.

Assim, os menores valores para tamanho dos estômatos foram encontrados nos genótipos 4, R02, R03, R04 e R10. Esses valores explicam a maior densidade estomática na progênie 4 e nos acessos R02 e R04.

TABELA 9 Resumos das análises de variância para as características EQ AB (diâmetro equatorial da face adaxial), PO AB (diâmetro polar da face abaxial), EQ AD (diâmetro equatorial da face adaxial), PO AD (diâmetro polar da face adaxial), TAM AB (tamanho do estômato da face abaxial), TAM AD (tamanho do estômato da face adaxial) obtidas das mensurações das secções paradérmicas das folhas de *Brachiaria*. UFLA, Lavras, MG, 2008.

FV	QM						
	GL	EQ AB	PO AB	EQ AD	PO AD	TAM AB	TAM AD
Genótipo	9	10072,19*	4119,42*	7598,53*	3437,15*	0,031*	0,15*
Erro	216	33,12	23,14	48,79	19,75	0,005	0,005
Média		63,1	39,51	56,52	33,75	0,62	0,6
CV%		9,12	12,18	12,36	13,17	10,82	11,57

* significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F, CV%: porcentagem do coeficiente de variação

TABELA 10 Médias das variáveis analisadas EQ AB (diâmetro equatorial da face adaxial), PO AB (diâmetro polar da face abaxial), EQ AD (diâmetro equatorial da face adaxial), PO AD (diâmetro polar da face adaxial), TAM AB (tamanho do estômato da face abaxial), TAM AD (tamanho do estômato da face adaxial) obtidas das mensurações das secções paradérmicas das folhas de *Brachiaria*. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Genótipos	EQAB	POAB	EQAD	POAD	TAM AB	TAM AD
4	29,84 f	19,80 f	28,22 f	16,82 g	0,66 a	0,60 b
10	56,56 d	33,15 e	60,27 d	24,06 f	0,58 c	0,40 c
20	30,08 f	17,28 f	29,05 f	16,45 g	0,58 c	0,56 c
83	53,04 e	34,25 e	59,78 d	35,37 d	0,63 b	0,61 b
R 11	86,72 a	52,14 a	57,91 d	37,98 c	0,59 c	0,64 a
86	72,17 c	43,19 d	72,94 b	42,04 b	0,60 c	0,56 c
R 02	72,96 c	48,57 b	43,66 e	28,058 e	0,65 b	0,66 a
R 03	75,69 b	51,29 a	65,30 c	42,43 b	0,69 a	0,68 a
R 04	75,23 b	46,39 c	70,21 b	46,38 a	0,62 b	0,65 a
R 10	78,66 b	49,04 b	77,82 a	47,94 a	0,62 b	0,60 b

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

5.2 Cortes transversais

Na Figura 5, observam-se células buliformes dispostas nas regiões intercostais maiores que as células epidérmicas ordinárias. Tais células estão relacionadas tanto com o enrolamento da folha, em situações de déficit hídrico, como com a expansão foliar a partir da gema (Fahn, 1974). Os mesófilos de todos os acessos e as progênies analisados são compostos de parênquima clorofiliano, com poucos espaços intercelulares, não havendo diferenciação entre os parênquimas paliçádico e lacunoso, constituindo, assim, um mesófilo homogêneo. A anatomia Kranz, de uma camada de célula, permite inferir que esses acessos de gramínea tropical possuem via fotossintética C4.

Os resultados das análises dos cortes transversais nas folhas de *Brachiaria* estão apresentados nas Tabelas 11 e 12.

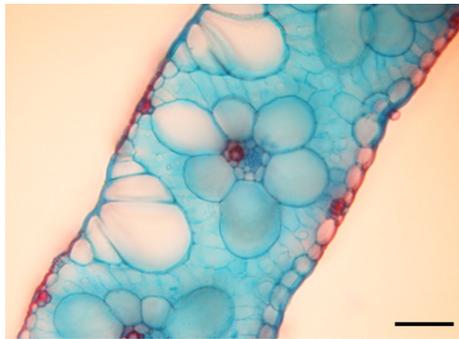


FIGURA 5 Fotomicrografia de seções transversais do terço médio foliar de plantas jovens de *Brachiaria*. A barra corresponde a 50 micrômetros.

TABELA 11 Resumos das análises de variância para as características EP AB (epiderme abaxial), EP AD (epiderme adaxial) e ME (mesofilo) obtidas das mensurações das secções paradérmicas das folhas de *Brachiaria*. UFLA, Lavras, MG, 2008.

FV	GL	QM		
		EP AB	EP AD	ME
Genótipo	9	1431,61*	1211,90*	204844,38*
Erro	216	6,80	5,37	1,235,55
Média		22,66	19,60	313,46
CV%		11,51	11,83	11,21

* significativo, a 5% de probabilidade, pelo teste F, CV%: porcentagem do coeficiente de variação

Como se pode observar pelos dados da Tabela 14, todos os acessos de *Brachiaria* apresentaram maior média para espessura das epidermes da face adaxial e abaxial e do mesofilo que as progênies.

A menor média da espessura da epiderme e mesofilo das progênies pode estar relacionada ao processo de seleção realizado, uma vez que as condições ambientais para todos os genótipos foram iguais.

Alves de Brito et al. (2004) estudaram duas espécies de *Brachiaria*, *B. brizantha* e *B. humidicola*, e analisaram a área de tecido vascular lignificado em três porções (limbo, bainha e colmo). *B. brizantha* apresentou maior área de desse tecido nas três frações analisadas em relação à *B. humidicola*, evidenciando as diferenças encontradas no padrão de lignificação nas espécies do gênero *Brachiaria*.

TABELA 12 Médias das variáveis analisadas Ep aB (epiderme abaxial), Ep ad (epiderme adaxial) e ME (mesofilo) obtidas das mensurações das secções paradérmicas das folhas de Brachiaria. UFLA, Lavras, MG, 2008.

Genótipos	Ep ab	Ep ad	ME
4	12,60 e	9,72 e	230,60 f
10	11,92 e	10,16 e	204,84 g
20	12,76 e	10,24 e	168,12 h
83	20,36 d	18,16 d	290,60 e
R 11	30,64 a	26,56 a	456,40 a
86	27,72 b	24,64 b	329,56 d
R 02	26,44 c	23,48 c	399,88 b
R 03	29,52 a	25,36 b	367,56 c
R 04	28,08 b	24,80 b	359,92 c
R 10	26,60 c	22,88 c	327,20 d

*Médias seguidas pela mesma letra, na coluna, pertencem ao mesmo agrupamento, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.

Características químicas da planta forrageira, como elevadas concentrações de lignina na parede celular, comprometem a digestibilidade da matéria seca e a alta concentração de parede celular limita o consumo pelos bovinos. Apesar de representar a maior parte da matéria seca das forrageiras e constituir a maior fonte de energia para ruminantes sob regime de pastejo, frequentemente, menos de 50% da parede é prontamente digestível e utilizada pelo animal (Paciulo, 2002). Alguns autores têm analisado a hipótese das limitações físicas à digestão. Neste caso, a anatomia da planta, especificamente o tipo de arranjo das células nos tecidos, a proporção de tecido e a espessura da parede celular desempenham importante papel sobre a digestão de gramíneas forrageiras,

tanto quanto ou até mais que a composição da parede celular (Wilson & Mertens, 1995).

Assim, os genótipos que apresentam menos espessura para epiderme e mesofilo apresentam maior potencial para digestibilidade. Associados com maior densidade e índice estomático que estão associados o genótipo se apresenta muito promissor. É o caso da progênie 4, que apresenta potencial para a produção de sementes e de matéria verde , além de maior digestibilidade, mais que as outras progênies e acessos, sendo um genótipo em potencial.

6 CONCLUSÕES

As progênies de 4, 20 e 83, e os acessos R02 e R04 e R11 apresentam maior potencial para a produção de sementes e de massa verde.

As progênies com menor média para epiderme adaxial e abaxial e mesofilo são as que apresentam melhor potencial para digestibilidade.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIN, D.E.; BURDICK, D. Microanatomical differences of warmseason grasses revealed by light and electron microscopy. **Agronomy Journal**, Madison, v. 65, p. 533-537, 1973.

AKIN, D.E.; FALES, S.L.; RIGSBY, L.L.; SNOOKL, M.E. Temperature effects on leaf anatomy, phenolic acids, and tissue digestibility in tall fescue. **Agronomy Journal**, Madison, v. 79, p. 271-275, 1987.

AKIN, D.E. Histological and physical factors affecting digestibility of forages. **Agronomy Journal**, Madison, v. 81, p. 17-25, 1989.

AKIN, D.E. Perspectives of cell wall biodegradation: session synopsis. In: JUNG, H.G.; BUXTON, D.R.; HATFIELD, R.D. (Ed.). **Forage cell wall structure and digestibility**. Madison: ASA-CSSA-SSSA, 1993. p. 73-82.

ALVES DE BRITO, C.J.F.; ALQUINI, Y.; RODELLA, R.A. Perfil anatômico dos tecidos de três ecotipos de capim elefante (*Pennisetum purpureum* Schum.). In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 34., 1997, Juiz de Fora. **Anais...** Juiz de Fora: Sociedade Brasileira de Zootecnia, 1997. v. 2, p. 9-11.

ALVES DE BRITO, C.J.F.; RODELLA, R.A.; DESCHAMPS, F.C. Anatomia quantitativa da folha e do colmo de *Brachiariabrizantha* (Hochst. ex A. Rich.) Stapf. e *B. humidicola* (Rendle) Schweick. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 33, n. 3, p. 519-528, 2004.

CUTTER, E.G. **Anatomia vegetal**: parte I – células e tecidos. 2. ed. São Paulo: Roca, 1986. 304 p.

FAHN, A. **Anatomia vegetal**. 2. ed. Madrid: H. Blume, 1974. 643 p.

FERNANDES, C.D.; VALÉRIO, J.R.; FERNANDES, A.T.F. Ameaças apresentadas pelo atual sistema de produção de sementes à agropecuária na transmissão de doenças e pragas. In: WORKSHOP SOBRE SEMENTES DE PLANTAS FORRAGEIRAS, 2000, Sete Lagoas-MG. **Anais...** Sete Lagoas-MG: Embrapa-Negócios Tecnológicos, 2000.

- JENSEN, W.A. **Botanical histochemistry: principles and practice**. San Francisco: W.H. Freeman, 1962. 408 p.
- KRAUS, J.E.; ARDUIM, M. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Seropédica: EDUR, 1997. 198 p.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Paulo: EPU, 1986. 297 p.
- PACIULLO, D.S.C. Características anatômicas relacionadas ao valor nutritivo de gramíneas forrageiras. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 2, p. 357-364, 2002.
- PEREIRA, A.V.; VALLE, C.B.; FERREIRA, R.P.; MILES, J.W. Melhoramento de forrageiras tropicais. In: NASS, L.L.; VALOIS, A.C.C.; MELO, I.S.; VALADARES-INGLIS, M.C. (Ed.). **Recursos genéticos e melhoramento** - plantas. Rondonópolis: Fundação MT, 2001. p. 549-601.
- RODELLA, R.A.; ISHIY, C.M.; MAIMONI-RODELLA, R.C.S.; AMARAL-JUNIOR, A. Número e distribuição dos estômatos em folhas de duas espécies de *Brachiaria*. **Poliagro**, v. 4, n. 1/2, p. 1-10, 1982.
- STENGLEIN, S.A.; ARAMBARRIA, A.M.; SEVILLANOD, M.D.C.M.; BALATTI, P.A. Leaf epidermal characters related with plant's passive resistance to pathogens vary among accessions of wild beans *Phaseolus vulgaris* var. *aborigineus* (Leguminosae–Phaseoleae). **Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 200, p. 285-295, 2005.
- WILSON, J.R.; MERTENS, D.R. Cell wall accessibility and cell structure limitations to microbial digestion of forage. **Crop Science**, Madison, v. 35, p. 251-259, 1995.