



**CITOGENÉTICA, REPRODUÇÃO E VARIABILIDADE
MORFOLÓGICA DE ESPÉCIES DE *MESOSETUM*
SECT. *BIFARIA* (HACK.) CHASE (POACEAE:
PASPALLEAE)**

**André Rodolfo de Oliveira Ribeiro
2013**



**Citogenética, reprodução e variabilidade morfológica de espécies
de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase (Poaceae: Paspaleae)**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade de Brasília (UnB), como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de mestre em Botânica.

Aluno: André Rodolfo de Oliveira Ribeiro

Orientador: Profa. Dra. Regina Célia de Oliveira - UnB

**BRASÍLIA - DF
AGOSTO/2013**

Citogenética, reprodução e variabilidade morfológica de espécies de

***Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase (Poaceae: Paspaleae)**

APROVADA EM: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Regina Célia de Oliveira, UnB
Presidente (Orientadora)

Dr. Tarciso de Sousa Filgueiras
Membro titular

Dr. Marcelo Fragomeni Simon
Membro titular

Dra. Cássia Beatriz Rodrigues Munhoz
Suplente

“A caridade é a fonte restauradora das
doenças espirituais e orgânicas.”

Aos meus queridos pais Adail Pereira

Ribeiro e Edna Maria de Oliveira.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, fonte inspiradora de todos os aprendizados. Pela confiança e oportunidade de fornecer minha singela contribuição ao progresso da ciência e da humanidade. A todos os espíritos dos planos superiores que me forneceram aprendizado.

Aos meus queridos pais Adail Pereira Ribeiro e Edna Maria de Oliveira, por me acolherem em família e pelo apoio incondicional aos meus estudos e trabalhos terrenos.

À Dra. Regina Célia de Oliveira por me acolher como aluno e aprendiz de botânica nestes sete anos de caminhada. Por me confiar, indicar e fornecer parceria com os melhores cientistas da área. Mas principalmente pela oportunidade concedida neste mestrado de aprendizados espirituais que estão além dos conhecimentos acadêmicos, os quais motivaram todo o mestrado e que seguirão comigo pra sempre.

À Dra. Marisa Toniolo Pozzobon por me acolher como aprendiz de citogenética, pela atenção e disponibilidade em todos os momentos. Por me ensinar o cuidado, disciplina, minúcia e sensibilidade na interpretação e observação dos cromossomos. Esta sensibilidade guardarei pra sempre em meus aprendizados, mesmo aqueles além da vida acadêmica.

À Dra. Ana Cláudia Guerra de Araújo pela confiança e ensinamentos sobre as etapas de reprodução. Foi muito gratificante adquirir sensibilidade na maneira como as plantas se reproduzem e entender sua relação com a citogenética e a variação morfológica das espécies.

Ao Dr. José Francisco Montenegro Valls, entusiasta incansável, motivador de várias gerações de pesquisadores e estudantes. Presente no fornecimento de bibliografias, coleta de material para análise, discussão sobre o trabalho. Sua visão sistêmica e profunda, relacionando as diferentes áreas do conhecimento são únicas e foi um prazer compartilhar da sua presença.

Às colegas de curso e amigas Priscila Alves dos Reis e Anádrria Stéphanie da Silva pelo auxílio na etapas de campo, morfologia, elaboração de pranchas e fotos, análises em MEV e discussão. Sem o apoio de vocês o trabalho não teria sido concluído.

Às amigas Daniele Wondracek e Suzi Santana pelo o apoio e auxílio nas fotos das mudas. Pela discussão e auxílio nas etapas de citogenética, fundamental ao meu aprendizado e andamento do trabalho.

À Andréa Peñaloza e Sileuza Santos pelo auxílio e estrutura do Laboratório de Citogenética da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, no qual trabalhei.

À Ana Cristina, Rosana Falcão e Cássia pelo auxílio nas análises de saco embrionário no Laboratório de Microscopia e Bioimagem da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, no qual trabalhei.

Aos técnicos do laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura da UnB pelo auxílio nas análises que realizei.

Ao aluno Mayco Werllen Sousa e técnicos do Laboratório de Anatomia Vegetal da UnB, pelo fornecimento de materiais e reagentes para algumas análises de citogenética que realizei.

A todos aqueles que contribuíram com o andamento deste trabalho.

Aos meus familiares pelo apoio e motivação sempre! Vó Aurinha, vó Raimunda, vô Domício, meus irmãos Aldo, Andréa, Aline e Suelen, tia Gorete, tia Maria Gomes, tia Evandissa, primo Ricardo, tia Adriana, primos Isaac, Bruno, Jacob, Rodolfo e Paulo Henrique, primas Carla, Daniela e Fernandinha (ah modeusu!!!), tia Ednelvia, tia Edvânia, tio Fred.

Aos meus amigos Bruna Ilha, Renata Costa, Felipe Arian, Kadja Milena, Leo Resende, Wellington Brito por todo o apoio e motivação sempre.

Resumo

O gênero *Mesosetum* Steud. compreende 25 espécies distribuídas do sul do México ao nordeste da Argentina. Apesar do vasto material examinado pelas duas últimas revisões taxonômicas, um exíguo número de exemplares era disponível para representar a amplitude morfológica em seis espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase. Em relação à citologia do gênero *Mesosetum*, as contagens cromossômicas eram restritas a 3 espécies, todas citando $2n=16$ cromossomos. O único estudo sobre megagametófito sugeriu modo de reprodução sexual em *Mesosetum*. Os objetivos da presente dissertação de mestrado foram ampliar o conhecimento morfológico, citogenético e reprodutivo em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. O exame de novas coleções revelou alguns caracteres taxonômicos não mais adequados à distinção das espécies. Entretanto, novos caracteres taxonômicos foram identificados por observações de campo, cultivo de mudas, revisão das coleções de herbário e exame das glumas e do antécio fértil em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Os estudos citogenéticos foram realizados em 10 acessos de 6 espécies, incluindo mitose e comportamento meiótico. Foram registrados números cromossômicos de $2n=8$, $2n=16$ e $2n=24$ para espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. O número cromossômico $2n=8$ foi registrado pela primeira vez em Poaceae Neotropical e tribo Paniceae *s. l.* As contagens cromossômicas com $2n=24$ também foram inéditas no gênero. Os diferentes citótipos divergiram quanto à frequência de irregularidades, sugerindo ocorrência de poliploidia no gênero *Mesosetum*. Sacos embrionários do tipo *Polygonum* foram observados, sugerindo modo de reprodução sexual em espécies de *Mesosetum* com distintos números cromossômicos.

Palavras-chave: Taxonomia, amplitude morfológica, mitose, comportamento meiótico, modo de reprodução.

Abstract

The genus *Mesosetum* Steud. comprises 25 species distributed from southern Mexico to northeastern Argentina. Although vast material was examined by the two latest taxonomic reviews, a low number of exsiccatae was available to represent the morphological amplitude in six species of *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase. In knowledge about cytogenetic for genus *Mesosetum*, the chromosome counts were restricted to three species, all citing $2n=16$ chromosomes. The only study about megagametophyte suggested sexual reproduction mode in *Mesosetum*. The aims of present dissertation were to expand the morphological, cytogenetic and reproductive knowledge in species of *Mesosetum* sect. *Bifaria*. The examination of new collections revealed some taxonomic characters inadequate to distinguish the species. However, new taxonomic characters were identified upon observations of habitat, plant cultivation, herbarium collections and examination of glumes and fertile anthoecium in scanning electron microscopy (SEM). Cytogenetic studies were performed in 10 accessions from six species, including meiotic behavior and mitosis. Chromosome numbers of $2n=8$, $2n=16$ and $2n=24$ were recorded in species of *Mesosetum* sect. *Bifaria*. Chromosome number $2n=8$ was recorded for first time in Neotropical Poaceae and Paniceae *s. l.* The chromosome counts of $2n=24$ were also unprecedented in the genus. The cytotypes differed in frequency of irregularities, suggesting occurrence of polyploidy in genus *Mesosetum*. The *Polygonum* embryo sacs were identified, suggesting sexual reproduction mode in *Mesosetum* species with distinct chromosome numbers.

Keywords: Taxonomy, morfological amplitude, mitosis, meiotic behavior, reproduction mode.

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE FIGURAS	xiv
1. INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPÍTULO 1: NOVAS OCORRÊNCIAS, CARACTERES MORFOLÓGICOS E MICROMORFOLÓGICOS EM ESPÉCIES DE <i>MESOSETUM</i> SECT. <i>BIFARIA</i> (HACK.) CHASE (POACEAE) NO BRASIL	4
1.1 INTRODUÇÃO.....	6
1.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	9
1.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
1.4 CONCLUSÃO.....	41
1.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
CAPÍTULO 2: NOVO NÚMERO CROMOSSÔMICO EM POACEAE NEOTROPICAL E PANICEAE S.L.	49
2.1 INTRODUÇÃO.....	51
2.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	54
2.3 RESULTADOS	56
2.4 DISCUSSÃO.....	65
2.5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	68
CAPÍTULO 3: NOVO NÚMERO CROMOSSÔMICO EM <i>MESOSETUM</i> STEUD. (POACEAE: PASPALLEAE).....	75
3.1 INTRODUÇÃO.....	77
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	78
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	80

3.4 DISCUSSÃO	94
3.4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

- Tabela 1.** Registro de coletas das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*, evidenciando a pequena representatividade em herbários..... 11
- Tabela 2.** Caracteres morfológicos de valor taxonômico das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase..... 13
- Tabela 3.** Pilosidade na gluma superior em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase 19
- Tabela 4.** Diferenças observadas do lema fértil de espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* sob Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) 36

CAPÍTULO 2

- Tabela 1.** Contagens cromossômicas em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*, número do coletor e local de coleta. 57
- Tabela 2.** Comportamento meiótico de *Mesosetum ansatum*, RCO 2766..... 59
- Tabela 3.** Comportamento meiótico em *Mesosetum longiaristatum*, RCO 2816.....
..... 61
- Tabela 4.** Número e tipo de células observadas em cada saco embrionário de *Mesosetum ansatum*, RCO 2766 62
- Tabela 5.** Espécies de Poaceae com $2n=8$ cromossomos 66

CAPÍTULO 3

- Tabela 1.** Contagens cromossômicas em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*, coletor e número do *voucher* correspondente e local de coleta..... 80
- Tabela 2.** Comportamento meiótico em *Mesosetum bifarium*, ASS 235 85
- Tabela 3.** Comportamento meiótico em *Mesosetum chaseae*, RCO 2772 85

Tabela 4. Comportamento meiótico em *Mesosetum elytrochaetum*, RCO 2722
..... 86

Tabela 5. Número e tipo de células observadas em cada saco embrionário de *Mesosetum elytrochaetum*, RCO 2722 92

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Variação da pilosidade no dorso da gluma superior visto em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)	21
Figura 2. Variação morfológica das espiguetas de <i>Mesosetum</i> sect. <i>Bifaria</i>	23
Figura 3. Cariopses das espécies de <i>Mesosetum</i> sect. <i>Bifaria</i>	24
Figura 4. Estolhos observados em espécies de <i>Mesosetum</i> sect. <i>Bifaria</i>	26
Figura 5. Coloração das anteras em antese em espécies de <i>Mesosetum</i> sect. <i>Bifaria</i>	27
Figura 6 Variação morfológica da ráquis em espécies de <i>Mesosetum</i> sect. <i>Bifaria</i>	28
Figura 7. Estômatos vistos na margem do lema fértil em espécies de <i>Mesosetum</i> sect. <i>Bifaria</i>	35
Figura 8. Variação observada para tampa de germinação em espécies de <i>Mesosetum</i> sect. <i>Bifaria</i>	37
Figura 9. Variação na superfície do terço apical do lema fértil em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).	38

CAPÍTULO 2

Figura 1. Contagens cromossômicas em espécies de <i>Mesosetum</i> sect. <i>Bifaria</i> e sua respectiva morfologia	58
Figura 2. Comportamento meiótico de <i>Mesosetum ansatum</i> , RCO 2766.	60
Figura 3. Comportamento meiótico de <i>Mesosetum longiaristatum</i> , RCO 2816.	62
Figura 4. Micrografia de óvulo clareado, mostrando o saco embrionário de <i>Mesosetum ansatum</i> , RCO 2766	64

CAPÍTULO 3

Figura 1. Contagens cromossômicas em espécies de <i>Mesosetum</i> sect. <i>Bifaria</i> e sua respectiva morfologia	82
Figura 2. Contagem cromossômica para <i>Mesosetum longiaristatum</i>	83
Figura 3. Comportamento em meiose I para <i>Mesosetum bifarium</i> , ASS 235	87
Figura 4. Comportamento em telófase I e meiose II para <i>Mesosetum bifarium</i> , ASS 235	88
Figura 5. Comportamento em meiose I para <i>Mesosetum chaseae</i> , RCO 2772	89
Figura 6. Comportamento em meiose II para <i>Mesosetum chaseae</i> , RCO 2772.....	90
Figura 7. Comportamento meiótico de <i>Mesosetum elytrochaetum</i> , RCO 2722.....	91
Figura 8. Micrografia de óvulo clareado, mostrando o saco embrionário de <i>Mesosetum elytrochaetum</i> , RCO 2722	93

INTRODUÇÃO GERAL

Mesosetum Steud. é um gênero americano que compreende 25 espécies com distribuição desde o sul do México ao nordeste da Argentina (Filgueiras 1989). O Brasil é o centro de diversidade do gênero com 20 espécies (Filgueiras 1989). A lista recente de Filgueiras *et al.* (2012) não incluiu *M. sclerochloa* (Trin.) Hitchc., que está documentada nos trabalhos anteriores de Filgueiras (1986, 1989) e Valls (2009).

Paniceae *s.l.* é parafilética formando os clados Paspaleae com $x=10$, que é constituído por espécies Americanas e Paniceae *s.s.*, com $x=9$ e distribuição Pantropical (Morrone *et al.* 2012). Nesta filogenia (Morrone *et al.* 2012), *Mesosetum* é relacionado à tribo Paspaleae e subtribo Arthropogoninae, compondo um clado com *Keratochlaena rigidifolia* (Filg., Morrone & Zuloaga) Morrone & Zuloaga e *Tatianyx arnacites* (Trin.) Zuloaga & Soderstr. Este clado é suportado por uma sinapomorfia morfológica que é o hilo linear, porém este caráter é homoplásico, já que ocorre em outros gêneros.

Mesosetum é reconhecido morfológicamente pelas inflorescências com um ramo unilateral espiciforme, espiguetas com a primeira gluma adaxial à ráquis e cariopse com hilo linear (Filgueiras 1986, 1989). Pelo potencial forrageiro que apresentam, há espécies que já são objeto de estudo nos centros de pesquisa Agropecuária (Allem & Valls 1987, Filgueiras 1989, Santos *et al.* 2002, Silva 2008).

A primeira revisão para *Mesosetum* foi feita por Swallen (1937), que considerou 33 espécies no gênero. Swallen (1937) baseou seu estudo em grande número de coletas pelo Brasil e propôs a subdivisão de *Mesosetum* em seis seções (*Annua* Swallen, *Bifaria* (Hack.) Chase, *Fulva* Swallen, *Loliiformia* Swallen, *Penicillata* Swallen e *Sclerochloae* Swallen) e mais um conjunto de sete espécies denominado “ungrouped species”.

Filgueiras (1986) revisou o gênero, aceitou quatro das seções propostas anteriormente por Swallen (1937) (*Bifaria*, *Loliiformia*, *Penicillata* e *Sclerochloae*), fundiu a seção *Annua*

com *Loliiformia* e alterou o nome da seção *Fulva* para *Mesosetum*, além de ter distribuído as espécies não agrupadas entre as seções.

Filgueiras (1986) listou 43 binômios classificados em 25 espécies as quais foram detalhadamente descritas. No entanto, para a seção *Bifaria*, Filgueiras disponia, à época, de uma pequena quantidade de exemplares de herbário e as descrições das espécies que compõe o grupo, provavelmente, subestimam a amplitude morfológica de suas populações.

Swallen (1937) caracterizou a seção *Bifaria* pela presença de arista entre os lobos localizados no ápice da primeira gluma, aceitando quatro espécies. Filgueiras (1986) ampliou este conceito englobando espécies com raque alada. Das sete espécies aceitas por Filgueiras (1986) na seção *Bifaria*, apenas uma espécie, *M. chaseae* Lucas, não é endêmica do Brasil, ocorrendo também na América Central e outros países do norte da América do Sul. Todas as espécies de *Mesosetum* seção *Bifaria*, ocorrem no Centro-Oeste exceto, *M. compressum* Swallen, que ocorre em Pernambuco e no Pará.

Várias espécies de *Mesosetum* seção *Bifaria* à época da revisão taxonômica feita por Filgueiras (1986) estavam representadas por poucos espécimens de herbário. Para as espécies *M. bifarium* (Hack.) Chase e *M. longiaristatum* Filg. apenas o material tipo era conhecido. A descrição de *M. alatum* Filg. foi elaborada pela análise de duas coletas. *Mesosetum ansatum* (Trin.) Kuhl., foi estudada com base em nove registros de coleta, porém todos concentrados no estado do Mato Grosso. A descrição da amplitude morfológica de *M. compressum* Swallen foi baseada em 15 coletas, todas provenientes de uma mesma expedição entre 4 e 9 de abril de 1974, no município de Marabá-PA, além do tipo. *Mesosetum elytrochaetum* (Hack.) Swallen foi descrita com base em oito coletas.

Relativo à citologia e reprodução das espécies do gênero *Mesosetum*, a desinformação é quase generalizada. Na seção *Bifaria* há informação para somente *M. chaseae* (Silva *et al.* 2012). Estudos citológicos e do modo de reprodução podem fornecer parâmetros à taxonomia,

promover uma delimitação mais precisa entre as espécies, prover subsídios para uma filogenia mais robusta do gênero e auxiliar na conservação de táxons, especialmente os de distribuição mais restrita.

Partindo das premissas de que as espécies da seção *Bifaria* de *Mesosetum* possuem distribuição concentrada na região Centro-Oeste e, mesmo assim, são pouco conhecidas e com táxons considerados raros e/ou ameaçados por causa da pequena representatividade nos herbários, os objetivos do presente trabalho são ampliar o conhecimento da distribuição geográfica e da variabilidade morfológica das espécies pertencentes à seção *Bifaria* e fornecer dados citológicos e reprodutivos que subsidiem a taxonomia, a conservação e uso em melhoramento. Para tanto, foi feita uma ampla revisão de herbários, várias expedições foram realizadas e o material coletado vem sendo cultivado em telado para as análises citológicas, reprodutivas e morfológicas.

O trabalho é apresentado na forma de três capítulos. O primeiro abordará a variabilidade morfológica das espécies de *Mesosetum* seção *Bifaria*, comentários taxonômicos e distribuição geográfica das espécies. O segundo e o terceiro versam sobre citologia e reprodução.

Capítulo 1

Novas ocorrências, caracteres morfológicos e micromorfológicos em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase (Poaceae) no Brasil

Capítulo 1 – Novas ocorrências, caracteres morfológicos e micromorfológicos em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase (Poaceae) no Brasil

RESUMO: O gênero *Mesosetum* Steud. possui 25 espécies distribuídas do sul do México ao nordeste da Argentina. Apesar do vasto material examinado pelas duas últimas revisões taxonômicas, um exíguo número de exemplares era disponível para representar a amplitude morfológica em seis espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase. O exame de novas coleções revelou alguns caracteres taxonômicos não mais adequados à distinção das espécies. Entretanto, novos caracteres taxonômicos foram identificados por observações de campo, cultivo de mudas, revisão das coleções de herbário e exame das glumas e do antécio fértil em microscopia eletrônica de varredura (MEV). O presente trabalho fornece chave para identificação, tabelas e fotos representando a amplitude morfológica das espécies da seção *Bifaria*.

Palavras-chave: Taxonomia, amplitude morfológica, antécio fértil

ABSTRACT: The genus *Mesosetum* Steud. comprises 25 species distributed from southern Mexico to northeastern Argentina. Although vast material was examined by the two latest taxonomic reviews, a low number of exsiccatae was available to represent the morphological amplitude in six species of *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase. The examination of new collections revealed some taxonomic characters inadequate to distinguish the species. However, new taxonomic characters were identified upon observations of habitat, plant cultivation, herbarium collections and examination of glumes and fertile anthercium in scanning electron microscopy (SEM). This work provides an identification key, tables and photos representing the morphological amplitude of species of the section *Bifaria*.

Keywords: Taxonomy, morphological amplitude, fertile anthercium

1.1 - INTRODUÇÃO

Mesosetum Steud. é um gênero americano que compreende 25 espécies com distribuição desde o sul do México ao nordeste da Argentina (Filgueiras 1989). O Brasil é o centro de diversidade do gênero, com 20 espécies (Filgueiras 1989). A lista recente de Filgueiras *et al.* (2012) não incluiu *M. sclerochloa* (Trin.) Hitchc., citando 19 espécies. Entretanto, esta espécie possui *vouchers* de herbário coletados no Brasil, documentados por Filgueiras (1986, 1989) e Valls *et al.* (2009), além de espécimes recentes coletados por outros pesquisadores.

O gênero é reconhecido pelas inflorescências com um ramo unilateral espiciforme, espiguetas com a primeira gluma adaxial à ráquis e cariopse com hilo linear (Filgueiras 1986, 1989). Várias espécies possuem potencial forrageiro e já são objeto de estudo nos centros de pesquisa na Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) no Distrito Federal e no Mato Grosso do Sul, Brasil (Allem & Valls 1987, Filgueiras 1989, Santos *et al.* 2002, Silva 2008).

A seção *Bifaria* (Hack.) Chase descrita por Filgueiras (1986) possui sete espécies e é caracterizada pela ráquis alada, primeira gluma aristada ou mucronada e pálea inferior bem desenvolvida. O centro de diversidade de *Bifaria* está localizado no Brasil Central (Filgueiras 1989).

Do ponto de vista gradista, Filgueiras (1986) trata *Bifaria* como a seção mais “evoluída”, considerando como caracteres especializados as aristas longas, a ráquis alada e ciclo de vida anual. *Mesosetum longiaristatum* Filg. é considerada a espécie mais “evoluída”. Na base do grado, está *M. chaseae* Luces, espécie altamente polimórfica, possivelmente em pleno processo de especiação e provável ancestral comum das demais espécies de *Bifaria*. O grupo formado por *M. alatum* Filg., *M. bifarium* (Hack.) Chase, *M. compressum* Swallen e *M.*

longiaristatum Filg. apresenta estreita relação morfológica (Filgueiras 1986), necessitando de mais estudos para se compreender, com clareza, as interrelações entre as mesmas.

A primeira revisão de *Mesosetum* feita por Swallen (1937) incluiu 33 espécies. O gênero foi subdividido em seis seções e sete espécies não agrupadas, denominadas “ungrouped species”. A seção *Bifaria* foi descrita com base em quatro espécies, todas classificadas como perenes: *M. bifarium*, *M. compressum*, *M. caudiculatum* (Hack.) Swallen e *M. elytrochaetum* (Hack.) Swallen. A circunscrição morfológica de *Bifaria* proposta por Swallen (1937) caracterizou a seção pela presença de arista entre os lobos localizados no ápice da primeira gluma. Assim, *M. ansatum* (Trin.) Kuhl. não foi considerada como pertencente a esta seção, sendo relacionada à “ungroup species”.

Apesar de Swallen (1937) ter baseado seu estudo em várias excursões pelo Brasil, o trabalho é limitado por fornecer pouco ou nenhum comentário sobre o comportamento das espécies em seu hábitat natural e a variabilidade morfológica das espécies, valiosos para identificação de táxons.

A segunda e última revisão para *Mesosetum* feita por Filgueiras (1986, 1989) aceitou 25 espécies no gênero. Para a seção *Bifaria*, três novas espécies foram incluídas: *M. chaseae*, *M. alatum* e *M. longiaristatum*. *Mesosetum ansatum*, classificada como “ungrouped species” por Swallen (1937), também foi incluída por Filgueiras (1986) em *Bifaria*. *Mesosetum caudiculatum* foi sinonimizado a *M. bifarium*. Os dois novos táxons, *M. cardonum* descrito por Luces de Febres (1953) e *M. stoloniferum*, descrito por Swallen (1950), foram tratados como sinônimos de *M. chaseae*. A partir destas modificações, a seção *Bifaria* foi circunscrita com sete espécies.

A caracterização da seção *Bifaria* foi ampliada por Filgueiras (1986), considerando não só a presença de arista na gluma inferior, mas também, a ráquis alada. A descoberta de *M. alatum* e *M. longiaristatum*, espécies que combinam primeira gluma aristada e raque

amplamente alada, mostrou uma linha evolutiva distinta na seção *Bifaria* e sua relação com *M. ansatum*. Conforme Filgueiras (1986), *M. alatum* é a espécie que liga *M. ansatum* à seção *Bifaria*. As duas espécies possuem a ráquis amplamente alada, achatamento lateral da espiguetta, primeira gluma com base estreita, lema masculino com nervuras laterais ciliadas e distribuição geográfica restrita ao estado do Mato Grosso.

A revisão de Filgueiras (1986), apesar do vasto material disponível para algumas espécies como *M. loliifome* (Hochst. ex Steud.) Chase e *M. cayennense* Steud., foi embasada em uma pequena quantidade de exsicatas para seis espécies da seção *Bifaria*, o que nos leva a pensar em endemismo e raridade. As espécies *M. bifarium* e *M. longiaristatum* tiveram sua morfologia baseada apenas no material tipo. A morfologia de *M. alatum* foi elaborada pela análise de duas coletas, mais o material tipo. *M. ansatum*, teve amplitude morfológica representada com base em nove registros de coleta mais o material tipo, todos concentrados no estado do Mato Grosso. *Mesosetum compressum* teve morfologia baseada em 15 coletas, todas provenientes de uma mesma expedição entre 4 e 9 de abril de 1974, no município de Marabá-PA, além do tipo provavelmente de Pernambuco. *Mesosetum elytraochaetum* teve morfologia descrita com base em oito coletas. Oliveira *et al.* (2009) incluíram na lista de plantas raras do Brasil *M. alatum* e *M. longiaristatum*.

Espécies distribuídas em faixas muito restritas, concentradas em regiões pontuais dentro de grandes extensões, restritas a biomas particulares ou biorregiões são classificadas como insubstituíveis, segundo critério usado para definição das Áreas-Chave para Biodiversidade pela International Union for Conservation of Nature – IUCN. Estas áreas são sítios de interesse global que devem ser identificados e protegidos em âmbito regional ou nacional através de uma rede de áreas de proteção (Langhammer *et al.* 2007).

Kruckeberg & Rabinowitz (1985) usam conceito similar e consideram raridade como uma forma de endemismo restrito em plantas vasculares. Táxons estritamente endêmicos são

definidos como aqueles que ocorrem em uma ou poucas populações confinadas a um domínio ou poucas localidades.

As espécies raras, especialmente aquelas com distribuição bastante restrita, são as mais suscetíveis a distúrbios antrópicos ou eventos estocásticos naturais e, por isso, também devem ser tratadas como vulneráveis (Giulietti *et al.* 2009). No entanto, a falta de informação acerca do papel das espécies raras e pouco comuns nos ecossistemas e o desconhecimento das interações bióticas e abióticas inviabilizam ações de conservação (Lyons *et al.* 2005).

A falta de esforço de coleta em algumas regiões do Brasil também dificulta ações de conservação e limita o conhecimento acerca da distribuição geográfica das espécies. Conforme Valls *et al.* (2009), muitas gramíneas brasileiras têm sido consideradas raras, ou até ameaçadas de extinção, diante da escassa documentação em herbários.

Mesosetum sclerochloa (Trin.) Hitchc. era conhecida por, somente, um exemplar de herbário, proveniente de Cuiabá, Mato Grosso. Todavia, a espécie foi reencontrada em 2008 e novamente coletada em 2009, em Alvorada do Norte, Goiás, a cerca de 1050 km de distância de Cuiabá e após 187 anos da coleta anterior (Valls *et al.* 2009), sugerindo que sua distribuição geográfica seja mais ampla.

Portanto, os objetivos do presente trabalho foram ampliar os conhecimentos acerca da variação morfológica em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* por uma ampla análise de herbários complementada pela realização de novas coletas de material botânico; disponibilizar novos caracteres de valor taxonômico pela observação de micromorfologia, exemplares de herbário, observações de material vivo, em hábitat natural e sob cultivo, além de fornecer germoplasma das espécies pouco conhecidas.

1.2 – MATERIAL E MÉTODOS

Expedições botânicas foram realizadas de modo a ampliar a área de distribuição geográfica conhecida dos representantes da seção *Bifaria*. No período de outubro de 2011 a maio de 2013. Foram realizadas coletas no Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Pará e Tocantins.

Todas as espécies da seção *Bifaria* foram coletadas e estão sendo mantidas sob cultivo na Universidade de Brasília e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, com exceção de *Mesosetum compressum*, cujas tentativas de coleta foram infrutíferas nestes dois anos de mestrado. Os *vouchers* foram depositados nos herbários CEN, UB, IBGE e SP. As técnicas de coleta foram as usuais em taxonomia e descritas em Walter & Cavalcanti (2005).

Foi revisado material tipo disponível nos herbários B, BAA, BM, CEN, F, G, IAN, IBGE, K, LE, MO, NY, P, RB, S, SP, UB, UEC, US e VEN (siglas disponibilizadas por Thiers 2013). Foram consultadas exsicatas pertencentes aos acervos dos herbários CEN, CPAP, ESA, HB, HEPH, HRB, HUEFS, HUTO, IAN, IBGE, ICN, IPA, MG, MHS, MOSS, NX, PAMG, R, SP, UB, UFMT e UFRN.

As identificações foram realizadas com base em chaves e literatura especializada (Swallen 1937, Filgueiras 1986, 1987, 1989). As descrições dos estados de caráter basearam-se em Radford *et al.* (1974).

Para as análises em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), foi examinada pelo menos uma espiguetta de cada *voucher* disponível por espécie, englobando toda a variabilidade morfológica possível. O material foi montado em *stubs* metalizados com ouro e visualizados em microscópio eletrônico de varredura Jeol JSM 7001S a 15 kV no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Universidade de Brasília. Foi analisada pilosidade das glumas e superfície do antécio fértil. Padronizou-se observação somente de antécios maduros, túrgidos e enrijecidos. Antécios imaturos, deformados, e flácidos foram desconsiderados. Os termos

morfológicos empregados para micromorfologia seguiram Ellis (1979), Sordestrom & Zuloaga (1989) e Giraldo-Cañas (2004).

1.3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO

A revisão de novas coleções ampliou o conhecimento acerca da amplitude morfológica para as sete espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. Vale salientar que para *M. bifarium* e *M. longiaristatum*, descritas até então, com base apenas no material tipo, houve um incremento de sete e cinco novas coletas, respectivamente (tabela 1). *Mesosetum bifarium* tinha seu último registro de coleta no ano de 1937 e foi reencontrada 57 anos depois pela coleta de S. C. Boechat & T. S. Filgueiras 23, no ano de 1994.

Tabela 1. Registro de coletas das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*, evidenciando a pequena representatividade em herbários.

Espécies	Exemplares examinados na última revisão	Incremento atual
<i>Mesosetum alatum</i> Filg.	2 coletas + material tipo	2 novas coletas
<i>Mesosetum ansatum</i> (Trin.) Kuhl.	9 coletas + material tipo	17 novas coletas
<i>Mesosetum bifarium</i> (Hack.) Chase	apenas material tipo	7 novas coletas
<i>Mesosetum compressum</i> Swallen	15 registros (uma mesma expedição de coleta) + material tipo	3 novas coletas
<i>Mesosetum elytrochaetum</i> (Hack.) Swallen	8 coletas + tipo	13 novas coletas
<i>Mesosetum longiaristatum</i> Filg.	apenas material tipo	5 novas coletas

A descrição da seção *Bifaria* pôde ser mais detalhada pela inclusão de características em comum às espécies (tabela 2), não enfatizadas nos estudos anteriores. O achatamento lateral da espiguetta não está referido na diagnose de *Bifaria* por Swallen (1937) e Filgueiras

(1986, 1989), embora seja comum às descrições de todas as suas espécies. Esta característica contrasta com as espécies da seção *Mesosetum* delimitada por Filgueiras (1986, 1989) cujas espiguetas possuem conspícuo achatamento dorsal. Outro caráter comum às espécies da seção *Bifaria* é a presença de gluma inferior conduplicada, apesar deste não estar referido na diagnose da seção, nem nas descrições das espécies, considerando as duas últimas revisões.

O dorso da gluma superior demonstrou dois tipos de macropelos verificados em MEV (figura 1), conforme Ellis (1979), Sordestrom & Zuloaga (1989) e Giraldo-Cañas (2004). O macropelo curto está homoganeamente distribuído na superfície. O macropelo longo foi encontrado nas margens e nos tufos referidos por Swallen (1937) e Filgueiras (1986, 1989) na gluma superior. Estes macropelos longos também foram observados na inserção das glumas com a base da espiguetas.

Caracteres morfológicos considerados inadequados

Mesosetum alatum, *M. bifarium*, *M. compressum* e *M. longiaristatum* são muito relacionadas, conforme Filgueiras (1986). Este autor apresenta um quadro comparativo destacando os caracteres taxonômicos para distinção destes táxons: ciclo de vida, comprimento e largura da lâmina foliar, comprimento da arista da gluma inferior, presença da arista na gluma superior, presença de tufos de pelos na gluma superior e a presença de flor no antécio inferior. No entanto, a análise das novas coleções e de materiais sob cultivo mostrou que alguns destes caracteres não são adequados para identificação das espécies.

Tabela 2. Caracteres morfológicos de valor taxonômico das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase.

Espécie	Hábito/colmo	Anual ou perene	Estolhos		Lâminas foliares
			Ausentes ou presentes	Orientação	Forma
<i>Mesosetum alatum</i> Filg.	erva cespitosa ereta, colmos ramificados apenas na base.	perene	presentes	emitidos verticalmente	planas; herbáceas
<i>Mesosetum ansatum</i> (Trin.) Kuhl.	erva cespitosa, colmos ramificados na base ou na altura de inserção do ramos floríferos.	perene	presentes	emitidos horizontalmente	planas; herbáceas
<i>Mesosetum bifarium</i> (Hack.) Chase	erva cespitosa, colmos ramificados apenas na base.	perene	presentes	emitidos horizontalmente	planas; herbáceas
<i>Mesosetum chaseae</i> Luces	erva cespitosa, colmos ramificados apenas na base.	perene	presentes	emitidos horizontalmente	planas; herbáceas
<i>Mesosetum compressum</i> Swallen	erva decumbente, colmos ramificados apenas na base, raramente nos nós superiores.	anual	presentes	não vista <i>in vivo</i>	planas; herbáceas
<i>Mesosetum elytrochaetum</i> (Hack.) Swallen	erva cespitosa, colmos ramificados apenas na base.	perene	presentes	emitidos verticalmente	filiformes a planas; coriácea, espessa
<i>Mesosetum longiaristatum</i> Filg.	erva cespitosa a decumbente, colmos ramificados na base e nos nós superiores. Ramificações nos nós superiores raramente ausentes.	anual	ausentes	–	planas; herbáceas

Tabela 2. Caracteres morfológicos de valor taxonômico das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase.

Espécie	Ráquis			Espiguetas	
	Largura (mm)	Alas		Compressão	Elaiossomo na base da espiguetas
		Forma em vista dorsal	Textura		
<i>Mesosetum alatum</i> Filg.	2,2-3,2	plana; encobrindo 1/3 a completamente a gluma superior.	Membranácea	lateral	ausente
<i>Mesosetum ansatum</i> (Trin.) Kuhl.	2,2-5,2	convoluta, conduplicada, encobrindo completamente as espiguetas ou até 1/3 apical da gluma superior exposta.	Membranácea	lateral	ausente
<i>Mesosetum bifarium</i> (Hack.) Chase	1,6-2,0	plana; encobrindo no máximo 1/6 da gluma superior.	Membranácea	lateral	ausente
<i>Mesosetum chaseae</i> Luces	0,7-1,1	plana; encobrindo no máximo um 1/6 da gluma superior.	membranácea a cartácea	lateral	ausente
<i>Mesosetum compressum</i> Swallen	1,3-2,1	plana; linear a lanceolada, encobrindo no máximo 1/6 da gluma superior.	membranácea a cartácea	lateral	ausente
<i>Mesosetum elytrchaetum</i> (Hack.) Swallen	0,4-1,5	plana; linear, encobrindo no máximo 1/6 da gluma superior.	Coriácea	lateral	ausente
<i>Mesosetum longiaristatum</i> Filg.	0,8-2,2	plana; linear a lanceolada, encobrindo no máximo 1/6 da gluma superior.	Membranácea	lateral	presente

Tabela 2. Caracteres morfológicos de valor taxonômico das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase.

Espécie	Gluma inferior			
	Compr. x larg. (mm)	Forma	Mútica, mucronada ou aristada	Múcron/arista
				comprimento (mm)
<i>Mesosetum alatum</i> Filg.	3,3-4,2 x 0,6-1,2	conduplicada	aristada	2,3-3,5
<i>Mesosetum ansatum</i> (Trin.) Kuhl.	2,4-4,0 x 0,8-1,4	conduplicada	mútica, raramente mucronada	0-0,2
<i>Mesosetum bifarium</i> (Hack.) Chase	3,5-5,7 x 1,0-2,2	conduplicada	aristada	2-7
<i>Mesosetum chaseae</i> Luces	3,2-4,7 x 0,7-1,4	conduplicada	mucronada ou aristada	0,2-1,0
<i>Mesosetum compressum</i> Swallen	3,7-5,6 x 1,2-2,1	conduplicada	aristada	2,0-11,7
<i>Mesosetum elytraetum</i> (Hack.) Swallen	2,9-5,4 x 0,4-2,0	conduplicada	aristada	3-9
<i>Mesosetum longiaristatum</i> Filg.	2,7- 4,8 x 0,5-1,1	conduplicada	aristada	6-25

Tabela 2. Caracteres morfológicos de valor taxonômico das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase.

Espécie	Gluma superior			
	Compr. x larg. (mm)	Forma	Mútica, mucronada ou aristada	Múcron / arista Comprimento (mm)
<i>Mesosetum alatum</i> Filg.	3,0-3,8 x 0,6-1,0	conduplicada	mútica ou mucronada	0-0,1
<i>Mesosetum ansatum</i> (Trin.) Kuhl.	2,5-3,6 x 0,4-1,1	plana	mútica	–
<i>Mesosetum bifarium</i> (Hack.) Chase	3,2-5,2 x 1,2-1,8	conduplicada	mútica ou mucronada	0-0,3
<i>Mesosetum chaseae</i> Luces	2,9-4,6 x 0,7-1,1	conduplicada a plana	mútica ou mucronada	0-0,2
<i>Mesosetum compressum</i> Swallen	3,7-5,4 x 1,2-1,9	conduplicada	mútica, mucronada ou aristada	0-1,6
<i>Mesosetum elytrchaetum</i> (Hack.) Swallen	2,8-4,4 x 0,8-1,7	conduplicada	mútica, mucronada ou aristada	0-0,9
<i>Mesosetum longiaristatum</i> Filg.	2,5-4,4 x 0,5-1,1	conduplicada	mútica, mucronada ou aristada	0-0,9

Tabela 2. Caracteres morfológicos de valor taxonômico das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase.

Espécie	Antécio inferior	Palea inferior	Lema infeior		Anteras
	Masculino ou neutro	Ausente ou presente	Presença de arista/comprimento	Múcron / arista comprimento (mm)	Coloração em antese
<i>Mesosetum alatum</i> Filg.	masculino ou neutro	presente	mútico, raramente mucronado	0-0,1	vináceas
<i>Mesosetum ansatum</i> (Trin.) Kuhl.	masculino	presente	mútico, raramente mucronado	0-0,1	alvas a amarelas
<i>Mesosetum bifarium</i> (Hack.) Chase	masculino	presente	mútico, raramente mucronado	0-0,1	vináceas
<i>Mesosetum chaseae</i> Luces	masculino ou neutro	presente	mútico raramente mucronada	0-0,1	vináceas
<i>Mesosetum compressum</i> Swallen	masculino	presente	mútico ou mucronado	0-0,4	vináceas
<i>Mesosetum elytrchaetum</i> (Hack.) Swallen	masculino ou neutro	presente, raramente ausente	mútico, raramente mucronado	0-0,2	vináceas
<i>Mesosetum longiaristatum</i> Filg.	masculino ou neutro	presente ou ausente	mútico a mucronado	0-0,4	vináceas

A ausência ou presença destes tufo de macropelos longos no dorso da gluma superior mostrou ser variável em observação por MEV (figura 1, tabela 3). Para *M. bifarium* (A. S. Silva et al. 235), foram encontradas espiguetas inseridas no mesmo ramo florífero com e sem um tufo de macropelos longos no dorso da gluma superior, bem como em indivíduos distintos da mesma população. Essa condição também foi observada durante o florescimento das mudas deste *voucher* no telado, persistindo também no material conservado em etanol 70%. Em *M. alatum* uma nova coleção de H. Jancoski 444, coletada no município de Novo Santo Antônio, Parque Estadual do Araguaia, estado do Mato Grosso, exibe um tufo de macropelos longos no dorso da gluma superior, divergindo do que se conhecia nas coleções anteriores e material tipo, que não possuem tufo de macropelos longos no dorso da gluma superior. Apesar desta diferença, todos os outros caracteres como hábito, ráquis e dimensões da espiguetas são coerentes com as descrições e material tipo, o que demonstra variação dentro de *M. alatum*. A nova coleção de *M. longiaristatum* (J. F. M. Valls et al. 15812) também demonstrou esta variação, exibindo gluma superior com ausência ou presença de um reduzido tufo.

Em *M. ansatum* a gluma superior manteve pilosidade constante. São bem características e invariáveis duas linhas de macropelos longos ao redor da carena na metade basal com um tufo no 1/8 apical. Este tipo de pilosidade na metade basal da carena é peculiar a *M. ansatum* e *M. chaseae*. Entretanto, apesar de ser constante em *M. ansatum* é variável em *M. chaseae*.

Em *M. chaseae*, o dorso da gluma superior pode não conter tufo de macropelos longos, conter um tufo apical de macropelos longos ou ainda duas linhas de macropelos longos margeando a carena. Neste último caso, torna-se muito similar a *M. ansatum*. Esta variação da pilosidade da segunda gluma já havia sido reportada por Filgueiras (1986).

Tabela 3. Pilosidade na gluma superior em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.)

Chase

Espécie	Pilosidade na gluma superior
<i>Mesosetum alatum</i> Filg.	dorso com macropelos curtos uniformemente distribuídos, macropelos longos somente nas margens, ou às vezes também formando um tufo pontual no dorso no 1/6 distal, descontínuo com as margens
<i>Mesosetum ansatum</i> (Trin.) Kuhlm.	dorso com macropelos curtos uniformemente distribuídos, macropelos longos nas margens, formando um tufo em arco no dorso no 1/8 distal contínuo com as margens e em duas linhas margeando a carena até 1/2 a 2/3 proximal.
<i>Mesosetum bifarium</i> (Hack.) Chase	dorso com macropelos curtos uniformemente distribuídos, macropelos longos nas margens, tufo ausente ou presente no 1/8 distal
<i>Mesosetum chaseae</i> Luces	dorso com macropelos curtos uniformemente distribuídos, macropelos longos nas margens, às vezes formando um tufo pontual ou em arco no 1/8 distal, contínuo ou descontínuo com as margens, às vezes em duas linhas margeando a carena até 1/2 a 2/3 proximal
<i>Mesosetum compressum</i> Swallen	dorso com macropelos curtos uniformemente distribuídos, macropelos longos nas margens, dois tufos laterais ausentes ou presentes no 1/3 distal, descontínuos entre si e contínuos com as margens
<i>Mesosetum elytrochaetum</i> (Hack.) Swallen	dorso com macropelos curtos uniformemente distribuídos, macropelos longos nas margens, um tufo em arco no 1/2 a 1/3 distal descontínuo raramente contínuo com as margens.
<i>Mesosetum longiaristatum</i> Filg.	dorso com macropelos curtos uniformemente distribuídos, macropelos longos nas margens, um tufo ausente ou presente no 1/6 a 1/8 distal em forma de arco contínuo ou descontínuo com as margens

A presença de anteras no antécio inferior mostrou-se variável, a partir do exame das espécies sob cultivo. Em *R. C. Oliveira et al. 2765* e *R. C. Oliveira et al. 2772* que representam as espécies *M. alatum* e *M. chaseae*, respectivamente, as mudas em telado passaram a produzir espiguetas com antécio inferior provido de anteras, as quais no habitat natural possuíam este antécio neutro. A descrição de *M. alatum* por Filgueiras (1986, 1987, 1989) não citou antécio inferior neutro para esta espécie, embora tenha sido observada variação sob cultivo.

Ainda em telado, em *M. chaseae*, houve diferença entre a floração de janeiro e maio. Em janeiro foram produzidos antécios inferiores masculinos, enquanto em maio, sob condição de menor insolação e temperatura, os antécios inferiores produzidos foram neutros. A variação na presença/ausência de flor no antécio inferior parece estar relacionada à disponibilidade hídrica, temperatura e luminosidade.

Em *M. elythrochaetum*, as coleções de *T. S. Filgueiras & A. G. Burman 3229*, *T. S. Filgueiras & M. L. Fonseca 3013* também podem exibir antécio inferior neutro, variação já comprovada para outras espécies da seção *Bifaria* e que não havia sido citada por Filgueiras (1986, 1989).

Em *M. longiaristatum*, as populações provenientes da localidade situada 30 km ao norte Teresina de Goiás apresentam variação no antécio inferior. Os *vouchers* *M. L. Fonseca et al. 5168* e *R. C. Oliveira & C. W. Fagg 2816* possuem antécio inferior masculino, e pálea presente, variação que não era conhecida no material tipo, nem citada pelas descrições de Filgueiras (1986, 1987, 1989). Já as coleções de *S. S. Silva et al. 23.45-90* possuem antécio inferior neutro. Curiosamente, estes *vouchers* coletados em março e abril (*M. L. Fonseca et al. 5168* e *R. C. Oliveira & C. W. Fagg 2816*), quando as chuvas ainda são frequentes, exibem anteras no antécio inferior. Já os coletados em maio (*S. S. Silva et al. 23.45-90*), quando as precipitações e temperaturas sofrem significativa redução, os antécios inferiores

são neutros. Tendo em vista que este tipo de comportamento já foi observado em outras espécies de *Mesosetum* sect *Bifaria*, esta placidade também parece ser natural para *M. longiaristatum*.

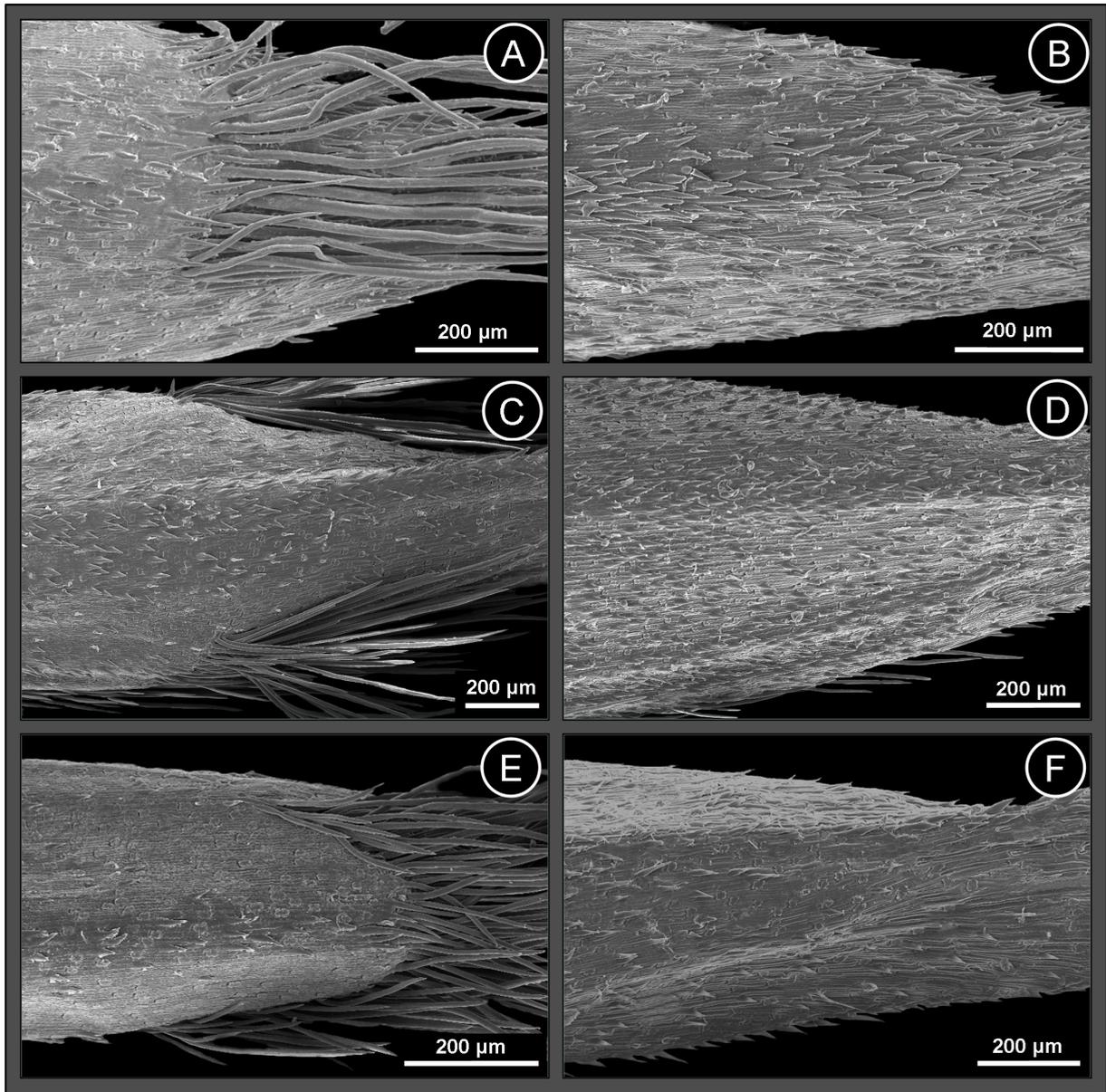


Figura 1. Variação da pilosidade no dorso da gluma superior visto em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). **A-B.** *Mesosetum bifarium*, A. S. Silva et al. 235 (UB). **C-D.** *Mesosetum compressum*. C. G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 495 (IAN). **D.** L. M. Nascimento & A.G. Silva 393 (HUEFS). **E-F.** *Mesosetum longiaristatum*. **E.** R. C. Oliveira & C. W. Fagg 2816 (UB). **F.** J. F. M. Valls et al. 15812 (CEN).

O comprimento da arista da gluma inferior mostrou variação que ocasionou sobreposição dos limites interespecíficos propostos pelas revisões de Swallen (1937) e

Filgueiras (1986, 1989). Em *M. compressum*, Filgueiras (1986, 1989) encontrou aristas de 5-12 mm de comprimento. As novas coleções de *L. M. Nascimento & A.G. Silva 393*, *D. Andrade-Lima et al. 9438* e *D. Andrade-Lima et al. 9615* exibem arista da gluma inferior mais curta, com 2-6 mm de comprimento, havendo sobreposição aos comprimentos observados entre *M. compressum*, *M. alatum* e *M. bifarium*. Para *M. longiaristatum*, as novas coleções obtidas por *J. F. M. Valls et al. 15812*, *J. F. M. Valls et al. 15841*, *M.L. Fonseca et al. 5168*, *R. C. Oliveira & C. W. Fagg 2816* e *S.S. Silva et al. 23.45-90* comprovaram variação contínua no comprimento da arista entre 5-15 mm de comprimento, que se sobrepõe com *M. compressum*.

A presença de múcron ou arístula na gluma superior (figura 2) demonstrou não ser restrita às espécies anuais, não mais se adequando como carácter taxonômico. Em *M. alatum*, a análise de *H. S. Irwin et al. 16467* revelou presença de gluma superior mútica ou mucronada, com múcron de 0,1 mm de comprimento. As novas coleções de *M. bifarium* representadas por *S. C Boechat & T. S. Filgueiras 43* e *S. C Boechat & T. S. Filgueiras 50* exibem gluma superior mútica a mucronada, múcron 0,1-0,3 mm de comprimento. Em *M. chaseae*, as coleções de *A. Pott & V.J. Pott 1771*, *J. Alvarez s.n. (ICN 141808)*, *L. Coradin & M. R. Cordeiro s.n. (IAN 156351)*, *L. Coradin & M. R. Cordeiro 871*, *L. Coradin & M. R. Cordeiro 909* mostram gluma superior mútica ou mucronada, múcron 0,1-0,2 mm de comprimento. Em *M. elytrochaetum*, a gluma superior exibe ápice variando de mútico, mucronado a aristulado em quase todas as coleções.



Figura 2. Variação morfológica das espiguetas de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. **A-B.** *Mesosetum alatum*. **A.** H. S. Irwin et al. 16467 (IBGE). **B.** R. C. Oliveira et al. 2765 (UB). **C-D.** *Mesosetum ansatum*. **C.** R. C. Oliveira et al. 2766 (UB). **D.** J. F. M. Valls et al. 9442. **E-F.** *Mesosetum bifarium*. **E.** S. C. Boechat & T. S. Filgueiras 50 (SP). **F.** A. S. Silva et al. 235 (UB). **G-H.** *Mesosetum chaseae*. **G.** R. C. Oliveira et al. 2772 (UB). **H.** J. Alvarez s.n. (ICN 141808). **I-K.** *Mesosetum compressum*. **I.** D. Andrade-Lima et al. 9615 (UB). **J.** L. M. Nascimento & A. G. Silva 393 (HUEFS). **K.** G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 103 (IAN). **L-M.** *Mesosetum elythrochaetum*. **L.** C. B. R. Munhoz et al. 2590 (IBGE). **M.** R. C. Oliveira et al.

2722 (UB). **N-P.** *Mesosetum longiaristatum*. **N.** J. F. M. Valls et al. 15812 (CEN). **O-P.** J. F. M. Valls et al. 15841 (CEN). **O.** Espigueta. **P.** Elaiossomo.

Também foi constatada variação dentro das próprias espécies anuais, com gluma superior variando de aristulada, mucronada a mútica, caráter que se sobrepõe com as espécies perenes. Em *M. compressum*, as coleções de D. Andrade-Lima et al. 9438 e D. Andrade-Lima et al. 9615 apresentam gluma superior mútica, raramente mucronada, múcron 0,1 mm de comprimento. Em *M. longiaristatum*, as coleções de J. F. M. Valls et al. 15841, M.L. Fonseca et al. 5168, R. C. Oliveira & C. W. Fagg 2816 e S.S. Silva et al. 23.45-90 exibem variação na gluma superior de mútica, mucronada ou aristulada, com múcron/arístula 0,1-0,5 mm de comprimento. Esta variação é mais evidente em M. L. Fonseca et al. 5168 e R. C. Oliveira & C. Fagg 2816, nos quais a gluma superior é mútica, raramente mucronada.

A presença de cariopse (figura 3) foi extremamente rara nas espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*, com exceção de *M. longiaristatum* cujas cariopses foram vistas em todas as espiguetas maduras. Embora incomum, ainda foi possível sua observação nas espécies *M. ansatum*, *M. chaseae*, *M. elythrochaetum*. Em *M. alatum* e *M. bifarium*, as cariopses não foram encontradas, apesar de descritas por Filgueiras (1986, 1989). Nenhuma diferença significativa foi encontrada entre as espécies. Em *M. compressum* a cariopse permanece desconhecida.



Figura 3. Cariopses das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. **A.** *Mesosetum ansatum*, L. C. A. Oliveira 3 (IBGE). **B.** *Mesosetum chaseae*, J. Alvarez s.n. (ICN 141807). **C.** *Mesosetum elythrochaetum*, C. B. R. Munhoz et al. 2590 (IBGE). **D.** *Mesosetum longiaristatum*, S. S. Silva et al. 23.45-90 (SP).

Novos caracteres taxonômicos

Apesar da sobreposição supracitada, novos caracteres foram identificados pela observação do material *in vivo*. Entre os caracteres observados nas mudas e no hábitat natural estão a forma como os estolhos são emitidos, a consistência da lâmina foliar e a coloração das anteras em antese. Estas observações somente não foram possíveis em *M. compressum*, espécie não encontrada nas expedições de campo.

O estolhos (figura 4, tabela 2) foram encontrados em todas as espécies cultivadas, com exceção de *M. longiaristatum*. Duas formas de estolho foram identificadas. Para *M. alatum* e *M. elytrochaetum*, espécies com hábito mais ereto, as plantas emitem ampla ramificação e os estolhos surgem tardiamente, em ramos vegetativos eretos que atingem mais de 20 cm de altura, tornam-se patentes e ao entrar em contato com o substrato, emitem raízes e afilhos. Entretanto, esta característica somente pode ser observada em material vivo e nenhum exemplar herborizado permitiu tal constatação. Para *M. ansatum*, *M. bifarium* e *M. chaseae* os estolhos foram verificados já nos dois primeiros meses de cultivos e emitidos horizontalmente. Nestas espécies o ramo já surge horizontal ou se ereto, atinge no máximo 5 cm de altura e já se tornam patentes emitindo raízes e afilhos nos nós.

Os estolhos de *M. alatum* e *M. elytrochaetum* ainda não eram conhecidos. Os estolhos de *M. ansatum*, apesar de citados por Swallen (1937) não foram indicados pela revisão de Filgueiras (1986, 1989).

Em *M. bifarium*, os estolhos observados nas novas coleções e nas mudas (figura 4) cultivadas na casa de vegetação comprovaram a hipótese de Filgueiras (1986), que tinha disponível à época, material que não permitia a identificação exata desta estrutura vegetativa. É curiosa a intensa produção de estolhos desta espécie sob condição de cultivo. Outra observação importante revelada pelas novas coleções é a ocorrência sempre associada a ambiente rupícola, no qual os estolhos parecem ser vantajosos na busca por água e nutrientes.

Em *M. compressum*, a presença de estolhos, já sugerida por Filgueiras (1986) e pelo material tipo, foi comprovada com a coleção de *D. Andrade-Lima et al. 9615*, que produz um ramo reprodutivo e raízes em cada nó do estolho.



Figura 4. Estolhos observados em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (setas amarelas). **A.** *Mesosetum alatum*, R. C. Oliveira et al. 2765. **B.** *Mesosetum ansatum*, R. C. Oliveira et al. 2766. **C.** *Mesosetum bifarium*, A. S. Silva et al. 235. **D.** *Mesosetum chaseae*, R. C. Oliveira et al. 2772. **E-F.** *Mesosetum elytrochaetum*, R. C. Oliveira et al. 2722. **E.** Estolho **F.** Detalhe do afilhamento.

A consistência coriácea e espessa da lâmina foliar em material vivo de *M. elytrochaetum* demonstrou ser única na seção *Bifaria*. Dimorfismo foliar foi constatado nas mudas, com lâminas aplanadas às vezes ocorrendo junto com as lâminas filiformes típicas desta espécie. Mesmo estas lâminas mais aplanadas de *M. elytrochaetum* mantêm consistência coriácea, espessa e quebradiça, o que contrasta com as lâminas das demais espécies que são herbáceas, tenras e flácidas.

As espécies da seção *Bifaria* possuem anteras vináceas a purpúreas durante a antese (figura 5) com exceção de *M. ansatum*, que possui anteras alvas, às vezes amareladas.



Figura 5. Coloração das anteras em antese em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. **A.** *Mesosetum alatum*. **B.** *Mesosetum ansatum*

Outros caracteres de importância taxonômica foram diagnosticados em material herborizado (tabela 2) e na análise do lema fértil em MEV (tabela 4). Destacaram-se a morfologia da ráquis, largura das glumas, gluma superior plana ou conduplicada e a presença de elaiossomo na base da espigueta.

As espécies anuais possuem ráquis muito similar (figura 6). No entanto, para as espécies perenes, foram observados importantes caracteres taxonômicos. A ráquis conduplicada e involuta nas margens, cobrindo quase totalmente as espiguetas, é peculiar a *M. ansatum*. A ráquis plana pode ser de dois tipos: o primeiro encobrindo 1/3 a completamente a gluma superior em vista dorsal, peculiar a *M. alatum*; o segundo com a gluma superior completamente exposta ou encoberta em no máximo 1/6 da sua base sob vista dorsal, comum para *M. bifarium*, *M. chaseae* e *M. elytrochaetum*. Neste grupo, a ráquis esverdeada ampla e membranácea de *M. bifarium* contrasta com a ráquis estreita, espessa e coriácea de *M. elytrochaetum*.



Figura 6 Variação morfológica da ráquis em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. **A.** *Mesosetum alatum*, R. C. Oliveira et al. 2765 (UB). **B.** *Mesosetum ansatum*, R. C. Oliveira et al. 2766 (UB). **C.** *Mesosetum bifarium*, A. S. Silva et al. 235 (UB). **D.** *Mesosetum chaseae*, R. C. Oliveira et al. 2772 (UB). **E-F.** *Mesosetum compressum*. **E.** D. Andrade-Lima et al. 9438 (UB). **F.** G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 438 (IAN). **G.** *Mesosetum elytrochaetum*, R. C. Oliveira et al. 2722 (UB). **H.** *Mesosetum longiaristatum*, R. C. Oliveira & C. W. Fagg 2816 (UB).

A gluma superior pode ser plana ou conduplicada. A gluma superior plana ocorre em *M. ansatum* e *M. chaseae*. Todas as demais espécies da seção *Bifaria* possuem gluma superior conduplicada, mais perceptível distalmente. A espécie *M. chaseae* parece representar a transição entre estes dois extremos.

Em *M. chaseae*, alguns exemplares exibem gluma superior plana ou conduplicada no mesmo indivíduo (A. Pott & V. J. Pott 1771, A. Allem & G. Vieira 1403, J. Alvarez s. n. (ICN141806, 141807, 141808), R. C. Oliveira et al. 2772, L. Coradin, & M. R. Cordeiro s.n.(IAN 156351), L. Coradin, & M. R. Cordeiro 871). Estes vouchers comprovam a amplitude deste carácter nesta espécie, o qual permaneceu constante em todas as demais da seção *Bifaria*. Quando é plana, a gluma superior de *M. chaseae* assemelha-se a de *M. ansatum*. Quando é conduplicada, mesmo que somente na porção distal, a gluma superior de *M. chaseae* torna-se mais semelhante a de *M. alatum*.

O elaiossomo (figura 2 P) dourado a esverdeado presente na base da espiguetas mostrou ser exclusivo de *M. longiaristatum* e importante caráter para diferenciá-la de *M. compressum*. Apesar de citado por Filgueiras (1986, 1987, 1989), não foi utilizado em sua chave de identificação. Este apêndice glanduloso de *M. longiaristatum* torna-se intumescido quando a cariopse está madura e pode ser imperceptível nas espiguetas mais jovens. Conforme Davidse (1987), o elaiossomo armazena lipídeos e está relacionado à dispersão por formigas (mimercoria). Como *M. longiaristatum* produz cariopses em abundância, observadas em praticamente todas as coleções, o elaiossomo auxilia no seu reconhecimento.

Sob cultivo foi verificada épocas distintas de florescimento para as espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. Chama atenção o intenso florescimento das mudas de *M. ansatum*, o qual ocorre em todos os meses do ano. O florescimento do *M. chaseae* foi desuniforme, ocorrendo de dezembro a fevereiro e depois em maio. O florescimento de *M. elytrochaetum* foi intenso, mas concentrado no período de março a maio. Os florescimentos de *M. alatum* e

M. bifarium foram efêmeros, concentrados no período de abril e maio. O florescimento de *M. longiaristatum*, espécie anual, ocorre de forma ininterrupta desde o plantio, sendo necessária constante poda dos ramos floríferos para evitar a morte das mudas. Sob efeito deste trato cultural, suas mudas vêm persistindo de março a agosto de 2013.

Circunscrição da seção *Bifaria*

***Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase Proc. Biol. Soc. Wash. 24: 121, 123. 1911.**

Ervas anuais ou perenes. **Ráquis** alada 0,4-5,2 mm larg. **Espiguetas** lateralmente comprimidas. **Gluma inferior** conduplicada, mucronada a aristada, raramente mútica. **Gluma superior** conduplicada, raramente plana, mútica, mucronada ou aristulada. **Lema fértil** com uma fileira de estômatos em cada margem próximo ao ápice.

Chave para identificação das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*

- 1. Ervas anuais..... 2
 - 2. Ramificações em nós superiores ausentes, raramente presentes; estolhos presentes; ausência de elaiossomo dourado ou esverdeado na base da espiguetas; gluma inferior 1,2-2,1 mm larg.; gluma superior 1,2-1,9 mm larg..... *M. compressum*
 - 2'. Ramificações em nós superiores presentes, raramente ausentes; estolhos ausentes; presença de elaiossomo dourado ou esverdeado na base da espiguetas, conspícuo e intumescido na cariopse madura; gluma inferior 0,5-1,1 mm larg.; gluma superior 0,5-1,1 mm larg.....
..... *M. longiaristatum*
- 1'. Ervas perenes 3

3. Alas da ráquis 2,2-5,2 mm larg., encobrendo 1/3 a completamente a gluma superior em vista dorsal..... 4
4. Ráquis plana; gluma inferior aristada, arista 2,3-3,5 mm compr.; gluma superior conduplicada; anteras vináceas..... *M. alatum*
4. Ráquis conduplicada, involuta; gluma inferior mútica, raramente mucronada, múcron 0,1-0,2 mm compr.; gluma superior plana; anteras alvas a amarelas
..... *M. ansatum*
- 3'. Alas da ráquis 0,4-2,0 mm larg, encobrendo no máximo 1/6 da gluma superior em vista dorsal. 5
5. Arista da gluma inferior 3-9 mm compr. 6
- 6'. Lâminas foliares planas, herbáceas, tenras; ráquis 1,6-2,0 mm larg., membranácea ..
..... *M. bifarium*
6. Lâminas foliares filiformes, coriáceas, espessas, às vezes com dimorfismo, ocorrendo junto com lâminas planas também coriáceas; ráquis 0,4-1,5 mm larg., coriácea *M. elytrochaetum*
- 5'. Arista/múcron da gluma inferior 0,2-2,9 mm compr. 7
7. Ráquis 1,6-2,0 mm larg.; gluma superior 1,2-1,8 mm larg..... *M. bifarium*
- 7'. Ráquis 0,7-1,1 mm larg.; gluma superior 0,7-1,1 mm larg. *M. chaseae*

A espécie perene mais próxima de *M. alatum* é *M. bifarium*, da qual pode ser distinguida pelo tipo de estolho, pela ráquis, pela base da espiguetta, pela forma e largura da gluma superior e pela base do lema fértil (tabelas 2 e 4).

Uma característica peculiar observada nas mudas de *M. alatum* é a presença de odor semelhante ao óleo extraído do aquênio de *Anacardium occidentale* L. O odor se torna perceptível sempre após a irrigação.

Uma nova coleta de *H. M. Longhi-Wagner 3931* demonstrou características intermediárias entre *M. alatum* e *M. bifarium* e precisa ser investigada quanto a sua citologia, reprodução e análise molecular. A comparação entre os materiais tipos de *M. alatum* e *M. bifarium* revela clara descontinuidade entre as espécies. No entanto, a inclusão da morfologia intermediária de *H. M. Longhi-Wagner 3931* confundiria completamente os limites interespecíficos. Neste espécime a ráquis possui morfologia e largura similar a de *M. bifarium*. No entanto as suas glumas são estreitas como as de *M. alatum* e a ráquis em vista dorsal chega a encobrir até 1/3 do comprimento da gluma superior. A morfologia intermediária sugere que *H. M. Longhi-Wagner 3931* seja um híbrido natural entre *M. alatum* e *M. bifarium*, necessitando de estudos citológicos, reprodutivos e moleculares para comprovar tal hipótese.

Para *M. ansatum*, foi observada ocasionalmente gluma inferior mucronada nos vouchers de *J. F. M. Valls et al. 9442*, *G. H. Rua et al. 235*, *M. Schessl 281092-195/1*, *M. Schessl 281092-196/1e* *R. C. Oliveira et al. 2773*. Tal carácter aliado a ráquis alada evidencia a relação de *M. ansatum* com a seção *Bifaria*, corroborando o posicionamento de Filgueiras (1986). Swallen (1937) não havia incluído *M. ansatum* na seção *Bifaria*. Tal espécie foi posicionada por Swallen (1937) em “ungrouped species”.

Foram observadas afinidades das espécies anuais com espécies perenes. A espécie *M. longiaristatum* parece ser o parente anual mais próximo da perene *M. alatum*. A afinidade é observada pelo hábito mais ereto, glumas mais estreitas. No entanto, além do comportamento anual, *M. longiaristatum* possui aristas mais longas e presença de elaiossomo na base da espiguetta (tabela 2, figura 2 P).

A espécie anual *M. compressum* é a mais próxima da perene *M. bifarium* (tabela 2). Ambas possuem glumas mais largas e estolhos horizontais, caracteres que contrastam com o grupo formado por *M. alatum* e *M. longiaristatum*. A variação observada no comprimento da

arista da gluma inferior, ausência e presença de múcron na gluma superior, além da ausência e presença de tufos de macropelos longos no dorso da gluma superior, confundiu todos os limites que separavam *M. bifarium* de *M. compressum*. Deste modo a única diferença está no ciclo de vida, que é perene em *M. bifarium* e anual em *M. compressum*.

As espécies anuais possuem ráquis similar e podem ser confundidas. Todavia, é possível distinguí-las. Em *M. compressum* há presença de estolhos, as ramificações em nós superiores são ausentes, raramente presentes, o elaiossomo dourado ou esverdeado é ausente na base da espiguetta, as glumas são mais largas, com gluma inferior medindo 1,2-2,1 mm larg. e gluma superior 1,2-1,9 mm larg. Em *M. longiaristatum* os estolhos são ausentes, as ramificações em nós superiores são presentes, raramente ausentes; um elaiossomo dourado ou esverdeado é presente na base da espiguetta, conspícuo e intumescido quando a cariopse está madura, as glumas são mais estreitas, ambas variando de 0,5-1,1 mm larg.

Mesosetum elytrochaetum, às vezes pode apresentar dimorfismo foliar. Neste caso, pode ser confundida com *M. bifarium* e a distinção pode ser facilitada pela observação da ráquis. Em *M. elytrochaetum* a ráquis é coriácea, espessa e mais estreita, variando de 0,4-1,5 mm de comprimento. Em *M. bifarium* a ráquis é membranácea, variando de 1,6 a 2 mm larg.

A coleta de *R. C. Mendonça et al.* 2740 possui morfologia intermediária entre os tipos de *M. bifarium* e *M. elytrochaetum*, que possuem clara descontinuidade. O material desta coleta possui dimorfismo foliar, com lâminas planas e filiformes na mesma touceira, que se assemelha a *M. elytrochaetum*. Entretanto, sua ráquis é membranácea e mais larga com 0,8-1,2 mm larg., que é parecida com a ráquis de *M. bifarium*. As duas espécies têm ocorrência restrita a Chapada dos Veadeiros (Goiás) e é provável que ocorram híbridos naturais quando suas populações vegetem em simpatria. Todavia, serão imprescindíveis estudos citogenéticos, reprodutivos e moleculares para comprovar tal hipótese.

Indícios de pastejo foram observados em algumas espécies de *Mesosetum* sect *Bifaria*. Durante expedição de campo, *R. C. Oliveira et al. 2766* em Poconé-MT, observou pastejo de bovinos e intensa produção de estolhos em *M. ansatum*, sob esta condição. Tal característica já era indicada por Filgueiras (1989). Em *M. longiaristatum*, *J. F. M. Valls et al. 15841* (CEN) verificaram pastejo de equinos que conferiu maior ramificação dos colmos aos indivíduos sob esta condição. Não há indícios de pastejos nem indicações de uso forrageiro para *M. a alatum*, *M. bifarium*, *M. compressum* e *M. elyrochaetum*.

A espécie *M. chaseae* demonstra potencial promissor e já reúne vários dados sobre seu desempenho como forrageira. Allem & Valls (1987) já indicavam este potencial, por sua grande capacidade produzir estolhos e afilhamento intenso. Santos *et al.* (2002) obteve índice expressivo para *M. chaseae* na dieta de bovinos, alcançando até 43,9% da composição botânica em análise fecal, sendo classificada como principal e preferida pelo rebanho.

Apesar de outras espécies de *Mesosetum* já demonstrarem indícios de pastejo, no Brasil os estudos com forrageiras nativas ainda são incipientes (Silva 2008) e carecem informações técnicas que atestem com maior precisão o seu potencial.

Micromorfologia do lema fértil

Os estudos em MEV (tabela 4, figura 7, 8, 9) mostram a presença de uma linha de estômatos (tabela 4, figura 7) em cada margem do lema em todas as espécies da seção *Bifaria*. Na base foram observadas diferenças na tampa de germinação. A tampa de germinação de *M. alatum* mostrou-se unilobada e confluyente com as margens do antécio (tabela 4, figura 8 A), a qual é distinta de todas as demais espécies. Para *M. ansatum*, *M. bifarium*, *M. chaseae*, *M. compressum*, *M. elytrochaetum* e *M. longiaristatum* a tampa de germinação mostrou-se bilobada e mais estreita que os bordos (tabela 4, figura 8 B-H).

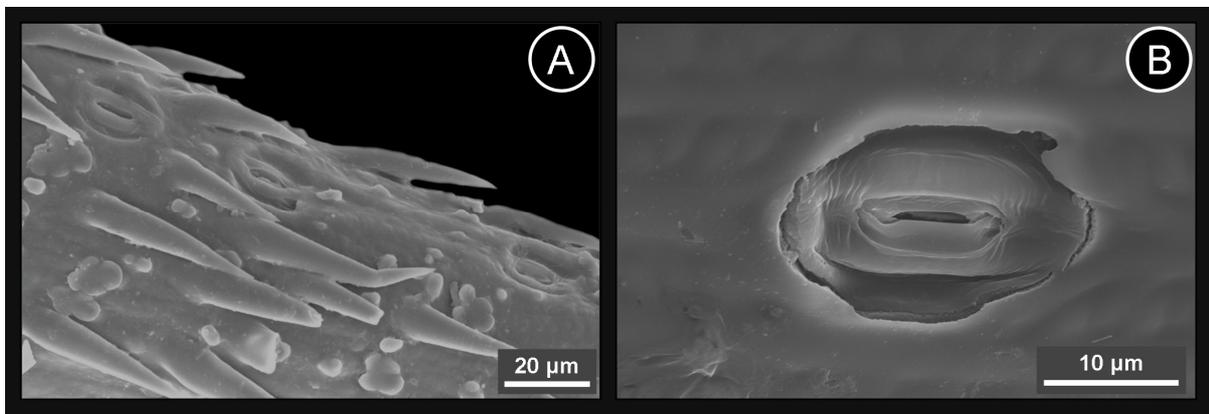


Figura 7. Estômatos vistos na margem do lema fértil em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. A-B. *Mesosetum alatum*, R. C. Oliveira et al. 2765 (UB).

A superfície do terço distal do lema fértil em *M. ansatum* e *M. chaseae* distingue estas duas espécies das demais. Ambas possuem papilas abundantes, simples ou compostas, coalescência presente entre as papilas de maior calibre, células silicosas ausentes e macropelos ausentes ou raros. A combinação destas características somente foi encontrada nestas duas espécies da seção *Bifaria*.

Tabela 4. Diferenças observadas do lema fértil de espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* sob Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

Espécie	Tampa de germinação	Estômatos	Superfície no terço apical
<i>Mesosetum alatum</i> Filg.	Unilobada, confluyente com as magens do lema	Formando uma fileira em cada margem próximo ao ápice	Papilas frequentes, simples, coalescência entre papilas ausente. Células silicosas frequentes. Macropelos frequentes.
<i>Mesosetum ansatum</i> (Trin.) Kuhl.	Bilobada, mais estreita que o lema	Formando uma fileira em cada margem próximo ao ápice	Papilas abundantes, simples ou compostas, coalescência entre papilas presente. Células silicosas ausentes. Macropelos ausentes ou raros
<i>Mesosetum bifarium</i> (Hack.) Chase	Bilobada, mais estreita que o lema	Formando uma fileira em cada margem próximo ao ápice	Papilas frequentes, simples, esféricas, raramente compostas, coalescência entre papilas ausente. Células silicosas ausentes a raras. Macropelos frequentes.
<i>Mesosetum chaseae</i> Luces	Bilobada, mais estreita que o lema	Formando uma fileira em cada margem próximo ao ápice	Papilas abundantes, simples ou compostas, coalescência entre papilas presente. Células silicosas ausentes. Macropelos ausentes ou raros.
<i>Mesosetum compressum</i> Swallen	Bilobada, mais estreita que o lema	Formando uma fileira em cada margem próximo ao ápice	Papilas ausentes a frequentes, simples, coalescência entre papilas ausente. Células silicosas raras a abundantes. Macropelos frequentes
<i>Mesosetum elytrochaetum</i> (Hack.) Swallen	Bilobada, mais estreita que o lema	Formando uma fileira em cada margem próximo ao ápice	Papilas frequentes a abundantes, simples, às vezes compostas, coalescência ausente ou presente. Células silicosas frequentes. Macropelos abundantes
<i>Mesosetum longiaristatum</i> Filg.	Bilobada, mais estreita que o lema	Formando uma fileira em cada margem próximo ao ápice	Papilas raras a frequentes, simples a compostas, coalescência ausente ou presente. Células silicosas ausentes, raras ou frequentes. Macropelos frequentes

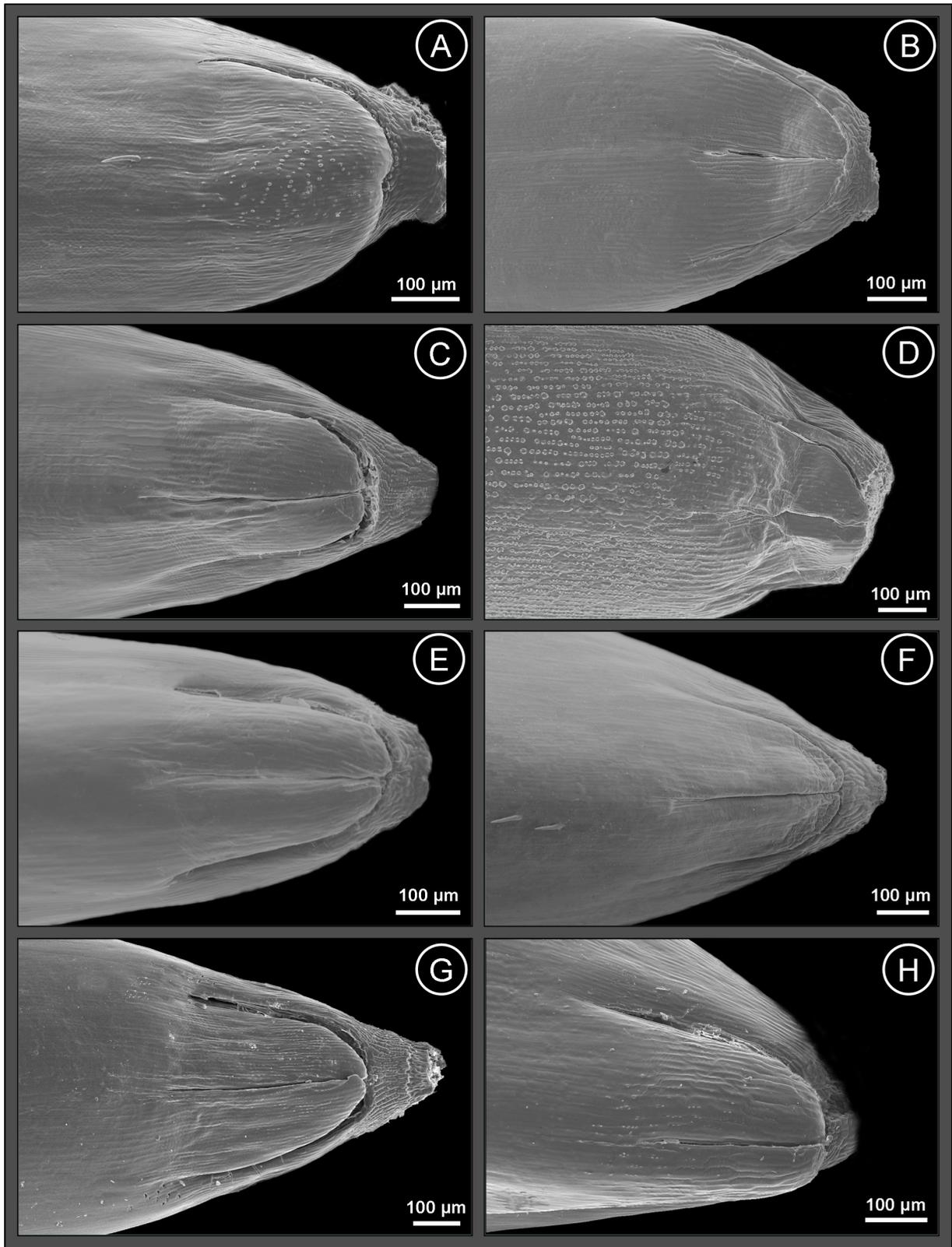


Figura 8. Variação observada para tampa de germinação em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. **A.** *Mesosetum alatum*, H. Jancoski et al. 444 (UB). **B.** *Mesosetum ansatum*, R. C. Oliveira et al. 2766 (UB). **C.** *Mesosetum bifarium*, A. S. Silva et al. 235 (UB). **D.** *Mesosetum chaseae*, R. C. Oliveira et al. 2772 (UB). **E-F.** *Mesosetum compressum*. **E.** G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 68 (IAN). **F.** L. M. Nascimento & A. G. Silva 393 (HUEFS). **G.** *Mesosetum elytrochaetum*, R. C. Oliveira et al. 2722 (UB). **H.** *Mesosetum longiaristatum*, J. F. M. Valls et al. 15841 (CEN).

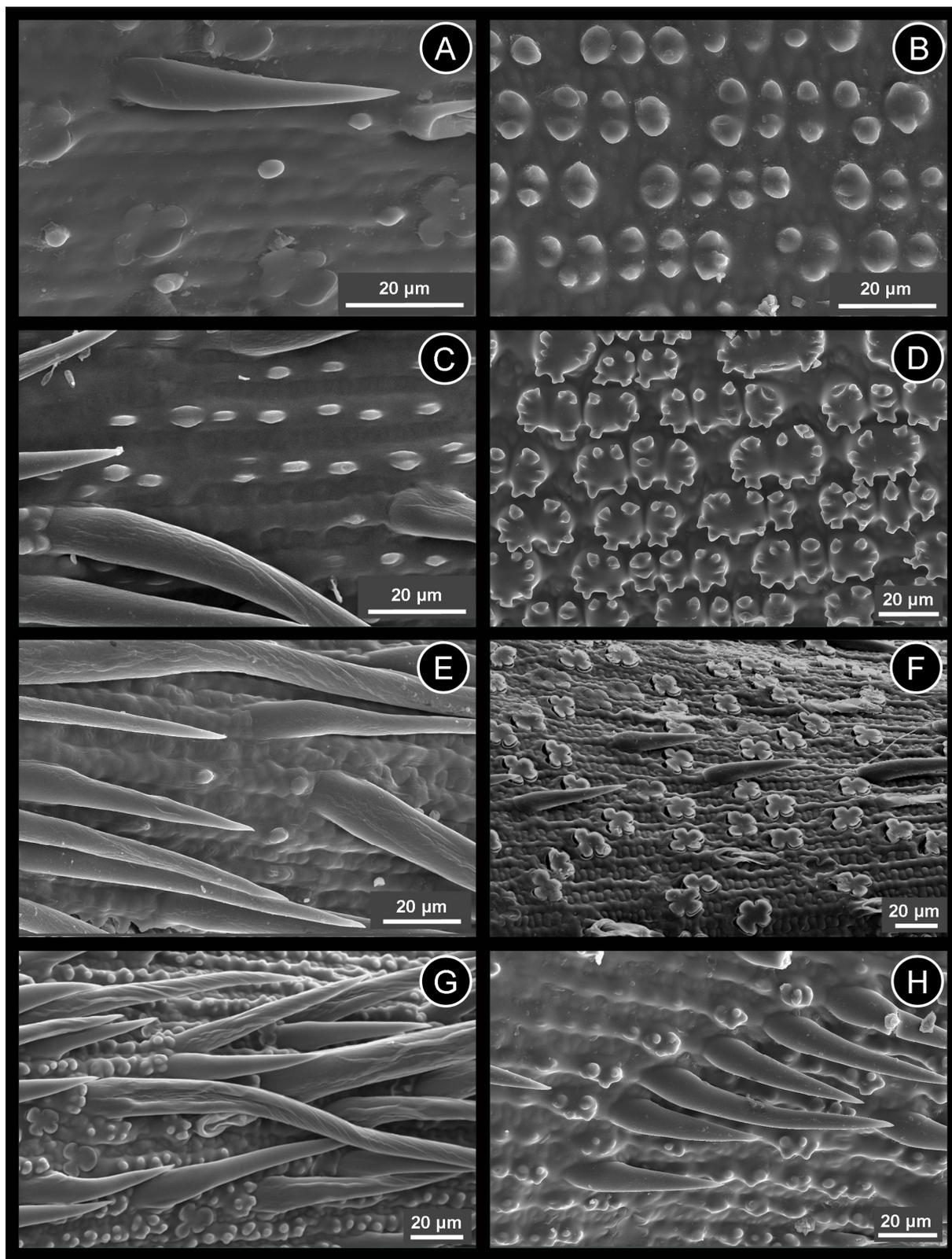


Figura 9. Variação na superfície do terço apical do lema fértil em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). **A.** *Mesosetum alatum*, R. C. Oliveira et al. 2765 (UB). **B.** *Mesosetum ansatum*, R. C. Oliveira et al. 2766 (UB). **C.** *Mesosetum bifarium*, A. S. Silva et al. 235 (UB). **D.** *Mesosetum chaseae*, A. Pott & V. J. Pott, 1771 (CEN). **E-F.** *Mesosetum compressum*. **E.** D. Andrade-Lima et al. 9438 (UB). **F.** G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 495 (IAN). **G.** *Mesosetum elythrochaetum*, H. M. Longhi-Wagner 3934 (IBGE). **H.** *Mesosetum longiaristatum*, J. F. M. Valls et al. 15841 (CEN).

Distribuição geográfica

As novas coletas ampliaram o conhecimento da distribuição geográfica com maior relevância para *M. chaseae* e *M. compressum*. As demais espécies tiveram nova ocorrência registrada apenas em outros municípios dos estados as quais já eram conhecidas.

A distribuição de *M. chaseae* é mais ampla na seção *Bifaria*, ocorrendo em Guianas, Guatemala, Honduras, Paraguai, Trinidad y Tobago e Venezuela. No Brasil era documentada para os estados do Mato Grosso do Sul, Minas Gerais e Roraima. Sua nova ocorrência foi verificada para o estado do Mato Grosso (*R. C. Oliveira et al. 2772*).

Mesosetum compressum é endêmica do Brasil e a localização do seu material tipo era imprecisa: “Inter Pernambuco et Rio”. As novas coleções de *L. M. Nascimento & A.G. Silva 393*, *D. Andrade-Lima et al. 9438* e *D. Andrade-Lima et al. 9615* confirmaram a ocorrência de *M. compressum* no estado de Pernambuco, municípios de Pesqueira e Brejo da Madre de Deus, e não há material proveniente do Rio de Janeiro. Em 1974, Já haviam sido registradas nas coleções de *G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho* (IAN) ocorrência entre Marabá-PA e Estreito-MA, demonstrando uma curiosa disjunção geográfica. Provavelmente, a distribuição geográfica de *M. compressum* será melhor compreendida após maior esforço de coleta na transecta situada entre os estados do Pará e Pernambuco.

A distância entre as populações conhecidas de *M. compressum* geraram diferenças morfológicas conspícuas. As coleções provenientes do estado de Pernambuco possuem gluma superior com macropelos longos apenas nas margens e tufos laterais ausentes; o terço apical do lema fértil observado em MEV, possui superfície com papilas simples, raras a frequentes e células silicosas raras. As coleções provenientes do Pará possuem gluma superior com macropelos longos apenas nas margens e tufos laterais presentes contínuos com as margens; o terço apical do lema fértil observado em MEV, possui superfície com papilas ausentes, e

células silicosas abundantes. A localização de populações entre os dois sítios será indispensável para confirmar esta descontinuidade morfológica.

Mesosetum alatum é endêmica do Brasil. Sua distribuição geográfica é restrita ao estado do Mato Grosso. As coletas da última revisão já citavam ocorrência em Água Boa e Nova Xavantina. A nova coleta de *H. Jancoski et al.* 444 expandiu sua área de ocorrência para o município de Novo Santo Antônio-MT.

Mesosetum ansatum é endêmica do Brasil. Sua ocorrência é restrita ao estado do Mato Grosso. Até então era conhecida somente dos municípios de Cuiabá, Poconé e Santo Antônio do Leverger no estado do Mato Grosso. Recentes coletas revelaram a presença de *M. ansatum* nos municípios de Nossa Senhora do Livramento e Porto Estrela, também na região pantaneira do Mato Grosso.

Mesosetum bifarium é endêmica do Brasil. É restrita ao estado de Goiás, Chapada dos Veadeiros e entorno. Sua ocorrência era conhecida apenas pelo material tipo, que citava estado de Goiás, “Serra da Baliza ad Cachoeira da Vargem Grande” e “ad Fazenda do Cipó”. As novas coleções mostraram ocorrência nos municípios de Alto Paraíso (*S. C Boechat & T. S. Filgueiras 23, 43, 50*), Calvacante (*J. B. Bringel 295*) e Teresina de Goiás (*A. S. Silva et al. 235* e *T. S. Filgueiras & M. L. Fonseca 3019*).

Mesosetum elytrochaetum é endêmica do Brasil e restrita ao estado de Goiás, região da Chapada dos veadeiros e entorno. Tinha ocorrência registrada somente para o município de Alto Paraíso e dados imprecisos citando apenas Chapada dos Veadeiros. Coleções recentes ampliaram sua ocorrência para Teresina de Goiás e Cavalcante.

Mesosetum longiaristatum é endêmica do Brasil, restrita ao estado de Goiás. Sua ocorrência era conhecida apenas para a localidade típica em Flores de Goiás. As novas coleções ampliaram sua distribuição com registros nos municípios de Teresina de Goiás e São Domingos.

1.4 – CONCLUSÃO

A análise das recentes coleções demonstrou que alguns caracteres taxonômicos usados pelas revisões de Swallen (1937) e Filgueiras (1986, 1989) não são mais adequados à distinção das espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*.

No entanto, a observação das espécies em hábitat natural, cultivo de mudas, investigação de caracteres morfológicos não previamente examinados e análise de micromorfologia em MEV demonstraram novas alternativas para distinção das espécies, bem como características da seção *Bifaria* não previamente mencionadas que contrastam com outras seções de *Mesosetum*.

A análise da distribuição geográfica registrou nova ocorrência de *M. chaseae* para o estado do Mato Grosso e elucidou a ocorrência de *M. compressum* para o estado de Pernambuco, cuja informação sugerida pelo holótipo era imprecisa.

Lista de exsicatas:

***Mesosetum alatum* Filg.**

H. Jancoski et al. 444 (CEN, NX, UB)

H. S. Irwin et al. 16467 (IBGE)

J. F. M. Valls et al. 7789 (IBGE)

R. C. Oliveira et al. 2765 (UB)

***Mesosetum ansatum* (Trin.) Kuhl.**

A. Allem & G. Vieira 1661 (CEN)

A. L. Prado 5204 (UFMT)
G. H. Rua et al. 235 (UFMT)
G. H. Rua et al. 957 (UB)
G. H. Rua et al. 965 (UB)
G. H. Rua et al. 977 (UB)
Guarim Neto 722 (UFMT)
J. F. M. Valls et al. 9442 (CEN)
L. Amorim Neto, 9 (UFMT)
L. C. A. Oliveira 2 (IBGE)
L. C. A. Oliveira 3 (IBGE)
M. Schessl 110291-4-2 (CEN)
M. Schessl 181092-177/2 (CEN 51523)
M. Schessl 281092-177/2 (CEN 49562)
M. Schessl 281092-195/1 (CEN, UFMT)
M. Schessl 281092-196/1 (UFMT)
R. C. Oliveira et al. 2766 (UB)
R. C. Oliveira et al. 2773 (UB)
R. C. Oliveira & L. Rebellato 2784 (UB)

***Mesosetum bifarium* (Hack.) Chase**

A. S. Silva et al. 235 (UB)
H. M. Longhi-Wagner 3931 (IBGE)
J. B. Bringel 259 (CEN)
S. C. Boechat & T. S. Filguerias 23 (ICN)
S. C. Boechat & T. S. Filguerias 43 (IBGE, ICN)

S. C. Boechat & T. S. Filgueiras 50 (ICN, SP)

T. S. Filgueiras & M. L. Fonseca 3019 (IBGE)

***Mesosetum chaseae* Luces**

A. Allem & G. Vieira 1152 (CEN)

A. Allem & G. Vieira 1397 (CEN)

A. Allem & G. Vieira 1403 (SP)

A. Pott & V. J. Pott 1771 (CEN, UFMT)

J. Alvarez s.n. (ICN 141806)

J. Alvarez s.n. (ICN 141807)

J. Alvarez s.n. (ICN 141808)

Comastri Filho 38 (CEN)

L. Coradin & M. R. Cordeiro s.n. (IAN 156351)

I. S. Miranda 601 (IBGE)

L. Coradin & M. R. Cordeiro 871 (CEN)

L. Coradin & M. R. Cordeiro 909 (CEN)

R. C. Oliveira et al. 2772 (UB)

S. C. Pereira & M. H. Lagoa 7178 (IBGE)

***Mesosetum compressum* Swallen**

D. Andrade-Lima et al. 9438 (UB)

D. Andrade-Lima et al. 9615 (UB)

G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 25 (IAN)

G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 68 (IAN)

G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 75 (IAN)

G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 103 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 163 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 325 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 332 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 374 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 438 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 448 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 458 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 474 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 495 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 500 (IAN)
G. S. Pinheiro & J. F. Carvalho 600 (IAN)
L. M. Nascimento & A. G. Silva 393 (HUEFS)

***Mesosetum elytrochaetum* (Hack.) Swallen**

C. B. R. Munhoz 2590 (IBGE)
E. P. Santos et al. s.n. (SP, UB)
G. H. Rua 829 (CEN)
H. M. Longhi-Wagner 3934 (IBGE)
H. M. Longhi-Wagner 3934 (ICN)
H. S. Irwin et al. 12543 (UB)
H. S. Irwin et al. 12700 (UB)
H. S. Irwin et al. 32768 (UB)
M. A. Silva et al. 2002 (IBGE ,SP)
R. C. Mendonça. et al. 2740 (SP)

R. C. Oliveira et al. 2546 (UB)
R. C. Oliveira et al. 2722 (UB)
S. Splett 747 (IBGE, UB)
T. B. Cavalcanti et al. 1348 (CEN)
T. S. Filgueiras 404 (UB)
T. S. Filgueiras 1053 (IBGE)
T. S. Filgueiras 479A (IBGE)
T. S. Filgueiras & A. G. Burman 3229 (SP)
T. S. Filgueiras & M. L. Fonseca 3013 (IBGE)
W. R. Anderson 6727 (UB)

***Mesosetum longiaristatum* Filg.**

J. F. M. Valls et al. 15812 (UB)
J. F. M. Valls et al. 15841 (UB)
M. L. Fonseca et al. 5168 (IBGE)
R. C. Oliveira & C. W. Fagg 2816 (UB)
S. S. Silva et al. 23.45-90 (ICN, SP)

1.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allem AC, Valls JFM 1987. Recursos forrageiros nativos do pantanal Matogrossense. EMBRAPA/DID. EMBRAPA/CENARGEN, Documentos 8, Brasília-DF, 339 p.

Davidse G. 1987. Fruit dispersal in the Poaceae. *In*: Grass systematics and evolution (Eds TR Soderstrom, KW Hilu, CS Campbell, MA Barkworth). Smithsonian Inst. Press, Washington DC, p. 143 155.

- Ellis R. 1979. A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the Poaceae. II. The epidermis as seen in surface view. *Bothalia* 12:641-671.
- Filgueiras TS. 1986. O gênero *Mesosetum* Steudel (Gramineae: Paniceae). Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 344 p.
- Filgueiras TS. 1987. Two New Species of *Mesosetum* (Gramineae: Paniceae) from Brazil. *Brittonia* 39(2):306-308.
- Filgueiras TS. 1989. Revisão de *Mesosetum* Steudel (Gramineae: Paniceae). *Acta Amazônica* 19:47-114.
- Filgueiras TS. 2013. *Mesosetum* In Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB013355>. (accessed 2013 Jun. 22).
- Giraldo-Cañas D. 2004. Características Micromorfológicas y Anatómicas de La espiguilla y el antécio superior del género *Digitaria* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). *Caldasia* 26(1): 1-35.
- Giulietti AM, Rapini A, Andrade MJG, Queiroz LP, Silva JMC (orgs.). 2009. Plantas raras do Brasil. Conservação Internacional, Universidade Estadual de Feira de Santana, Belo Horizonte-MG, 496 p.
- Kruckeberg AR, Rabinowitz D. 1985. Biological aspects of endemism in higher plants. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 16:447-479.
- Langhammer PF, Bakarr MI, Bennun LA, Brooks TM, Clay RP, Darwall W, Silva N, Edgar GJ, Eken G, Fishpool LDC, Fonseca GAB, Foster MN, Knox DH, Matiku P, Radford EA, Rodrigues ASL, Salaman P, Sechrest W, Tordoff AW. 2007. Identification and gap analysis of key biodiversity areas: Targets for comprehensive protected area systems. International Union for Conservation of Nature, Gland, Switzerland, xiv + 116p.
- Luces de Febres Z. 1953. Especies de gramíneas nuevas para la ciencia. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales* 15(80):19-20.

- Lyons KG, Brigham CA, Traut BH, Schwartz MW. 2005. Rare species and ecosystem functioning. *Conservation Biology* 19:1019-1024.
- Oliveira RP, Longhi-Wagner HM, Filgueiras TS, Mota AC, Viana PL. 2009. Poaceae. *In* Plantas raras do Brasil (AM Giulietti, A Rapini, MJG Andrade, LP Queiroz, JMC Silva, orgs). Conservação Internacional, Universidade Estadual de Feira de Santana, Belo Horizonte-MG, p. 332.
- Radford AE, Dickison WC, Massey JR, Bell CR. 1974. *Vascular Plants Systematics*. Harper e How, New York, 891 p.
- Santos AS, Costa C, Souza GS. 2002. Qualidade da dieta selecionada por bovinos no Pantanal da sub-região da Nhecolândia. *Revista Brasileira de Zootecnia* 31(4):1663-1673.
- Silva LAC. 2008. Qualidade de sementes da grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae* Luces) na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, MS. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 55 p.
- Soderstrom TR, Zuloaga FO. 1989. A Revision of the Genus *Olyra* and the New Segregate Genus *Parodiolyra* (Poaceae: Bambusoideae: Olyreae). *Smithsonian Contributions to Botany*, Washington, D.C, n. 69, 79 p.
- Swallen JR. 1937. The grass genus *Mesosetum*. *Brittonia* 2(4):363-392.
- Swallen JR. 1950. New Grasses from Mexico, Central America and Surinam. *Contributions from the United States National Herbarium* 29:395-428.
- Thiers B. 2013. *Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff*. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/> (accessed 2013 Jan. 02).
- Valls JFM, Ramos DM, Peñaloza APS, Santos S. 2009. Nota sobre a ocorrência e distribuição geográfica de *Mesosetum sclerochloa* (Trin.) Hitchc., gramínea brasileira com raríssimas coletas. *Anais do 60º Congresso Nacional de Botânica*.

Walter BMT, Cavalcanti TB. 2005. Fundamentos para a coleta de germoplasma vegetal.
Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, 778 p.

Capítulo 2

Novo número cromossômico em Poaceae Neotropical e Paniceae *s.l.*

Capítulo 2 – Novo número cromossômico em Poaceae Neotropical e Paniceae s.l.

RESUMO: O número cromossômico ancestral de Poaceae e sua tendência de evolução têm sido objeto de considerável especulação. Para o gênero *Mesosetum* Steud., as contagens cromossômicas eram restritas a 3 espécies, todas citando $2n=16$ cromossomos. O único estudo sobre megagametófito sugeriu modo de reprodução sexual em *Mesosetum*. Os objetivos do presente trabalho foram determinar o número cromossômico, comportamento meiótico e observar o saco embrionário em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase. Foi registrado número cromossômico de $2n=8$ para as espécies *M. alatum* Filg., *M. ansatum* (Trin.) Kuhl. e *M. longiaristatum* Filg., inédito nas Poaceae Neotropicais e tribo Paniceae s. l. Foram observados sacos embrionários tipo *Polygonum*, sugerindo modo de reprodução sexual para *M. ansatum*.

Palavras-chave: Comportamento meiótico, modo de reprodução, mitose

ABSTRACT: The chromosome number of ancestral Poaceae and its evolutionary trend has been the subject of considerable speculation. For *Mesosetum* Steud., chromosome counts were restricted to three species, all citing $2n=16$ chromosomes. The only study about megagametophyte suggested sexual reproduction mode in *Mesosetum*. The aims of the present study were to determine the chromosome number, meiotic behavior and to analyze the embryo sac in *Mesosetum* sect. *Bifaria* (Hack.) Chase. Chromosome number $2n=8$ was found *M. alatum* Filg., *M. ansatum* (Trin.) Kuhl. and *M. longiaristatum* Filg. and recorded for first time in Neotropical Poaceae and Paniceae s. l. Embryo sacs *Polygonum* type were identified suggesting sexual reproduction mode to *M. ansatum*.

Keywords: Meiotic behavior, reproduction mode, mitosis

2.1 – INTRODUÇÃO

O conhecimento do número cromossômico e o comportamento meiótico são essenciais para a compreensão da filogenia das plantas vasculares (Raven 1975). A poliploidia é uma característica comum entre as Poaceae, mas as informações são insuficientes, principalmente, no que tange as espécies tropicais e subtropicais (Honfi *et al.* 1991). Essa falta de informação limita a compreensão dos padrões no número cromossômico da família.

O número cromossômico ancestral de Poaceae e sua tendência de evolução têm sido objeto de considerável especulação (Hilu 2004). Entre as espécies de Poaceae o número cromossômico básico varia de $x=2$ a $x=18$, com números somáticos variando de $2n=4$ a $2n=263-265$ (De Wet 1987, Hilu 2004).

De Wet (1987) especulou que os maiores grupos de Poaceae derivaram-se independentemente de um complexo original de espécies com $x=5$, $x=6$ e $x=7$. Após um processo de diploidização no nível tetraploide, surgiram os números básicos secundários de $x=10$, $x=12$ e $x=14$.

Hilu (2004), investigando a relação dos gêneros basais de Poaceae, *Anomochloa* Brongn. e *Streptochaeta* Schrad. ex Nees, com os grupos irmãos, Ectociaceae, Joinvilleaceae e Restionaceae, cita $x=11$ como número básico ancestral de Poaceae.

Na subfamília Panicoideae, dados citológicos combinados com filogenias moleculares, indicam a hipótese que $x=11$ é o número básico ancestral desta subfamília, do qual derivaram-se, sucessivamente, por aneuploidia, os números $x=10$, $x=9$ e $x=5$. Após eventos de alopoliploidia o número básico de $x=10$ foi restaurado a partir de $x=5$ (Hilu 2004).

Nas maiores tribos de Panicoideae, Paniceae *s.l.* e Andropogoneae, predominam $x=9$ e $x=10$. Em Paniceae *s.l.*, 21% das espécies contém $x=10$, enquanto que no restante da tribo predomina $x=9$ (Hilu 2004).

A filogenia mais completa de Paniceae proposta por Morrone *et al.* (2012), dividiu a tribo em dois clados. O primeiro, Paniceae *s.s.*, com $x=9$, engloba as espécies Pantropicais e o segundo, *Paspaleae*, com $x=10$, inclui as espécies Americanas.

Esta mesma filogenia (Morrone *et al.* 2012) incluiu o gênero *Mesosetum* no clado $x=10$, subtribo Arthropogoninae. Este subclado já havia sido denominado como “ambiguous clade” pela filogenia de Giussani *et al.* (2001), que citou número básico de $x=8$ para *Mesosetum*. Ambas as filogenias basearam-se em apenas uma espécie do gênero, *M. chaseae* Luces, não tecendo comentários acerca da origem do número básico $x=8$.

Os parâmetros fornecidos por estudos citogenéticos são recursos fundamentais para a filogenia e também para a compreensão dos limites taxonômicos das espécies (Stace 2000). Diferenças morfológicas podem ser reflexo de variações no número cromossômico, cariótipo, comportamento meiótico, tornando a citogenética, de grande valor taxonômico.

A delimitação de espécies necessita também do conhecimento do modo reprodutivo. As populações apomíticas tendem a ser mais homogêneas que as sexuais e alógamas, visto que na via apomítica os embriões possuem constituição genética idêntica à planta mãe (Koltunow 1993, Bicknell & Kotunow 2004). No entanto, a apomixia facultativa é a mais comum, conferindo certo grau de sexualidade aos indivíduos, além de recombinação e fluxo gênico entre as populações (Savidan *et al.* 2001).

Uma relação entre o nível de ploidia e o modo de reprodução tem sido documentada em Poaceae. Em *Panicum* L., *Paspalum* L. e *Urochloa* P. Beauv., vários estudos demonstraram que os diploides reproduzem-se pela via sexual, enquanto os poliploides, preferencialmente, pela via apomítica (Valle & Savidan 1996, Carnahan & Hill 1961, Valle & Glienke 1991, Quarín & Norrmann 1990).

Uma das maneiras de se determinar o modo de reprodução é a partir da caracterização morfológica da estrutura do gametófito feminino, ou saco embrionário, durante seu

desenvolvimento. De acordo com a organização e distribuição dos núcleos, os sacos embrionários podem ser classificados em *Polygonum* ou *Panicum*.

O saco tipo *Polygonum*, oriundo da meiose regular do megasporócito, contém normalmente 8 núcleos, entre os quais 3 antípodas localizadas na região chalazal, 2 núcleos polares na célula central e 2 sinérgides mais uma oosfera na região micropilar (Bashaw 1980). Em Poaceae, as antípodas são frequentemente proliferadas (Koltunow 1993)

A agamospermia em Poaceae, geralmente, é apospórica ou diplospórica. Os óvulos resultantes da aposporia são caracterizados pela presença de um a múltiplos sacos embrionários não-reduzidos de morfologia distinta, denominados tipo *Panicum*. Este tipo é formado por uma célula inicial apospórica que sofre duas mitoses sucessivas e forma o saco embrionário não-reduzido o qual contém a oosfera, duas sinérgides e a célula central com apenas um núcleo polar. A ausência de antípodas na região chalazal distingue o saco do tipo *Panicum* do tipo *Polygonum* (Koltunow 1993, Araújo *et al.* 2004, 2005).

Os sacos embrionários diplospóricos têm morfologia similar ao tipo *Polygonum*, mas podem ser distinguidos pelo embrião, que sofre a diferenciação sem que haja a fertilização da oosfera (Koltunow 1993). Ma *et al.* (2009) sugere a ocorrência de “*pre-embryo*” – termo utilizado para denominar os embriões desenvolvidos antes da polinização – como diagnóstico de diplosporia em Panicoideae. Este parâmetro pode ser usado também para diferenciá-lo do saco *Polygonum*.

Para o gênero *Mesosetum*, as informações encontradas na literatura, sobre o número cromossômico e modo de reprodução eram restritas a três espécies: *Mesosetum chaseae* Luces, *M. loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase e *M. pittieri* Hitchc. (Gould 1966; Gould & Soderstrom 1967; Pohl & Davidse 1971; Davidse & Pohl 1972; Sede *et al.* 2010; Silva *et al.* 2012). Destas, somente *M. chaseae* pertence à seção *Bifaria*. Todas as contagens registram $2n=16$ cromossomos, com exceção de *M. loliiforme* de $2n=32$ (16 bivalentes) citada por Sede

et al. (2010), embora haja incoerências nesta última citação. O número básico de $x=8$ cromossomos foi sugerido para o gênero. O pouco conhecimento citológico para *Mesosetum* e a necessidade de confirmação deste número básico para outras espécies já era apontado por Filgueiras (1986).

No único estudo de megagametófito feito no gênero, Silva (2012) encontrou saco embrionário do tipo *Polygonum*, sugerindo reprodução sexual para *M. chaseae*. A identificação do modo reprodução contribuiria com a delimitação taxonômica das espécies e uma futura identificação da apomixia teria aplicação nos programas de melhoramento genético como meio de fixar características agronômicas desejáveis, uma vez que já é comprovado o potencial forrageiro do gênero (Silva 2008). A determinação do número cromossômico combinada a análises de saco embrionário será fundamental para avaliar se há variação no modo de reprodução entre os diferentes níveis de ploidia em *Mesosetum*, bem como para complementar dados de filogenia e evolução do número cromossômico em Paniceae como um todo.

Este trabalho teve como objetivos primordiais fornecer dados inéditos do número cromossômico de espécies da seção *Bifaria*, avaliar o comportamento meiótico no maior número de espécies possíveis e investigar o modo de reprodução por meio de caracterização do saco embrionário em pelo menos um indivíduo de número cromossômico distinto.

2.2 – MATERIAL E MÉTODOS

Os estudos citológicos e reprodutivos foram realizados em três espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*, *M. alatum* Filg., *M. ansatum* (Trin.) Kuhl e *M. longiaristatum*, em um total de cinco *vouchers* (tabela 1). O material analisado é proveniente de coletas realizadas em diferentes unidades federativas de modo a ampliar a área de distribuição geográfica conhecida dos representantes de *Mesosetum* sect. *Bifaria*. No período de outubro de 2011 a maio de

2013, foram realizadas expedições de coleta no Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Pará e Tocantins.

Os coletores participantes das expedições de campo foram designados pelas seguintes siglas: RCO: Regina Célia de Oliveira; AROR: André Rodolfo de Oliveira Ribeiro; ALHS: André Luiz Henrique da Silva; CWF: Christopher William Fagg; LR: Luciana Rebellato; PAR: Priscila Alves dos Reis.

As mudas foram plantadas e mantidas em telado da Universidade de Brasília e da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF. As coletas foram acompanhadas de espécimes *vouchers* incorporados aos herbários CEN e UB (acrônimos disponibilizados em Thiers (2013)) e duplicatas serão distribuídas.

O número cromossômico foi determinado em células mitóticas de pontas de raízes e/ou em células mãe-de-pólen. As pontas de raízes coletadas foram pré-tratadas com solução saturada de α -bromonaftaleno por 2h à temperatura ambiente, em seguida fixadas em 3:1 (etanol:ácido acético, v/v) durante 24h e após estocadas a 4°C até análise (Pozzobon & Valls 1997). A coloração foi feita com reagente de Schiff pelo método de Feulgen. As lâminas foram preparadas por esmagamento do meristema, previamente amolecido com pectinase-celulase 20-2 % em 1 gota de carmim-acético 2%. No mínimo 10 células em metáfases e com bom espalhamento cromossômico foram observadas.

Para meiose, foram usadas amostras de inflorescências coletadas diretamente no campo e telado que foram fixadas em solução 3:1 (etanol: ácido acético, v/v) por 24h e após transferidas para álcool 70% e, posteriormente, estocadas a 4°C, até a análise. Na confecção das lâminas as anteras foram esmagadas e coradas com carmim propiônico ou carmim acético, ambos a 2%. O comportamento meiótico foi determinado pela análise de pelo menos 200 células em cada fase, desde a diacinese até tétrade.

Para as análises do saco embrionário, inflorescências em antese foram coletadas e fixadas em uma solução contendo formaldeído 40%, ácido acético, etanol 50% (5:5:90 v/v) por 24h a 4°C e mantidos em etanol 70% a 4°C. Os ovários foram isolados e desidratados gradualmente em uma bateria crescente de soluções de etanol (80, 90, 95 e 100%), clarificados lentamente em soluções de xilol:metilsalicitato em proporções crescentes de metilsalicitato (3:1, 1:1 e 1:3) e por fim em metilsalicitato puro. Observações do número de sacos embrionários por óvulo, sua estrutura e tipos e número de células componentes em 40 ovários de *Mesosetum ansatum*, população RCO 2766, foram realizadas em microscópio Zeiss Axiophot usando DIC (Araújo *et al.* 2004).

2.3 – RESULTADOS

Número cromossômico

O número cromossômico determinado para as espécies pode ser observado na tabela 1 e figura 1. Todas as contagens são inéditas para as espécies analisadas, assim como o número $2n=8$ cromossomos para o gênero *Mesosetum*.

Para *M. alatum*, o comprimento dos cromossomos variou entre 3,65 e 6,19 μm (figura 1A). Um par cromossômico claramente satelitado foi identificado, com satélite variando de 1,26 a 1,56 μm .

Em *M. ansatum*, o número cromossômico foi determinado para três populações, RCO 2766, RCO 2773 e RCO 2816. Em RCO 2766 foi possível a observação dos cromossomos em mitose. O comprimento dos cromossomos mitóticos em RCO 2766 variou de 3,28 a 5,44 μm (figura 1D). Um cromossomo satelitado foi identificado, com satélite medindo comprimento 0,57 μm .

Tabela 1. Contagens cromossômicas em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*, número do coletor e local de coleta.

Espécie	Voucher	Contagem	Local de Coleta
<i>M. alatum</i> Filg.	RCO 2765, AROR, ALHS & PAR	2n=8	Brasil, Mato Grosso, Água Boa, 14°18'45" S, 52° 10' 05"W, BR 158, a 51 km de Nova Xavantina, 24/V/2012.
<i>M. ansatum</i> (Trin.) Kuhl.	RCO 2766, AROR, ALHS, PAR	2n=8	Brasil, Mato Grosso, Poconé, 16° 21' 04" S, 56° 29' 05" W, Porto Cercado, a 20 km da cidade, na margem da estrada, 25/V/2012.
	RCO 2773, AROR, ALHS & PAR	2n=8	Brasil, Mato Grosso, Poconé, 16° 20' 10" S, 56° 18' 06" W, Fazenda Nossa Senhora Aparecida, 26/V/2012.
	RCO 2784 & LR	2n=8	Brasil, Mato Grosso, Chapada dos Guimarães, Cachoeira do Reino, 15/XI/2012.
<i>M. longiaristatum</i> Filg.	RCO 2816 & CWF	2n=8	Brasil, Goiás, Teresina de Goiás, 20 km de Teresina, 2 km antes do Córrego Siriema, 13° 37' 44" S, 47° 12' 41" W, 19/III/2013.

Em *M. longiaristatum*, RCO 2816, a contagem cromossômica foi possível somente em meiose (figura 5), por ser espécie anual com baixo volume radicular produzido por suas mudas. Os cromossomos observados possuem tamanho similar aos da meiose de *M. ansatum*.

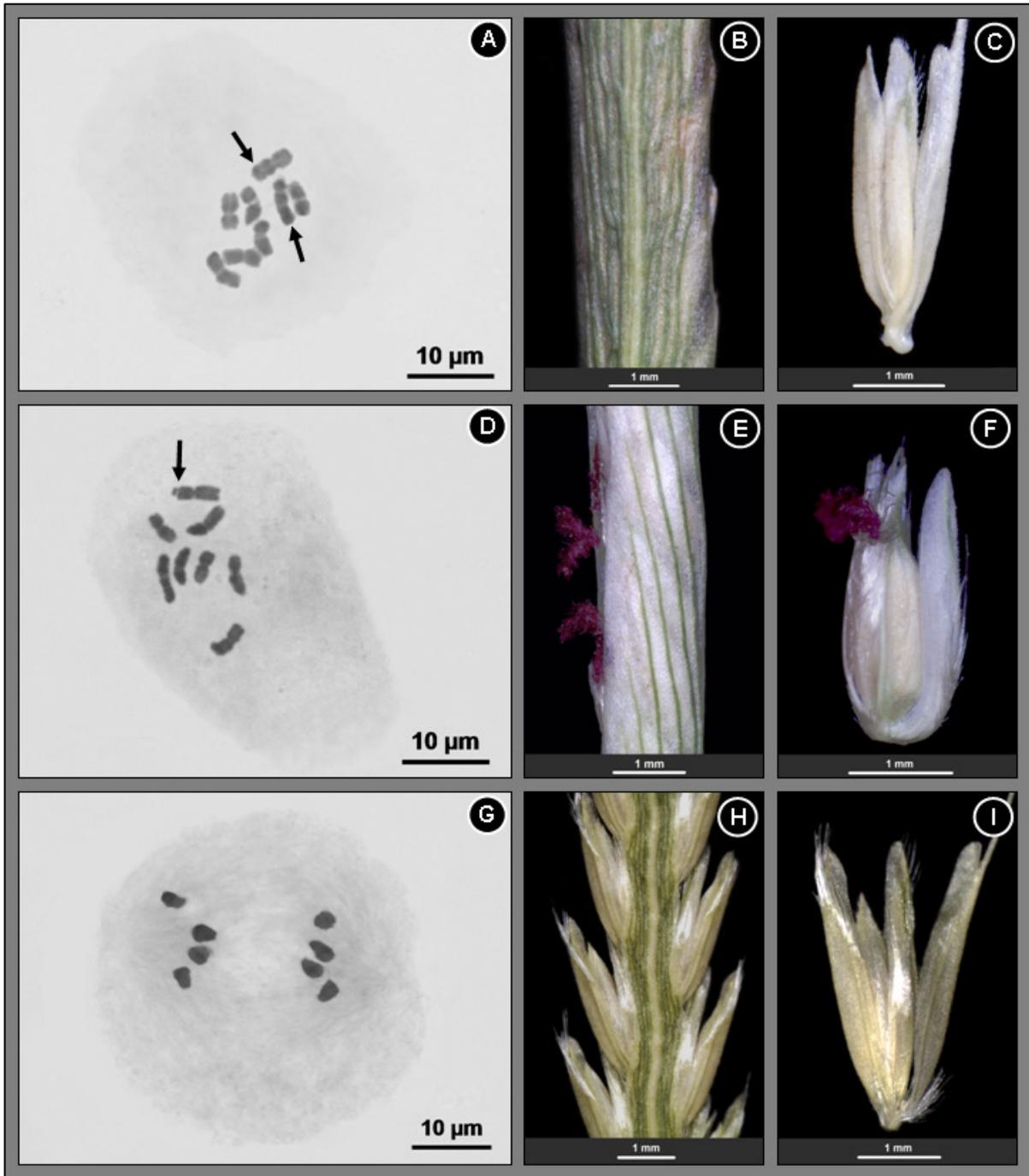


Figura 1. Contagens cromossômicas em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* e sua respectiva morfologia. **A-C.** *Mesosetum alatum*, RCO 2765. **A.** Metáfase mitótica (setas indicando cromossomos satelitados). **B.** Segmento da inflorescência em vista dorsal. **C.** Espigueta. **D-F.** *Mesosetum ansatum*, RCO 2766. **D.** Metáfase mitótica (seta indicando cromossomo satelitado). **E.** Segmento da inflorescência em vista lateral. **F.** Espigueta (notar estigmas vináceos). **G-I.** *Mesosetum longiaristatum*, RCO 2816. **G.** Anáfase I, meiose. **H.** Segmento da inflorescência em vista dorsal. **I.** espigueta.

Comportamento Meiótico

O comportamento meiótico foi analisado para RCO 2766 em *M. ansatum* e para RCO 2816 em *M. longiaristatum*. As análises mostraram comportamento meiótico regular (tabela 2) com pareamento em 4 bivalentes, configuração cromossômica predominante de 4 bivalentes em anel, ou 3 em anel e 1 em bastão (figura 2A-B, 3A).

Para *M. ansatum*, foram analisados e interpretados 2099 microsporócitos em diferentes fases (tabela 2). Obteve-se 100% de regularidade para as fases de diacinese, anáfase I, prófase II e telófase II. Foram observadas duas únicas células em metáfase I com ascensão precoce de 1 par (figura 2C) e apenas uma em telófase I com cromossomo retardatário (figura 2F). Nas demais etapas da meiose II observaram-se somente assincronias (figura 2I e K). O índice meiótico (Love 1949), que representa a percentagem de tétrades de pólen normais, foi de 96,41%, mostrando estabilidade meiótica.

Tabela 2. Comportamento meiótico de *Mesosetum ansatum*, RCO 2766.

Fase	Total de células	Irregulares	Irregularidade
Diacinese	310	0	0,00%
Metáfase I	216	2	0,93%
Anáfase I	266	0	0,00%
Telófase I	205	1	0,49%
Prófase II	235	0	0,00%
Metáfase II	245	3	1,22%
Anáfase II	201	4	1,99%
Telófase II	206	0	0,00%
Tétrade	223	8	3,72%
Total	2099	18	0,86%

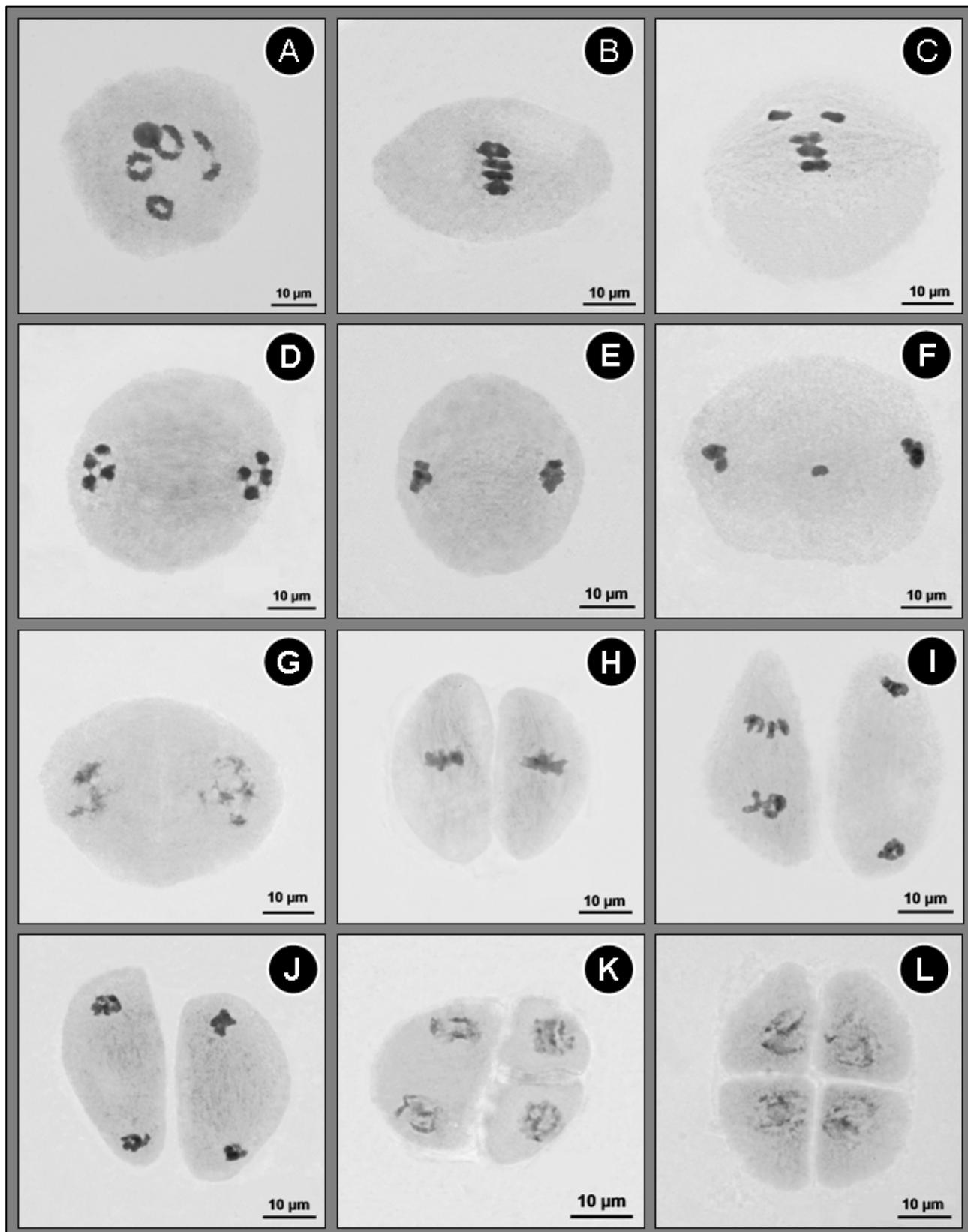


Figura 2. Comportamento meiótico de *Mesosetum ansatum*, RCO 2766. **A.** diacinese. **B-C.** metáfase I. **B.** regular. **C.** com ascensão precoce de 1 par. **D.** anáfase I. **E-F.** telófase I. **E.** regular. **F.** com retardatório. **G.** prófase II. **H.** metáfase II. **I.** anáfase II com assincronia. **J** telófase II. **K-L.** tétrade. **K.** com divisão assincrônica. **L.** regular.

Para *M. longiaristatum*, foram analisados e interpretados 1946 microsporócitos (tabela 4, figura 5). Obteve-se 100% de regularidade em todas as fases examinadas com exceção de duas anáfases I com ponte (figura 4 D). O índice meiótico foi de 100%, sugerindo estabilidade da meiose.

Tabela 3. Comportamento meiótico em *Mesosetum longiaristatum*, RCO 2816.

Fase	Total de células	Irregulares	Irregularidade
Diacinese	226	0	0,00%
Metáfase I	216	0	0,00%
Anáfase I	210	2	0,95%
Telófase I	223	0	0,00%
Prófase II	211	0	0,00%
Metáfase II	215	0	0,00%
Anáfase II	216	0	0,00%
Telófase II	209	0	0,00%
Tétrade	220	0	0,00%
Total	1946	2	0,10%

Saco Embrionário

A análise de saco embrionário foi possível somente para *M. ansatum*, RCO 2766, tendo em vista o raro florescimento em condições de telado para as demais espécies. Nas análises morfológicas em microscopia DIC, dos 40 ovários examinados, 30 permitiram visualização das estruturas do óvulo, identificação e contagem das células no saco embrionário (tabela 4). Todos os óvulos apresentaram apenas um saco embrionário (figura 4).

Foram observados dois núcleos polares na célula central da maioria dos sacos embrionários analisados, o que é característico de saco embrionário do tipo *Polygonum* (figura 4). Esses dados sugerem o modo de reprodução do tipo sexual.

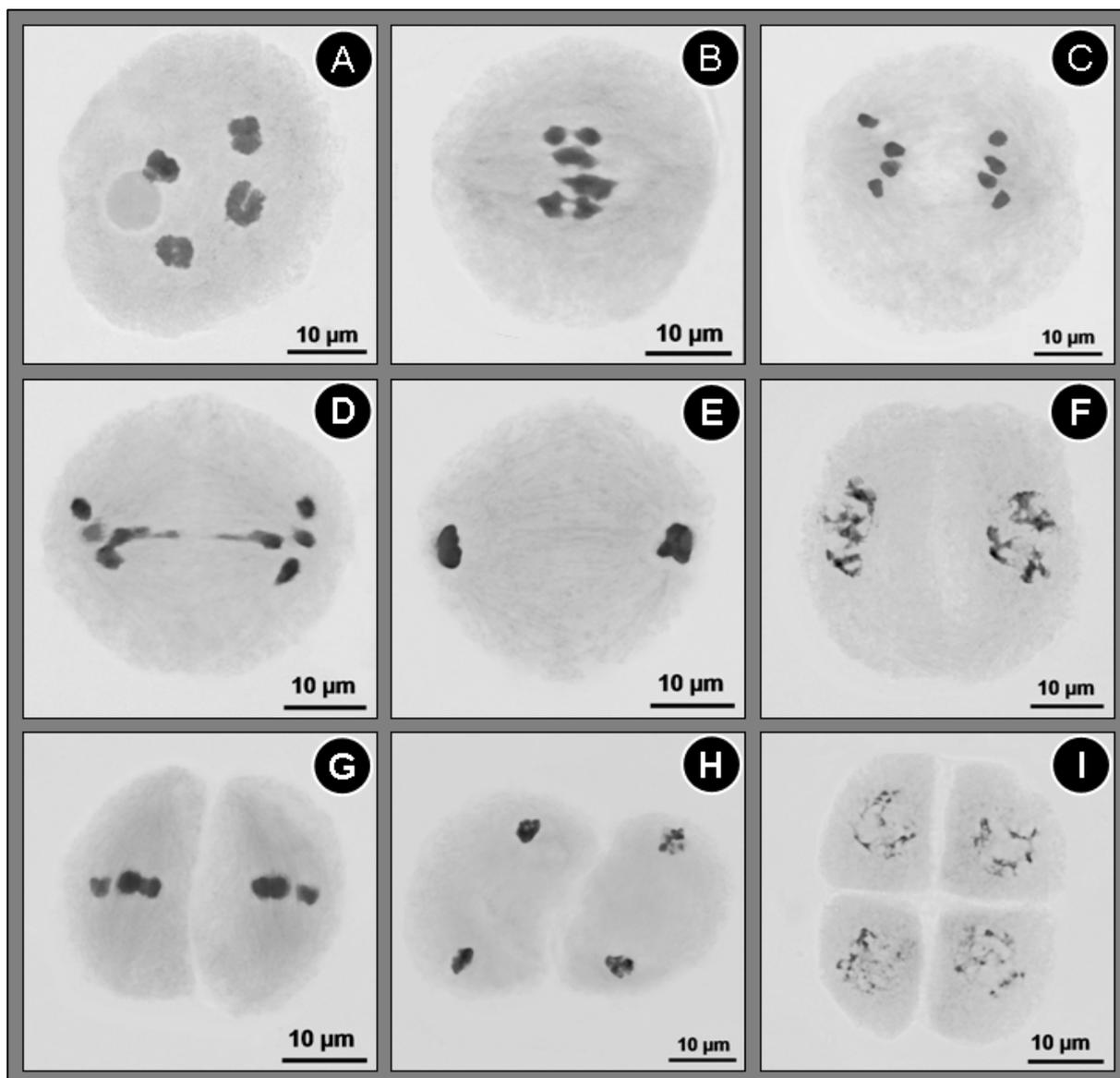


Figura 3. Comportamento meiótico de *Mesosetum longiaristatum*, RCO 2816. **A.** Diacinese. **B.** Metáfase I. **C-D.** Anáfase I. **C.** Regular. **D.** Com ponte. **E.** Telófase I. **F.** Prófase II. **G.** Metáfase II. **H.** Telófase II. **I.** Tétrade.

Tabela 4. Número e tipo de células observadas em cada saco embrionário de *Mesosetum ansatum*, RCO 2766.

Nº de ordem	Antípodas	Núcleos polares	Sinérgides	Oosfera
1	6	2	2	1
2	6	ND	ND	ND
3	7	ND	ND	ND
4	7	2	ND	ND
5	4	1	2	1
6	8	2	2	1

7	5	2	ND	ND
8	7	2	2	1
9	9	2	ND	1
10	7	2	ND	1
11	ND	ND	ND	ND
12	ND	NV	ND	ND
13	8	1	ND	ND
14	12	2	2	1
15	7	2	2	1
16	ND	ND	ND	ND
17	6	2	1	1
18	7	2	ND	ND
19	15	2	ND	ND
20	7	2	ND	1
21	ND	ND	ND	ND
22	7	2	1	1
23	ND	ND	ND	ND
24	ND	ND	ND	ND
25	10	2	ND	ND
26	6	2	ND	ND
27	6	2	2	1
28	9	2	1	1
29	8	2	2	1
30	8	2	ND	1
31	11	2	2	1
32	8	ND	ND	ND
33	ND	ND	ND	ND
34	ND	ND	ND	ND
35	11	ND	ND	ND
36	ND	ND	ND	ND
37	11	ND	ND	ND
38	6	2	2	1
39	ND	ND	ND	ND
40	8	2	ND	ND

ND - Não determinado (óvulo colapsado, imaturo ou não clareado).

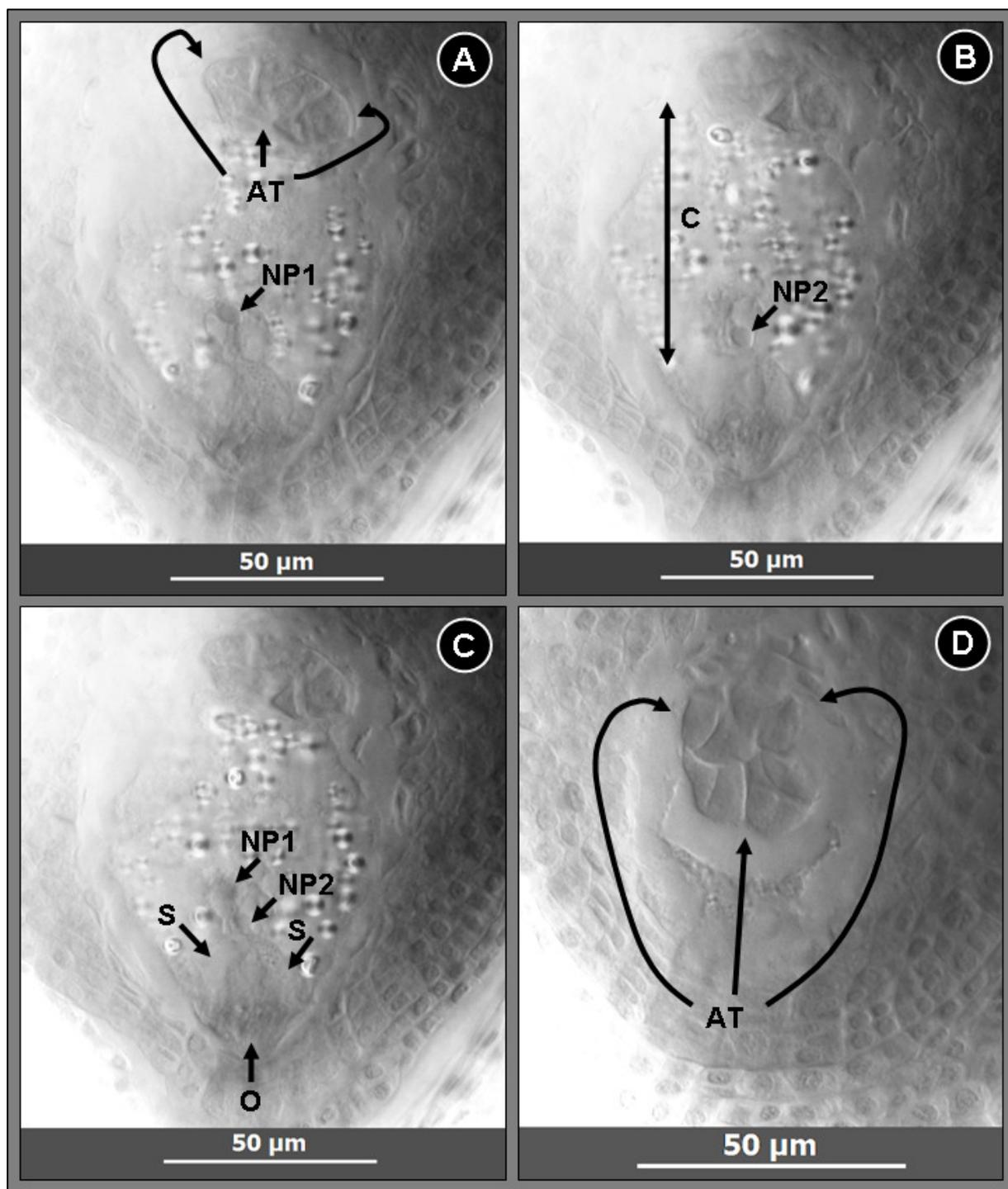


Figura 4. Micrografia de óvulo clareado, mostrando o saco embrionário de *Mesosetum ansatum*, RCO 2766. **A-C.** saco embrionário do ovário 15 (tabela 4). **D.** Saco embrionário aberrante do ovário 19 (tabela 4). AT: antípodas, NP1 e 2: núcleos polares na mesma célula central (C), S: sinérgides, O: oosfera;

Ocorrem, na maioria dos óvulos, grandes vacúolos circundando os sacos embrionários e também entre a célula central e as antípodas. Chamam a atenção também as volumosas

antípodas de formato angular, proliferadas, as quais variaram em número, de 4 a 15, com a maioria dos óvulos apresentando 6-8 antípodas. A célula central mostrou-se sempre preenchida por vesículas esféricas de aspecto cristalino e núcleos polares na porção micropilar da célula. Algumas vezes, a oosfera e sinérgides não puderam ser claramente identificadas devido à proximidade entre si e com células da micrópila bem como pelas características citoplasmáticas e limites sutis. No ovário 19 foi observado um saco embrionário aberrante, sem núcleos polares, sinérgides ou oosfera e com 15 antípodas.

2.4 – DISCUSSÃO

Apresenta-se pela primeira vez, o número cromossômico $2n=8$ para *M. alatum* e *M. ansatum*, que são perenes e *M. longiaristatum*, espécie anual, o que sugere um número básico de $x=4$, inédito em *Mesosetum*.

Com base nos dados disponibilizados por Goldblatt & Johnson (2013) e revisão de literatura, $2n=8$ cromossomos é raro em Poaceae, sendo registrado para sete gêneros, seis pertencentes à tribo Poeae e um à tribo Andropogoneae. Todas as contagens de $2n=8$ são de espécies distribuídas pelo Velho Mundo e Oceania (tabela 5), com maior número de referências para a região holártica e temperada boreal (Watson & Dallwitz 2012, Clayton *et al.* 2013). Desta forma, relata-se, pela primeira vez, o número $2n=8$ cromossomos em espécies de Poaceae do Neotrópico e também, da tribo Paniceae *s.l.*

Tabela 5. Espécies de Poaceae com 2n=8 cromossomos.

Espécie	Gam.	Esp.	Tribo*	Referência
<i>Airopsis tenella</i> (Cav.) Asch. & Graebn.	n = 4	2n = 8	Poeae	Fernandes & Queiros (1969), Albers (1975), Albers (1980), Devesa <i>et al.</i> (1990b).
<i>Colpodium chionogeton</i> (Pilg.) Tzvelev		2n = 8	Poeae	Hedberg & Hedberg (1994).
<i>Colpodium hedbergii</i> (Melderis) Tzvelev		2n = 8	Poeae	Hedberg & Hedberg (1994).
<i>Holcus gayanus</i> Boiss.	n = 4	2n = 8	Poeae	Devesa <i>et al.</i> (1990a), Caixinhas <i>et al.</i> (1991).
<i>Iseilema laxum</i> Hack.		2n = 8	Andropogoneae	Celarier (1957), Rao (1975).
<i>Milium vernale</i> M. Bieb.		2n = 8	Poeae	Tutin (1982), Bennett & Thomas (1991), Bennett <i>et al.</i> (1992).
<i>Milium vernum</i> M. Bieb.		2n = 8	Poeae	Thomas (1984).
<i>Periballia laevis</i> (Brot.) Asch. & Graebn.		2n = 8	Poeae	Albers (1980).
(como <i>Molineriella laevis</i> (Brot.) Rouy)	n = 4		Poeae	Devesa <i>et al.</i> (1990b).
<i>Periballia minuta</i> (L.) Asch. & Graebn.		2n = 8	Poeae	Albers (1980).
(como <i>Molineriella minuta</i> subsp. <i>australis</i> (Paunero) Rivas Mart.)	n = 4		Poeae	Devesa <i>et al.</i> (1990a).
e <i>Molineriella minuta</i> subsp. <i>minuta</i> (L.) Rouy)		2n = 8	Poeae	Devesa <i>et al.</i> (1990a).
<i>Zingeria pisidica</i> (Boiss.) Tutin		2n = 8		Kim <i>et al.</i> (2009).
<i>Zingeria trichopoda</i> (Boiss.) P.A. Smirn.		2n = 8	Poeae	Sokolovskaya & Probatova (1979), Davlianidze (1985), Ghukasyan (2003), Kotseruba <i>et al.</i> (2003), Ghukasyan (2004), Rodionov <i>et al.</i> (2006).

Gam: Gametófito, Esp: Esporófito. *Fonte: USDA & ARS (2013).

Mesosetum foi incluído na filogenia de Morrone (2012) no clado de $x=10$, porém o autor não discute acerca da origem de este número. Esta filogenia, apesar de ser a mais completa para a tribo, contém somente em uma espécie do gênero, *M. chaseae*. A descoberta de $x=4$ reforça ainda mais a necessidade de estudos citogenéticos em Paniceae e *Mesosetum*, para melhor compreensão das relações evolutivas do número cromossômico entre as espécies de Poaceae.

Nos gêneros *Zingeria* P.A. Smirn. e *Colpodium* Trin., tribo Poeae, as espécies com $2n=8$ cromossomos surgiram de ancestrais com número cromossômico menores $2n=4$, $x=2$ (Kim *et al.* 2009). Este é o menor número cromossômico conhecido entre as Angiospermas, registrado somente nas famílias Poaceae, Asteraceae e Cyperaceae (Cremonini 2005, Michelan *et al.* 2012).

A origem de $x=2$ é atribuída a um ancestral de $x=7$, que é o número básico predominante entre as espécies da tribo Poeae (Hilu 2004, Cremonini 2005, Kim *et al.* 2009). Cada cromossomo de *Zingeria biebersteiniana* (Claus) P.A. Smirn. ($2n=4$) deve ter sido composto de dois ou mais cromossomos ancestrais. No entanto, o grande bloco heterocromático monocêntrico observado nos seus cromossomos indica que, após um evento de fusão, outras modificações estruturais ocorreram no genoma (Cremonini *et al.* 2003, Cremonini 2005).

Em *Zingeria trichopoda* ($2n=8$), análises moleculares no DNA e sequenciamento genético combinadas com fluorescência, hibridização e bandeamento cromossômico em GISH, comprovaram que esta espécie é um aloploiploide descendente de *Z. biebersteiniana* ($2n=4$) e um segundo ancestral ainda desconhecido com $2n=4$ (Kotseruba *et al.* 2003, 2005). Já *Zingeria pisidica* ($2n=8$) foi descrita como um aloploiploide derivado de um híbrido formado pela anfidiploidização entre os genomas ancestrais das espécies *Z. biebersteiniana* ($2n=4$) e *Colpodium versicolor* ($2n=4$) (Kim *et al.* 2009).

O comprimento dos cromossomos de *Mesosetum ansatum* e *M. alatum* são semelhantes aos observados em outras espécies da seção com $2n=16$, o que leva à sugestão de que, estas espécies com $2n=8$, são os prováveis ancestrais de *Mesosetum*. O teste de tal hipótese justifica imprescindíveis estudos de bandeamento cromossômico e filogenéticos para *Mesosetum*.

A presente análise dos sacos embrionários de *M. ansatum* juntamente com análises realizadas por Silva (2012) sugerem que as espécies com $2n=8$ e 16 cromossomos, apresentam o modo sexual de reprodução.

A descoberta de um número cromossômico inédito nas Poaceae Neotropicais confirma que a citologia do gênero *Mesosetum* é mais complexa do que se pensava. A continuidade de estudos citológicos e reprodutivos será fundamental para entender a origem de $2n=8$ e o modo de reprodução em *Mesosetum* comparado a outros gêneros de Paniceae *s.l.*

2.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Albers F. 1975. Pollenmorphologie und chromosomenzahlen der Poaceen-subtribus Deschampsiiinae Holub. Grana 15:7-17.
- Albers F. 1980. Comparative karyology of the grass subtribes Aristaveninae and Airinae (Poaceae-Avenae). Plant Systematics and Evolution 136:137-167.
- Araújo ACG, Falcão R, Simões KCR, Carneiro VTC. 2004. Identificação de acessos de *Brachiaria* com interesse ao estudo da apomixia facultativa. Boletim de pesquisa e desenvolvimento n. 74, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, 29 p.
- Araujo ACG, Nóbrega JM, Pozzobon MT, Carneiro VTC. 2005. Evidence of sexuality in induced tetraploids of *Brachiaria brizantha* (Poaceae). Euphytica 144: 39-50

- Bashaw EC. 1980. Apomixis and its application in crop improvement. *In* Hybridization of crop plants (WR Fehr, HH Hadley, eds.). ASA, CSSA, Madison, Wisconsin, p. 45-63.
- Bennett ST, Thomas SM. 1991. Karyological analysis and genome size in *Milium* (Gramineae) with special reference to polyploidy and chromosomal evolution. *Genome* 34:868-878.
- Bennett ST, Kenton AY, Bennett MD. 1992. Genomic in situ hybridization reveals the allopolyploid nature of *Milium montianum* (Gramineae). *Chromosoma* 101:420-424.
- Bicknell RA, Koltunow AM. 2004. Understanding apomixis: Recent advances and remaining conundrums. *Plant Cell* 16 (supl.):S228–S245.
- Caixinhas L, Vasconcelos T, Monjardino J, Barão AD, Ricardo CP, Martins JN. 1991. Situation actuelle de la banque de germplasmе des espèces endémiques du Portugal. *Botanika Chronika (Patras)* 10:603-608.
- Carnahan HL, Hill HD. 1961. Cytology and genetics of forage grasses. *Botanical Review* 27:1-162.
- Celarier RP, Paliwal RL. 1957. Basic chromosome number of four in the subfamily Panicoideae of the Gramineae. *Science* 126:1247.
- Clayton WD, Vorontsova MS, Harman KT, Williamson H. 2013. GrassBase - The Online World Grass Flora. <http://www.kew.org/data/grasses-db.html> (accessed 2013 Jan. 03)
- Cremonini R, Ruffini Castiglione M, Grif VG, Kotseruba VV, Punina EO, Rodionov AV, Muravenko OV, Popov KV, Samatadze TE, Zelenin AV. 2003. Chromosome banding and DNA methylation patterns, chromatin organisation and nuclear DNA content in *Zingeria biebersteiniana*. *Biologia Plantarum* 46:543-550.
- Cremonini R. 2005. Low chromosome number angiosperms. *Caryologia* 58(4):403-409.

- Davidse G, Pohl RW. 1972. Chromosome numbers, meiotic behavior, and notes on some grasses from Central America and the West Indies. *Canadian Journal of Botany* 50:1441-1452.
- Davlianidze MT. 1985. Chromosome numbers in the representatives of the flora from Georgia. *Botanicheskii Zhurnal* 70(5):698-700.
- De Wet MJM 1987. Hybridization and polyploidy in the Poaceae. *In: Grass systematics and evolution* (Eds TR Soderstrom, KW Hilu, CS Campbell, MA Barkworth). Smithsonian Inst. Press, Washington DC, p. 188-194.
- Devesa JA, Ruiz T, Ortega A, Carrasco JP, Viera MC, Torno R, Pastor J. 1990a. Contribución al conocimiento citológico de las Poaceae en Extremadura (España) I. *Boletim da Sociedade Broteriana, série 2*, 63:29-66.
- Devesa JA, Ruiz T, Torno R, Muñoz A, Viera MC, Carrasco J, Ortega A, Pastor J. 1990b. Contribución al conocimiento citológico de las Poaceae en Extremadura II. *Boletim da Sociedade Broteriana, série 2*, 63:153-205.
- Fernandes A, Queiros M. 1969. Contribution a la connaissance cytologique des Spermatophyta du Portugal. Introduction, material et techniques. *Boletim da Sociedade Broteriana, série 2*, 43:1-140.
- Filgueiras TS. 1986. O gênero *Mesosetum* Steudel (Gramineae: Paniceae). Tese de doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas-SP, 344 p.
- Ghukasyan A. 2003. On the cytogenetic study of the grasses (Poaceae) of Armenia. *In Botanical Study in Asiatic Russia*. AzBuka Publishing House, Barnaul, v. 1, p. 303.
- Ghukasyan A. 2004. Extent of karyological study of Armenian grasses (Poaceae). *Fl. Rastitel'n. Rastitel'n. Resursy Armeii* 15:85-89.

- Giussani LM, Cota-Sanchez H, Zuloaga FO, Kellogg EA. 2001. A molecular phylogeny of the grass subfamily Panicoideae (Poaceae) shows multiple origins of C4 photosynthesis. *American Journal of Botany* 88:1993-2012.
- Goldblatt P, Johnson DE (eds). 2013. Index to plant chromosome numbers. Missouri Botanical Garden, St. Louis. <http://www.tropicos.org/Project/IPC�> (accessed 2013 Jan. 03)
- Gould FW. 1966. Chromosome numbers of some Mexican grasses. *Canadian Journal of Botany* 44:1683-1696.
- Gould FW, Soderstrom TR. 1967. Chromosome numbers of tropical American grasses. *American Journal of Botany* 54:676-683.
- Hedberg O, Hedberg I. 1994. The genus *Colpodium* (Gramineae) in Africa. *Nordic Journal of Botany* 14(6):601-607.
- Hilu K. 2004. Phylogenetics and chromosomal evolution in the Poaceae (grasses). *Australian Journal of Botany* 52:13-22.
- Honfi AI, Quarín QL, Valls JFM. 1991. Estudios cariológicos en gramíneas sudamericanas. *Darwiniana* 30:87-94.
- Kim ES, Bolsheva NL, Samatadze TE, Nosov NN, Nosova IV, Zelenin AV, Punina EO, Muravenko OV, Rodionov AV. 2009. The unique genome of two-chromosome grasses *Zingeria* and *Colpodium*, its origin, and evolution. *Russian Journal of Genetics* 45(11):1329-1337.
- Koltunow AM. 1993. Apomixis: Embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *Plant Cell* 5:1425-1437.
- Kotseruba VV, Gernand D, Meister A, Houben A. 2003. Uniparental loss of ribosomal DNA in the allotetraploid grass *Zingeria tricopoda* (2n=8). *Genome* 46:156-163.

- Kotseruba VV, Pistrick K, Gernand D, Meister A, Ghukasyan A, Gabrielyan I, Houben A. 2005. Characterisation of the low-chromosome number grass *Colpodium versicolor* (Stev.) Schmalh. (2n=4) by molecular cytogenetics. *Caryologia* 58(3):241-245.
- Love RA. 1949. Estudos Citológicos Preliminares de Trigos Riograndenses. Circular n° 74, Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 14 p.
- Ma GH, Huang XL, Xu QS, Eric B. 2009. Multiporate pollen and apomixis in Panicoideae. *Pakistan Journal of Botany* 41(5):2073-2082.
- Michelan VS, Trevisan R, Silva CRM, Souza RF, Luceño M & Vanzela ALL. 2012. Morphological and genomic characterization of *Rhynchospora tenuis* complex (Cyperaceae) and its taxonomic implications. *Rodriguésia* 63(4):2012.
- Morrone O, Aagesen L, Scataglini MA, Salariato DL, Denham SS, Chemisquy MA, Sede SM, Giussani LM, Kellogg EA, Zuloaga FO. 2012. Phylogeny of the Paniceae (Poaceae: Panicoideae): integrating plastid DNA sequences and morphology into a new classification. *Cladistics* 28:333-356.
- Pohl RW, Davidse G. 1971. Chromosome numbers of Costa Rican grasses. *Brittonia* 23:293-324.
- Pozzobon MT, Valls JFM. 1997. Chromosome number in germplasm accessions of *Paspalum notatum* (Gramineae). *Brazilian Journal of Genetics* 20:29-34.
- Quarín CL, Norrmann GA. 1990. Interspecific hybrids between five *Paspalum* species. *Bot. Gaz.* 151:366-369.
- Rao Y. 1975. Evolutionary trends in the Indian *Iseilema*. *Nature* 255:220-221.
- Raven PH. 1975. The basis of angiosperm phylogeny: Cytology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 62: 724-764.

- Rodionov AV, Punina EO, Dobroradova MA, Tyupa NB, Nosov NN. 2006. Caryological study of the grasses (Poaceae): chromosome numbers of some Aveneae, Poaeae, Phalarideae, Phleaeae, Bromeae, Triticeae. *Botanicheskii Zhurnal* 91(4):615-627.
- Savidan Y, Carman JG, Dresselhaus T. (eds). 2001. The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering. CIMMYT, IRD, European Commission OC VI (FAIR), México-DF, 243 p.
- Sede S, Escobar A, Morrone O, Zuloaga FO. 2010. Chromosome studies in American paniceae (Poaceae-Panicoideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 97:128-138.
- Silva LAC. 2008. Qualidade de sementes da grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae* Lucas) na sub-região da Nhecolândia, Pantanal, MS. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP, 55 p.
- Silva LAC, Pagliarini MS, Santos SA, Silva N, Souza VF. 2012. Chromosome number, microsporogenesis, microgametogenesis, and pollen viability in the Brazilian native grass *Mesosetum chaseae* (Poaceae). *Genetics and Molecular Research* 11(4):4100-4109.
- Silva LAC. 2012. Citogenética e sistema reprodutivo da grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae* Lucas, Poaceae), Tese de doutorado, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, 48 p.
- Sokolovskaya AP, Probatova NS. 1979. Chromosome numbers of some grasses (Poaceae) in the U.S.S.R. flora. III. *Botanicheskii Zhurnal* 64 (9):1245-1258.
- Stace CA. 2000. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21st centuries. *Taxon* 49: 451-477.
- Thiers B. 2013. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/> (accessed 2013 Jan. 02).

- Thomas SM. 1984. Notes on *Milium vernale* Bieb. (Gramineae) in Guernsey. *Watsonia* 15:113-116.
- Tutin TG. 1982. *In Flora Europaea Check-list and Chromosome Index* (DM Moore, ed.). Cambridge Univ. Press., Cambridge, p. 342.
- Valle CB, Glienke C. 1991. New sexual accessions in *Brachiaria*. *Apomixis Newsletter* 3: 11-13.
- Valle CB, Savidan Y. 1996. Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. *In Brachiaria: biology, agronomy and improvement* (JW Miles, BL Maass, CB Valle, eds.). Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Cali, Colombia, p. 147-163.
- Watson L, Dallwitz MJ. 2012. The grass genera of the world: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval; including synonyms, morphology, anatomy, physiology, phytochemistry, cytology, classification, pathogens, world and local distribution, and references. Version 18 Dez. 2012. <http://delta-intkey.com> (accessed 2013 Jan. 03).
- USDA, ARS (National Genetic Resources Program). 2013. Germplasm Resources Information Network - GRIN (Online Database). National Germplasm Resources Laboratory, Beltsville, Maryland. <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/family.pl?897> (accessed 2013 Feb. 17)

Capítulo 3

Novo número cromossômico em *Mesosetum* Steud. (Poaceae: Paspaleae)

Capítulo 3 – Novo número cromossômico em *Mesosetum* Steud. (Poaceae: Paspaleae)

RESUMO: O gênero *Mesosetum* Steud. compreende 25 espécies com distribuição neotropical. O Brasil é o centro de diversidade do gênero com 20 espécies. O número cromossômico $2n=8$ e $2n=16$ e modo de reprodução sexual são conhecidos para o gênero. Com o objetivo de ampliar estas informações, determinou-se o número cromossômico e comportamento meiótico para quatro espécies. Foi contado $2n=24$ cromossomos, número inédito no gênero e para as espécies *M. chaseae* Luces, *M. elytrochaetum* (Hack.) Swallen e *M. longiaristatum* Filg. O número $2n=16$, anteriormente citado para *M. chaseae*, foi confirmado para *M. bifarium* (Hack.) Chase e o modo de reprodução sexual para *M. elytrochaetum*. Os diferentes citótipos divergiram quanto à frequência de irregularidades tais como associações múltiplas de cromossomos, retardatários e micronúcelos.

Palavras-chave: Comportamento meiótico, modo de reprodução, mitose

ABSTRACT: The genus *Mesosetum* Steud. comprises 25 species and neotropical distribution. Brazil is the diversity center for the genus with 20 species. The chromosome numbers $2n=8$ and $2n=16$ and sexual reproductive mode are known for the genus. Aiming to expand this information, the chromosome number and meiotic behavior were determined for four species. The chromosome number $2n=24$ was recorded for first time in genus and species *M. chaseae* Luces, *M. elytrochaetum* (Hack.) Swallen and *M. longiaristatum* Filg. The chromosome number $2n=16$ previously mentioned in *M. chaseae* was also recorded in *M. bifarium* (Hack.) Chase and sexual reproductive mode in *M. elytrochaetum*. The cytotypes differed in frequency of irregularities such as multiple associations of chromosomes, laggards and the micronuclei.

Keywords: Meiotic behavior, reproductive mode, mitosis

3.1 – INTRODUÇÃO

A delimitação de espécies em Poaceae é relativamente difícil porque os limites interespecíficos, em certa frequência, se confundiram por hibridação e poliploidia. Por causa da ação generalizada destes dois processos, a filogenia de Poaceae não é um simples caso de cladogênese, mas uma rede altamente complexa (Stebbins 1956, Hunziker & Stebbins 1987, De Wet 1987, Hilu 2004). Por estas peculiaridades, a citogenética esclareceu diversos problemas taxonômicos e tem papel fundamental para a compreensão da filogenia de Poaceae.

Dentro de Panicoideae, a tribo Paniceae *s.l.* é parafilética formando os clados Paspaleae com $x=10$, que é constituído por espécies Americanas e Paniceae *s.s.*, com $x=9$ e distribuição Pantropical (Morrone *et al.* 2012). O gênero *Mesosetum* Steud. foi relacionado à tribo Paspaleae e subtribo Arthropogoninae, compondo um subclado com *Keratochlaena rigidifolia* (Filg., Morrone & Zuloaga) Morrone & Zuloaga e *Tatianyx arnacites* (Trin.) Zuloaga & Soderstr. (Morrone *et al.* 2012).

Este subclado já havia sido denominado como “ambiguous clade” pela filogenia de Giussani *et al.* (2001), que citaram número básico de $x=8$ para *Mesosetum*. Ambas as filogenias basearam-se em apenas uma espécie do gênero, *M. chaseae* Luces. A origem do número básico de $x=8$ não foi esclarecida.

Para se compreender a evolução dos complexos poliploides em Poaceae, é indispensável o conhecimento do modo reprodutivo. A via apomítica propicia a produção de sementes em poliploides estéreis e permite a colonização de novos habitats, preservando seus genótipos durante o processo gradual de estabilização da meiose (De Wet 1987, Dall’Agnol & Schifino-Wittmann 2005).

Para *Panicum* L., *Paspalum* L. e *Urochloa* P. Beauv. vários estudos têm demonstrado que os diploides são sexuais enquanto os poliploides, preferencialmente, apomíticos (Valle & Savidan 1996, Hojsgaard *et al.* 2008, Ma *et al.* 2009, entre outros). Em *Paspalum*, a maioria

das espécies diploides sexuais são auto-incompatíveis e alógamas, e têm uma contraparte tetraploide auto-compatível e pseudogâmica que se reproduz por apomixia (Quarín *et al.* 1998). Para *Mesosetum* estas relações ainda não são conhecidas.

No gênero *Mesosetum*, as informações encontradas na literatura, sobre o número cromossômico eram restritas a três espécies. *Mesosetum chaseae* Luces, *M. loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase e *M. pittieri* Hitchc. (Gould 1966; Gould & Soderstrom 1967; Pohl & Davidse 1971; Davidse & Pohl 1972; Sede *et al.* 2010; Silva *et al.* 2012). Todas as contagens registravam $2n=16$ cromossomos, com exceção de *M. loliiforme* de $2n=32$ (16 bivalentes) citada por Sede *et al.* (2010), embora haja incoerências nesta última citação. O número básico de $x=8$ cromossomos era sugerido para o gênero.

No entanto, recente contagem obtida (Capítulo II), obteve $2n=8$ e $x=4$ para *M. alatum* Filg., *M. ansatum* (Trin.) Kuhl. e *M. longiaristatum* Filg.. Este número cromossômico até então inédito entre as Poaceae Neotropicais e tribo Paniceae *s. l.*

Os únicos estudos de megagametófitos em *Mesosetum* foram feitos por Silva (2012) e pelo presente trabalho (Capítulo II). Ambos encontraram saco embrionário do tipo *Polygonum*, sugerindo reprodução sexual para as espécies *M. ansatum* e *M. chaseae*, com números cromossômicos de $2n=8$ e $2n=16$ respectivamente.

Este trabalho tem como objetivo primordial fornecer dados do número cromossômico de espécies de *Mesosetum* da seção *Bifaria* e avaliar o comportamento meiótico e examinar o saco embrionário no maior número de espécies possíveis.

3.2 – MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas quatro espécies *M. bifarium* (Hack.) Chase, *M. chaseae*, *M. elytrochaetum* (Hack.) Swallen e *M. longiaristatum*, pertencentes à seção *Bifaria* (tabela 1). O material analisado é proveniente de coletas realizadas em diferentes estados. No período de

outubro de 2011 a maio de 2013, foram realizadas expedições de coleta no Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Pará e Tocantins.

Os *vouchers* foram referidos na tabela pelos seguintes acrônimos de coletores: RCO: Regina Célia de Oliveira. V: José Francisco Montenegro Valls. ASS: Anátria Stéphanie da Silva. MGB: Marisa Graciela Bonasora. AROR: André Rodolfo de Oliveira Ribeiro. ALHS: André Luiz Henrique da Silva. PAR: Priscila Alves dos Reis. RTQ: Rubens T. Queiroz. RHM: Rebecca M. Guimarães. WOOE: Winnie Oku Oliveira Edwards.

As mudas foram mantidas em casa de vegetação da Universidade de Brasília e da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF. As coletas foram acompanhadas de espécimes *vouchers* incorporados aos herbários CEN e UB (acrônimos disponibilizados em Thiers (2013)).

O número cromossômico foi determinado em células mitóticas de pontas de raízes e/ou em células mãe-de-pólen. As pontas de raízes coletadas foram pré-tratadas com solução saturada de α -bromonaftaleno por 2h a temperatura ambiente, em seguida fixadas em 3:1 (etanol:ácido acético, v/v) durante 24h e após estocadas a 4°C até análise (Pozzobon & Valls 1997). A coloração foi feita com reagente de Schiff pelo método de Feulgen. As lâminas foram preparadas por esmagamento do meristema, previamente amolecido com pectinase-celulase 20-2 % em 1 gota de carmim-acético 2%. No mínimo 10 células em metáfases e com bom espalhamento cromossômico foram observadas.

Para meiose, foram usadas amostras de inflorescências coletadas diretamente no campo, que foram fixadas em solução 3:1 etanol: ácido acético por 24h e após transferidas para álcool 70% e posteriormente estocadas a 4°C, até a análise. Na confecção das lâminas as anteras foram esmagadas e coradas com carmim propiônico ou carmim acético, ambos a 2%. O comportamento meiótico foi determinado pela análise de pelo menos 200 células em cada fase, desde a diacinese até tétrade.

Para as análises do saco embrionário, inflorescências em antese foram coletadas e fixadas em uma solução contendo formaldeído 40%, ácido acético, etanol 50% (5:5:90 v/v) por 24h a 4°C e mantidos em etanol 70% a 4°C. Os ovários foram isolados e desidratados gradualmente em uma bateria crescente de soluções de etanol (80, 90, 95 e 100%), clarificados lentamente em soluções de xilol:metilsalicitato em proporções crescentes de metilsalicitato (3:1, 1:1 e 1:3) e por fim em metilsalicitato puro. Observações do número de sacos embrionários por óvulo, sua estrutura, tipos e número de células componentes foram realizadas em microscópio Zeiss Axiophot usando DIC (Araújo *et al.* 2004).

3.3 – RESULTADOS

Contagem cromossômica

As contagens obtidas para as três espécies analisadas podem ser observadas na tabela 1 e na figura 1. O número cromossômico de $2n=16$ foi contado para a amostra de *M. bifarium* e $2n=24$ para as amostras de *M. chaseae*, *M. elytrochaetum* e *M. longiaristatum*.

Tabela 1. Contagens cromossômicas em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria*, coletor e número do *voucher* correspondente e local de coleta.

Espécie	Voucher	Contagem	Local de Coleta
<i>M. bifarium</i> (Hack.) Chase	ASS 235, RCO & MGB.	$2n=16$	Brasil, Goiás, Teresina de Goiás, 13°52'32" S, 47°15'40" W, trilha secundária margeando o rio, 23/V/2011.
<i>M. chaseae</i> Luces	RCO 2772, AROR, ALHS & PAR.	$2n=24$	Brasil, Mato Grosso, Poconé, 16° 20' 10" S, 56° 18' 06" W, Fazenda Nossa Senhora Aparecida, 26/V/2012.
<i>M. elytrochaetum</i> (Hack.) Swallen	RCO 2722, AROR, PAR & WOOE.	$2n=24$	Brasil, Goiás, Alto Paraíso, Distrito de São Jorge, trilha para Cachoeira do Abismo, 14° 11' 05" S, 47° 50' 53" W, 29/I/2012.

<i>M. longiaristatum</i> Filg.	V 15812, ASS, RTQ & RMG	2n=24	Brasil, Goiás, São Domingos, Parque Estadual Terra Ronca, margem norte do rio São Mateus, a oeste da estrada GO-108. 13° 39' 15" S, 46° 19' 00" W, 15/V/2013
	V 15841, ASS, RTQ & RMG	2n=24	Brasil, Goiás, São Domingos, Parque Estadual Terra Ronca, ao longo da estrada de acesso à Caverna Angélica desde GO-108. 13° 30' 52" S, 46° 23' 19" W, 16/V/2013.

Em *M. bifarium* (figura 1 A), 2n=16, foi detectado um par de cromossomos satelitado. O comprimento dos cromossomos variou de 3,52 a 6,39 µm, e o satélite de 1,38 a 1,5 µm.

Em *M. chaseae*, a análise de células mitóticas (figura 1 D) e meióticas, permitiu a detecção de um novo citótipo com 2n=24 cromossomos. Os cromossomos mitóticos variaram em comprimento de 2,74 a 4,35 µm. Não foram identificados pares satelitados.

Para *M. elytrochaetum*, contou-se 2n=24 cromossomos em mitose e meiose. O comprimento dos cromossomos mitóticos variou de 3,01 a 6,16 µm. Não foram observados cromossomos satelitados (figura 1 G).

Em *M. longiaristatum* foi encontrado um novo citótipo com 2n=24 cromossomos (figura 2) para amostras V 15812 e V15841.

Comportamento Meiótico

O comportamento meiótico foi analisado para as amostras de *M. bifarium*, *M. chaseae* e *M. elytrochaetum*. Para *M. bifarium* e *M. elytrochaetum* predominou meiose regular, enquanto em *M. chaseae* foram observadas maior frequência de irregularidades.

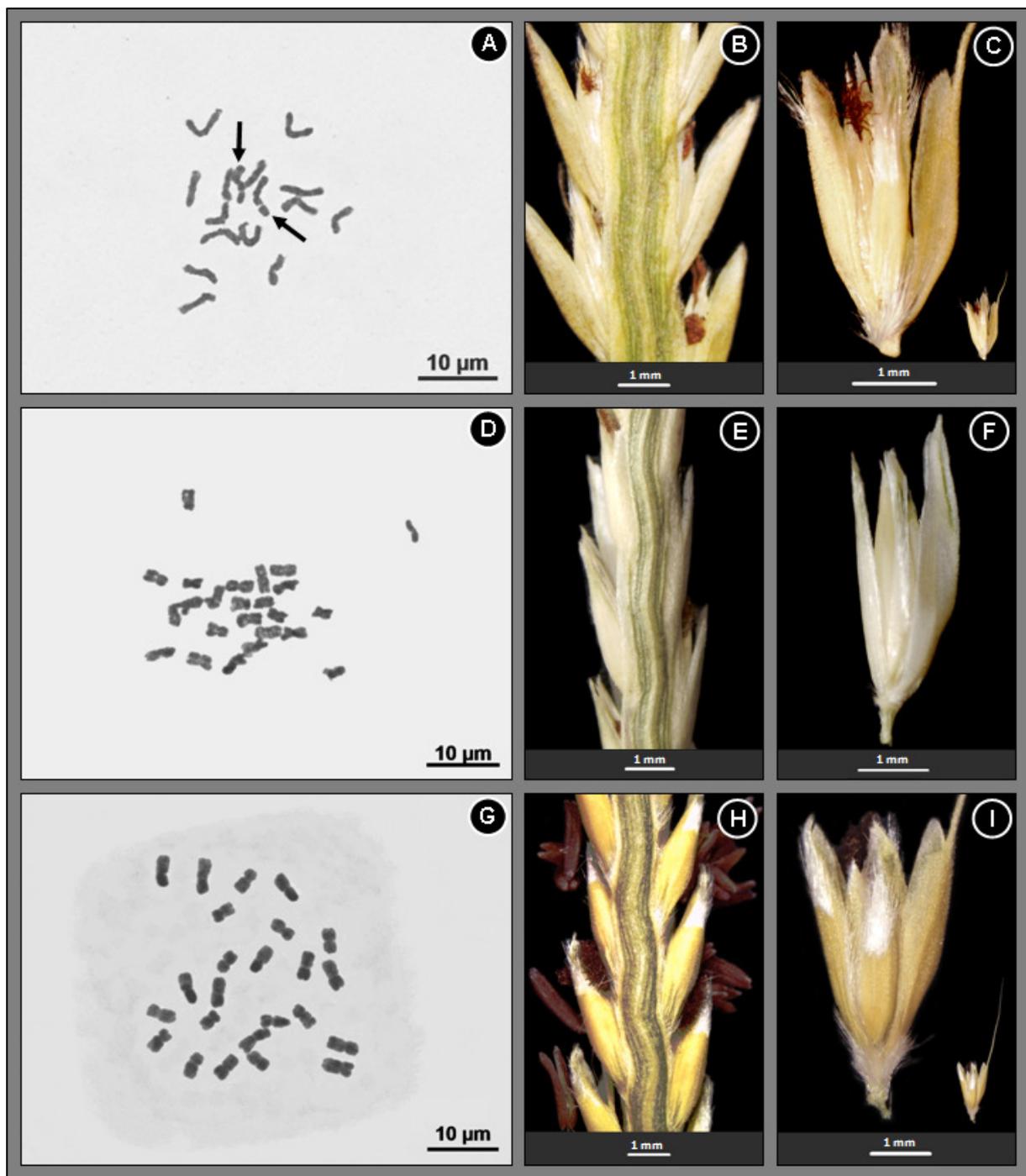


Figura 1. Contagens cromossômicas em espécies de *Mesosetum* sect. *Bifaria* e sua respectiva morfologia. **A-C.** *Mesosetum bifarium*, ASS 235. **A.** Metáfase mitótica (setas indicando cromossomos satelitados). **B.** Segmento da inflorescência. **C.** espigueta. **D-F.** *Mesosetum chaseae*, RCO 2772. **D.** Metáfase mitótica. **E.** Segmento da inflorescência. **F.** espigueta. **G-I.** *Mesosetum eltyrochaetum*, RCO 2722. **G.** Metáfase mitótica. **H.** Segmento da inflorescência. **I.** espigueta.

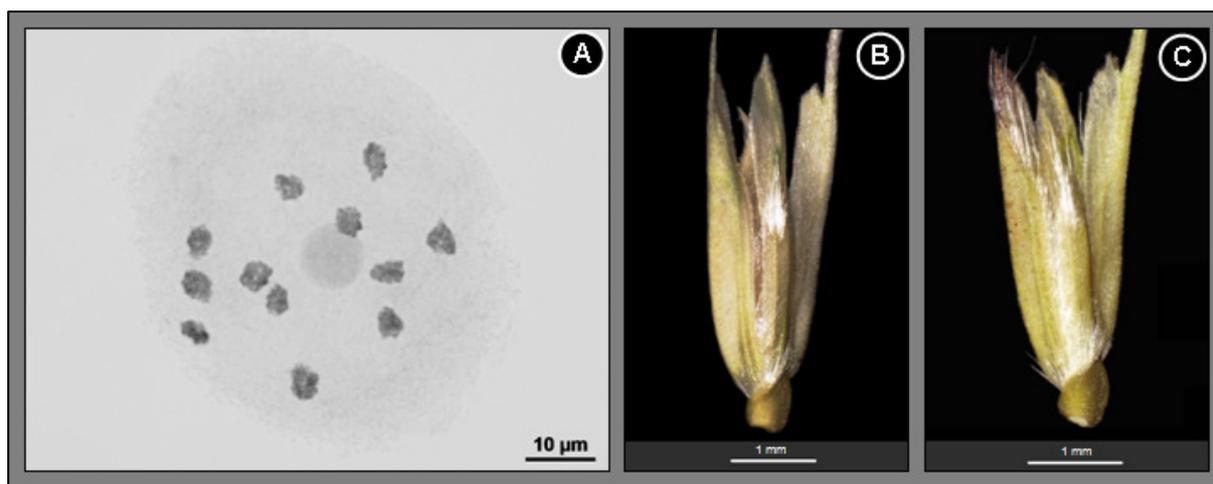


Figura 2. Contagem cromossômica para *Mesosetum longiaristatum*. **A.** Diacinese com 12 bivalentes em V 15812. **B-C.** Espiguetas **B.** V 15812. **C.** V 15841.

Mesosetum bifarium, ASS 235, mostrou pareamento predominante em 8 bivalentes (tabela 2, figuras 3A e 3F). Apesar do predomínio de meiose regular, algumas células irregulares foram identificadas. Em diacinese 13,28% das células foram irregulares, sendo as anormalidades mais frequentes as associações múltiplas e associações secundárias. Entre as associações múltiplas, a irregularidade mais frequente foi a presença de 1 tetravalente (figura 3B) observado em 17 células (7,05%). Em uma única célula foi observado pareamento em 1 trivalente, 1 univalente e 6 bivalentes (figura 3C). Duas únicas células apresentaram um par assináptico formando dois univalentes mais 7 bivalentes (figura 3E). Também foram observadas associações secundárias entre 2 bivalentes (figura 3D). Em metáfase I, foi observada uma única célula irregular com 2 univalentes e 7 bivalentes (figura 3G). Em anáfase I, apenas duas células apresentaram irregularidades, tais como ponte e segregação irregular (figura 3I). Em telófase I todas as 134 células observadas foram normais (figura 4 A). Em prófase II foi observada uma única célula com micronúcleo (figura 4 B). Em metáfase II as irregularidades observadas foram cromossomos fora de placa e assincronias (figura 4 D). Já em anáfase II e telófase II as irregularidades observadas foram pontes, assincronias (figura 4 E) e retardatários (figura 4 G). A maioria das tétrades foi regular e somente 19 (9,18%)

apresentaram micronúcleos (figura 4 I). O índice meiótico, proposto por Love (1949), foi de 90,82%, mostrando estabilidade da meiose.

Para *M. chaseae*, RCO 2772, a meiose apresentou maior frequência de irregularidades (tabela 3, figuras 5 e 6). Intensa aderência de cromossomos (figura 5A-B) foi observada em diacinese e metáfase I, dificultando a interpretação das associações. Em metáfase I foi possível identificar o pareamento em 29 células (10,18%), sendo mais frequente a presença de 2 univalentes, 9 bivalentes e 1 tetravalente (figura 5C). Em anáfase I e telófase I as irregularidades observadas foram retardatários, pontes e segregação desbalanceada (figura 5 E-I). Na meiose II (figura 6) foram frequentes assincronias, retardatários e micronúcleos. Para prófase II foram frequentes os micronúcleos (figura 6B). Em metáfase II foram frequentes assincronias, aderências e cromossomos fora de placa (figura 6C-E). Em anáfase II e telófase II predominaram células com cromossomos retardatários e assincronias (figura F-G). Chama atenção a grande quantidade de micronúcleos nas tétrades, alcançando taxa de 77,78%. Em algumas tétrades foram observados mais de 5 micronúcleos (figura 6I). O índice meiótico foi de 22,22 %, confirmando instabilidade meiótica.

Para *M. elytrochaetum*, os resultados mostraram pareamento regular com predomínio 12 bivalentes (tabela 2, figura 7). Para meiose I, as irregularidades encontradas foram dois a quatro univalentes em diacinese (figura 7 B-C) e metáfase I (figura 7 E-F), e retardatários e pontes em anáfase I e telófase I (figura 7 H). Na meiose II as irregularidades mais observadas foram micronúcleos, assincronias, pontes e retardatários. Em prófase II foram encontrados micronúcleos (figura 7 I). Em metáfase II foram observadas assincronias e cromossomos fora de placa. Em uma única metáfase II foi observada transferência de cromatina entre as células (figura 7 J). Em anáfase II e telófase II foram observadas assincronias e retardatários (figura 7 K). Nas tétrades foram observados micronúcleos (figura 7 L). Os micronúcleos observados no final da meiose são, provavelmente, originados a partir desses univalentes e retardatários. A

identificação do modo de reprodução será realizada posteriormente. O índice meiótico foi de 75,93%.

Embora o número de células examinadas não tenha sido suficientes para concluir sobre o comportamento meiótico de *M. longiaristatum*, foram observados 12 bivalentes em diacinese para as amostras V 15812 (32 células) e V15841 (9 células). Foram observadas 16 células em telófase I para V 15812, todas regulares.

Tabela 2. Comportamento meiótico em *Mesosetum bifarium*, ASS 235.

Fase	Total de células	Irregulares	Irregularidade
Diacinese	241	32	13,28%
Metáfase I	206	1	0,49%
Anáfase I	49	2	4,08%
Telófase I	134	0	0,00%
Prófase II	39	1	2,56%
Metáfase II	228	71	31,14%
Anáfase II	206	25	12,14%
Telófase II	239	13	5,44%
Tétrade	207	19	9,18%
Total	1549	164	10,59%

Tabela 3. Comportamento meiótico em *Mesosetum chaseae*, RCO 2772.

Fase	Total de células	Irregulares	Irregularidade
Diacinese	86	86	100,00%
Metáfase I	285	278	97,54%

Anáfase I	64	54	84,38%
Telófase I	135	108	80,00%
Prófase II	268	173	64,55%
Metáfase II	206	177	85,92%
Anáfase II	38	15	39,47%
Telófase II	135	88	65,19%
Tétrade	315	245	77,78%
Total	1532	1224	79,90%

Tabela 4. Comportamento meiótico em *Mesosetum elytrochaetum*, RCO 2722.

Fase	Total de células	Irregulares	Irregularidade
Diacinese	228	28	12,28%
Metáfase I	256	44	17,19%
Anáfase I	233	27	11,59%
Telófase I	213	57	26,76%
Prófase II	222	50	22,52%
Metáfase II	206	75	36,41%
Anáfase II	213	55	25,82%
Telófase II	209	57	27,27%
Tétrade	216	52	24,07%
Total	1996	445	22,29%

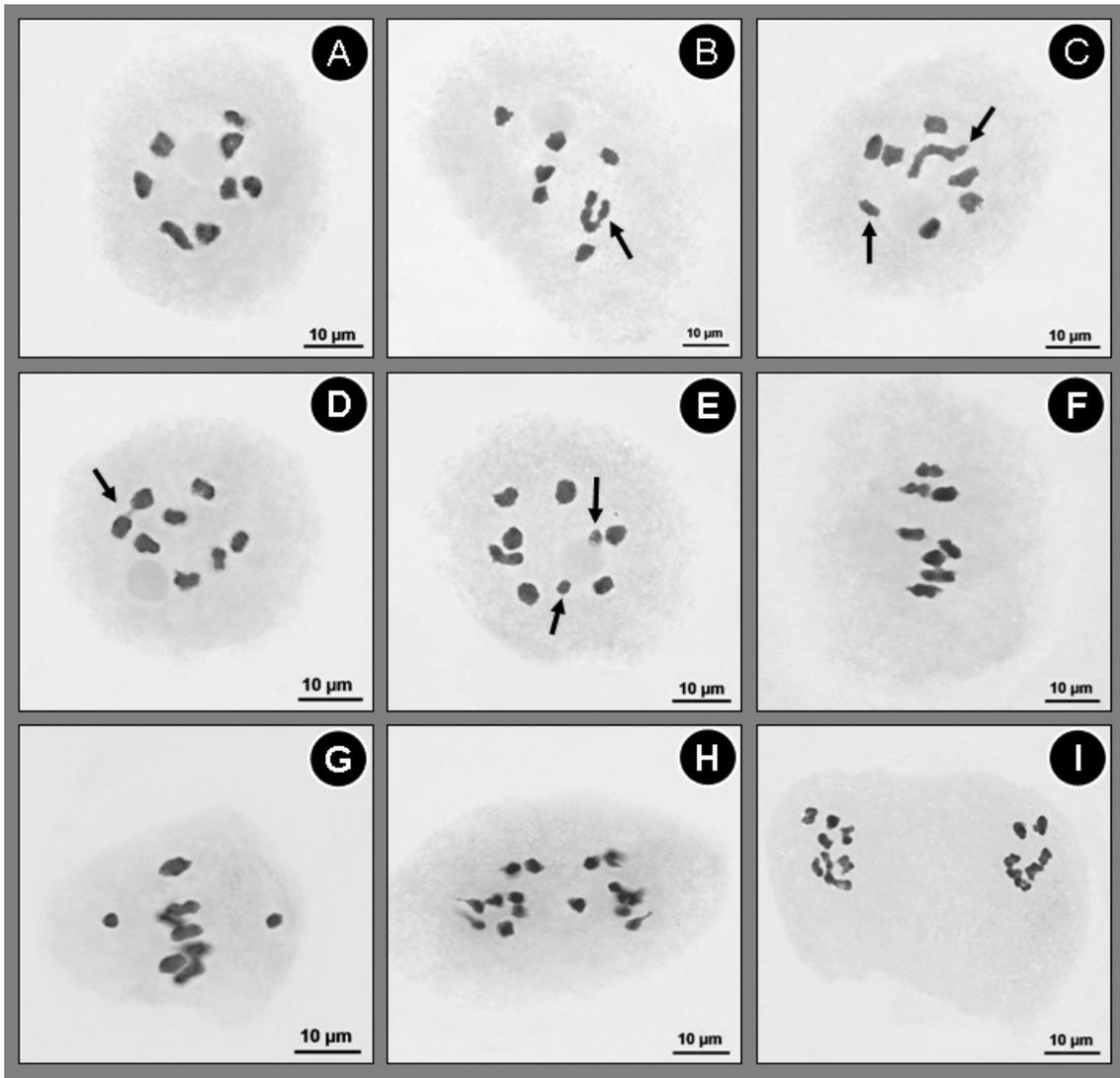


Figura 3. Comportamento em meiose I para *Mesosetum bifarium*, ASS 235. **A-E.** Diacinese. **A.** Regular com 8 bivalentes. **B.** Irregular com um tetravalente (seta) e 6 bivalentes. **C.** Irregular com um univalente (seta), um trivalente (seta) e 6 bivalentes. **D.** Irregular com 8 bivalentes e associação secundária (seta) em um par. **E.** Irregular com dois univalentes (setas) e 7 bivalentes. **F-G.** Metáfase I. **F.** Regular com 8 bivalentes. **G.** Irregular com dois univalentes e 7 bivalentes. **H-I.** Anáfase I. **H.** Regular. **I.** Irregular com segregação desbalanceada em 9 cromossomos (à esquerda) e 7 cromossomos (à direita).

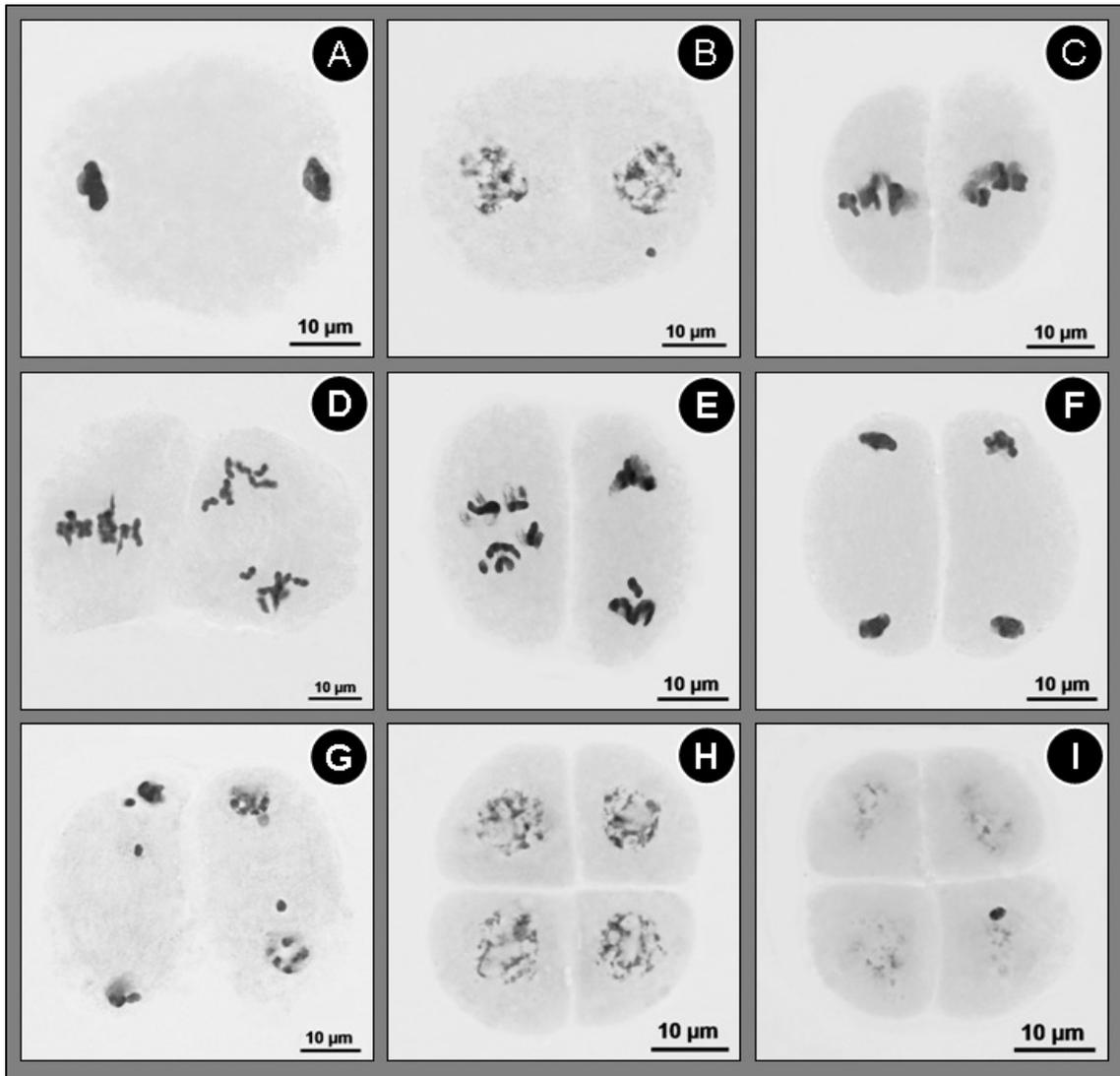


Figura 4. Comportamento em telófase I e meiose II para *Mesosetum bifarium*, ASS 235. **A.** Telófase I regular. **B.** Prófase II com micronúcleo. **C-D.** Metáfase II. **C.** Regular. **D.** Irregular com assincronia para anáfase II. **E.** Anáfase II com assincronia. **F-G.** Telófase II. **F.** Regular. **G.** Irregular com retardatários. **H-I.** Tétrade. **H.** Regular. **I.** Irregular com micronúcleo.

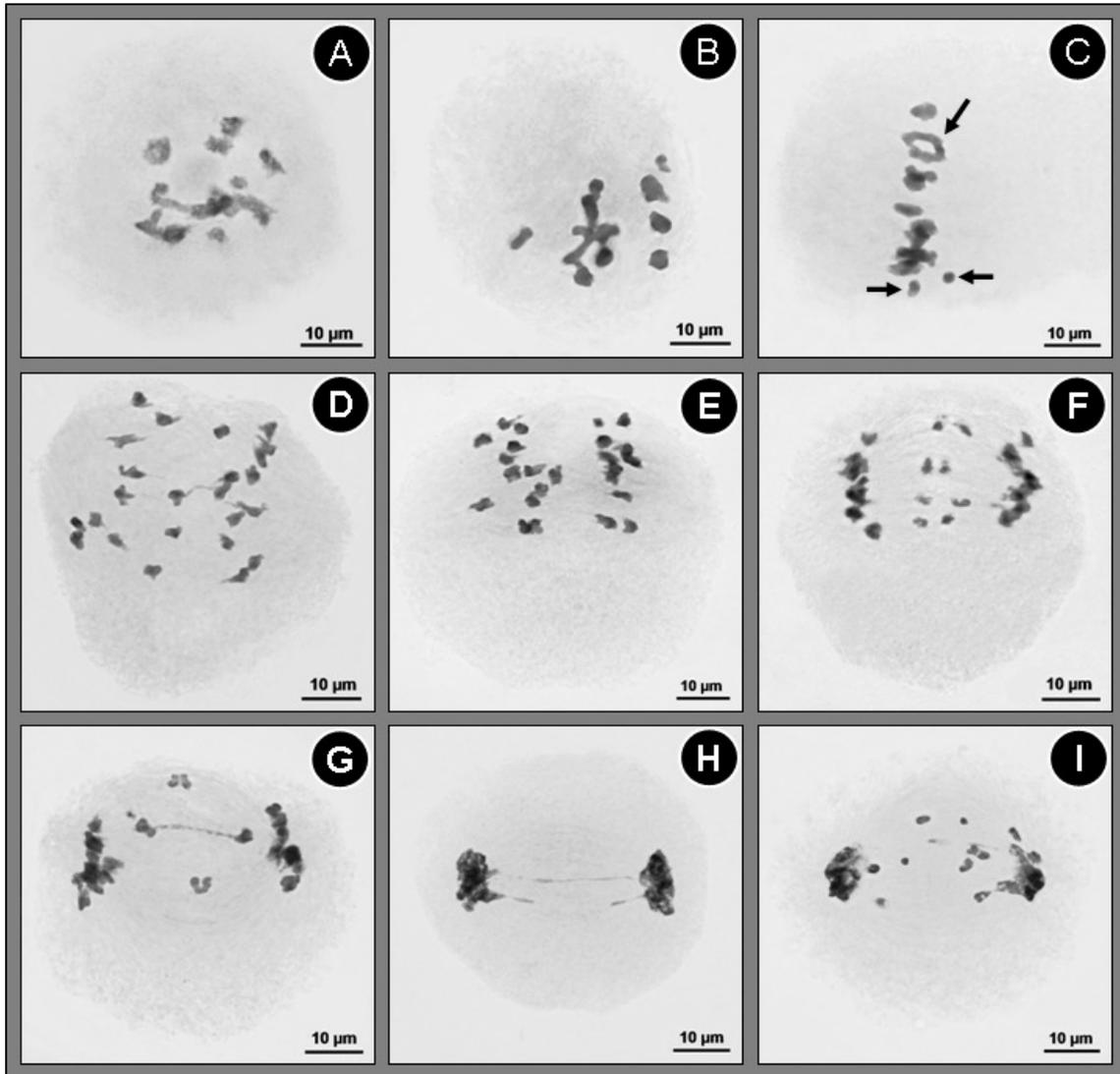


Figura 5. Comportamento em meiose I para *Mesosetum chaseae*, RCO 2772. **A.** Diacinese irregular com aderência de cromossomos. **B-C.** Metáfase I. **B.** Irregular com aderência de cromossomos. **C.** Irregular com um tetravalente (seta), dois univalentes (setas) e 9 bivalentes. **D-G.** Anáfase I. **D.** Regular. **E.** Irregular com segregação desbalanceada com 13 cromossomos (à esquerda) e 11 cromossomos (à direita). **F.** Irregular com retardatários. **G.** Irregular com ponte e retardatários. **H-I.** Telófase I. **H.** Irregular com ponte. **I.** Irregular com retardatários.

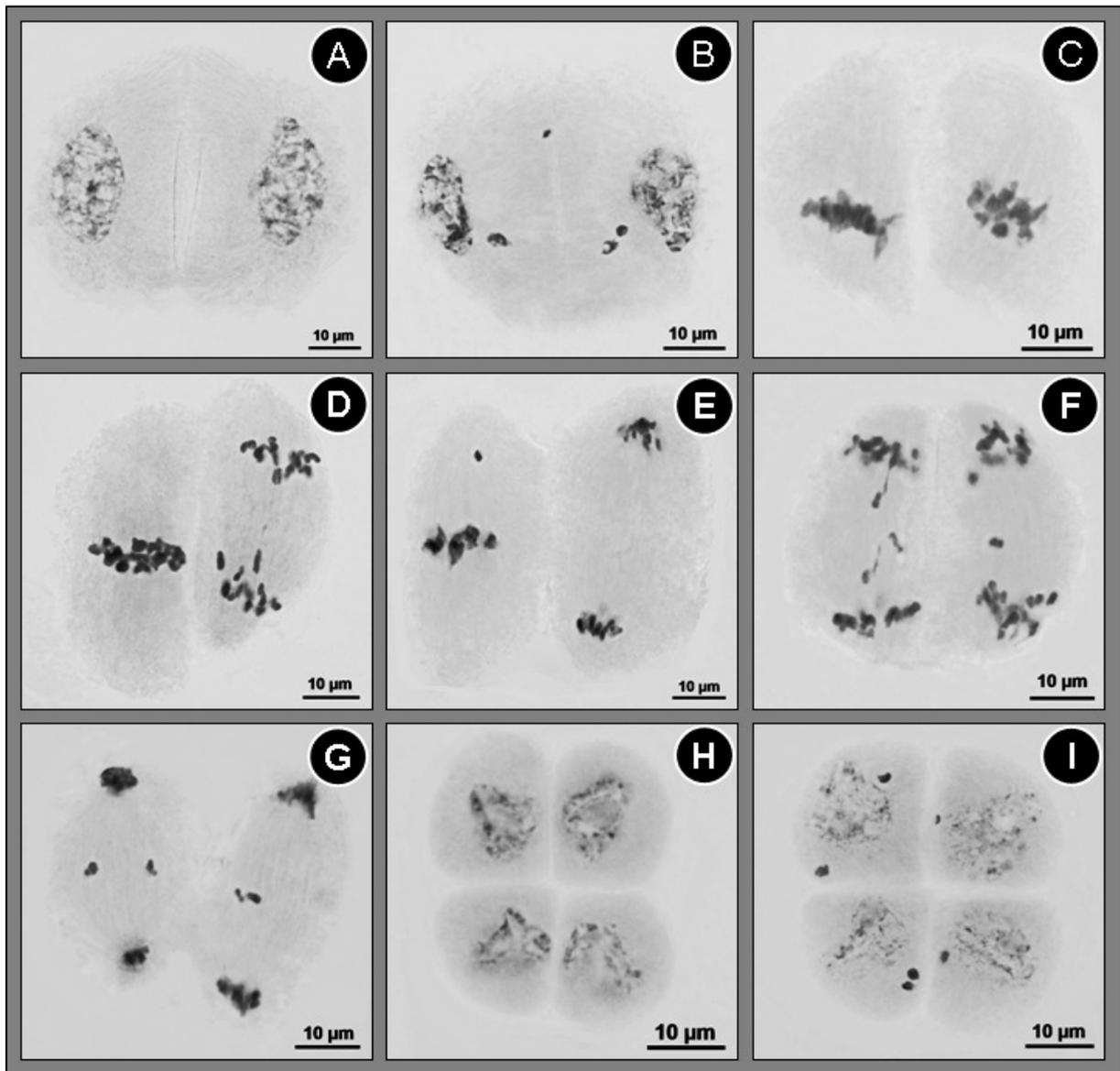


Figura 6. Comportamento em meiose II para *Mesosetum chaseae*, RCO 2772. **A-B.** Prófase II. **A.** Regular. **B.** Irregular com micronúcleos. **C-E.** Metáfase II. **C.** Irregular com aderência de cromossomos. **D.** Irregular com assincronia para anáfase II. **E.** Irregular com cromossomo fora de placa e assincronia para telófase II. **F.** Anáfase II com retardatários. **G.** Telófase II com retardatários. **H-I.** Tétrade. **H.** Regular. **I.** Irregular com micronúcleos.

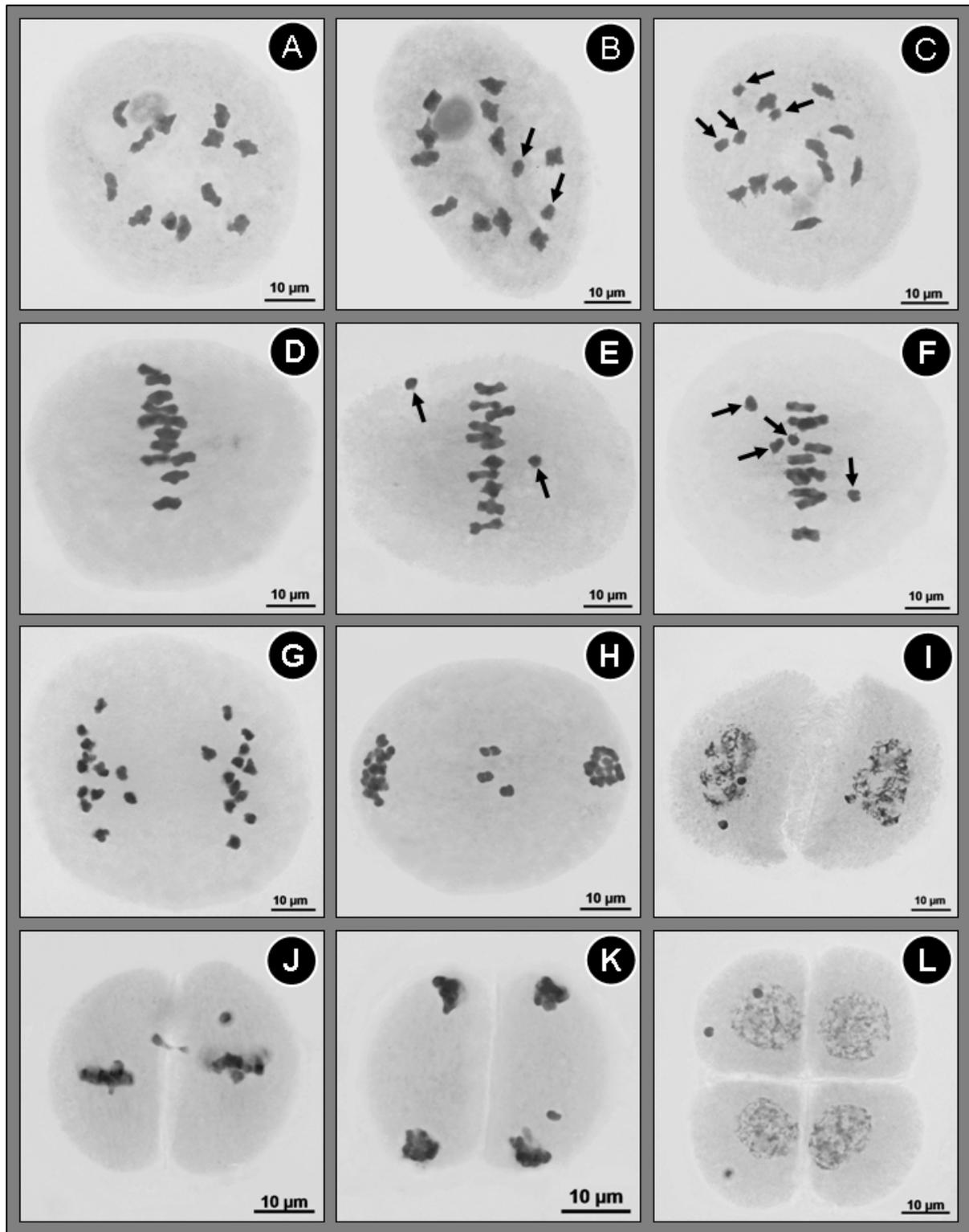


Figura 7. Comportamento meiótico de *Mesosetum elytrchaetum*, RCO 2722. **A-C.** Diacinese. **A.** Regular com 12 bivalentes. **B.** Irregular com 2 univalentes (setas) e 11 bivalentes. **C.** Irregular com 4 univalentes (setas) e 10 bivalentes. **D-F.** Metáfase I. **D.** Regular com 12 bivalentes. **E.** Irregular com 2 univalentes (setas) e 11 bivalentes. **F.** Irregular com 4 univalentes (setas) e 10 bivalentes. **G.** Anáfase I regular. **H.** Telófase I irregular com 3 retardatários. **I.** Prófase II com micronúcleos. **J.** Metáfase II com cromossomo fora de placa e transferência de cromatina entre as células. **K.** Telófase II com retardatário. **L.** Tétrade irregular com 3 micronúcleos.

Saco embrionário

Foram realizadas análises de saco embrionário em *M. elytrochaetum*, RCO 2722. Nas demais espécies a quantidade de flores não foi suficiente. Dos 36 ovários examinados, 33 permitiram visualização das estruturas do óvulo, identificação e contagem das células no saco embrionário (tabela 5). Todos os óvulos apresentaram apenas um saco embrionário (figura 8).

Tabela 5. Número e tipo de células observadas em cada saco embrionário de *Mesosetum elytrochaetum*, RCO 2722.

Nº de ordem	Antípodas	Núcleos polares	Sinérgides	Oosfera
1	6	2	ND	1
2	7	2	2	1
3	5	2	2	1
4	6	2	2	1
5	4	2	ND	1
6	7	2	ND	1
7	6	2	ND	ND
8	ND	ND	ND	ND
9	7	2	2	1
10	5	2	ND	ND
11	7	2	ND	1
12	5	2	ND	ND
13	5	2	2	1
14	4	2	ND	ND
15	6	ND	ND	ND
16	7	2	ND	1
17	7	2	2	1
18	8	2	2	1
19	5	2	2	1
20	5	2	2	1
21	9	2	2	1
22	3	2	ND	1
23	10	2	ND	1
24	5	2	2	1
25	6	2	2	1
26	6	2	ND	1
27	5	2	2	1
28	5	2	ND	ND
29	ND	ND	ND	ND

30	4	2	ND	1
31	5	2	2	1
32	4	2	ND	1
33	6	ND	ND	ND
34	7	2	2	1
35	ND	ND	ND	ND
36	6	2	2	1

ND - Não determinado (óvulo colapsado, imaturo ou não clareado).

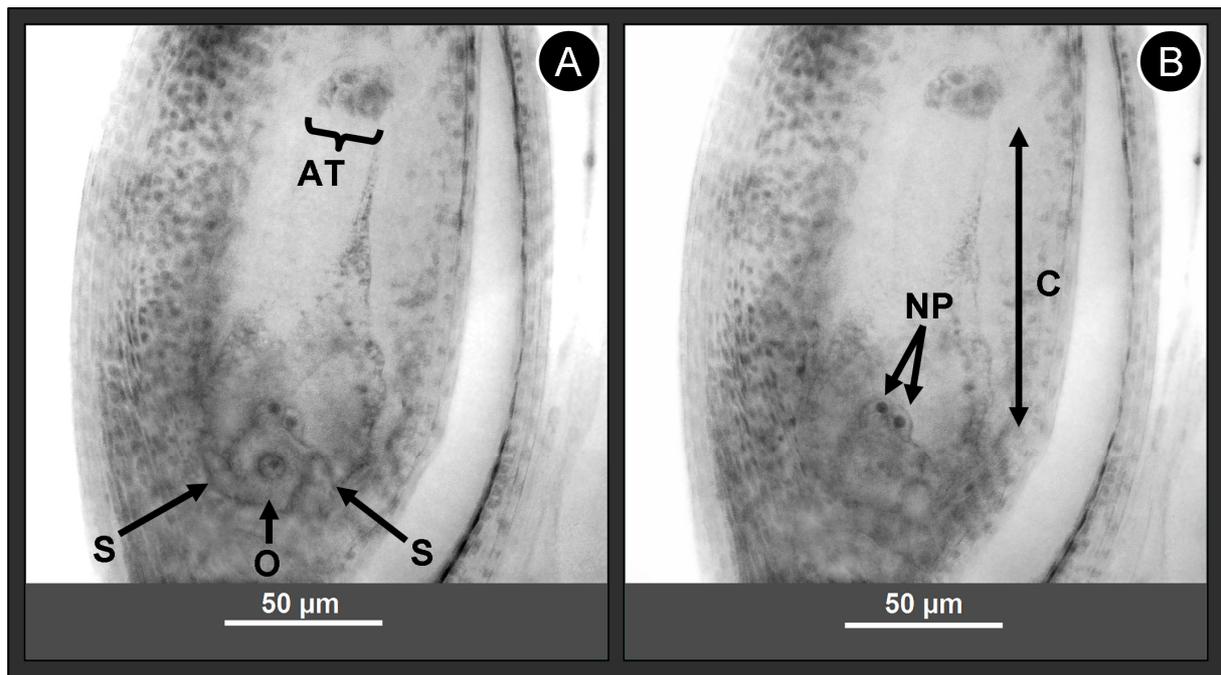


Figura 8. Micrografia de óvulo clareado, mostrando o saco embrionário de *Mesosetum elytrochaetum*, RCO 2722. **A-B.** Diferentes planos focais do saco embrionário número 9 (tabela 5). AT: antípodas, NP: núcleos polares na mesma célula central (C), S: sinérgide, O: oosfera.

As antípodas proliferadas foram observadas em número de 4 a 10 na região chalazal, com maior frequência de óvulos com 5-7 antípodas. Foram observados dois núcleos polares na célula central da maioria dos sacos embrionários analisados, o que caracteriza o tipo *Polygonum* (figura 8). A oosfera e sinérgides foram observadas na região micropilar. Esses dados sugerem o modo de reprodução do tipo sexual para *M. elytrochaetum*.

Algumas sinérgides não puderam ser claramente identificadas devido a sua proximidade com células da micrópila bem como pelas características citoplasmáticas e limites sutis.

3.4 – DISCUSSÃO

O número cromossômico de $2n=16$ foi confirmado para *M. bifarium*, já era conhecido anteriormente para as espécies *M. chaseae*, *M. loliiforme* e *M. pittieri* (Gould 1966, Gould & Soderstrom 1967, Pohl & Davidse 1971, Davidse & Pohl 1972, Sede *et al.* 2010, Silva *et al.* 2012).

As contagens com $2n= 24$ foram obtidas para *M. chaseae*, *M. elytrochaetum* e *M. longiaristatum*. No entanto o comportamento meiótico observado entre *M. chaseae* e *M. elytrochaetum* divergiu quanto à frequência de anormalidades.

Em *M. chaseae*, um novo citótipo de $2n=24$ cromossomos foi encontrado, contrariando os dados de Silva *et al.* (2012), que observaram $2n=16$ cromossomos para 10 populações da espécie e comportamento meiótico regular. Vale salientar que as populações analisadas por Silva *et al.* (2012) são oriundas do Mato Grosso do Sul e a população descrita no presente trabalho, com $2n=24$, é proveniente do estado do Mato Grosso. A distância estimada entre estas duas populações é de 320 km. A origem deste novo citótipo ainda permanece desconhecida, necessitando de mais coletas e estudos para a espécie.

Para *M. elytrochaetum*, também com $2n=24$, a meiose foi relativamente estável, com pareamento frequente em 12 bivalentes. As irregularidades ficaram em torno 22,29% e o índice meiótico foi de 75,93%, demonstrando estabilidade meiótica que contrastou com o comportamento obtido para *M. chaseae* (RCO 2772).

Para *M. longiaristatum* a contagem anterior obtida para RCO 2816 registrou $2n=8$ cromossomos e pareamento em 4 bivalentes. A análise de V 15812 e V 15841 encontrou novo

citótipo para esta espécie com $2n=24$ cromossomos e pareamento em 12 bivalentes para todas as células examinadas. A população com $2n=8$ cromossomos é proveniente de Teresina de Goiás-GO, enquanto as populações com $2n=24$ são provenientes do município de São Domingos-GO. A distância estimada entre os citótipos é aproximadamente 100 km. É provável existência de populações com $2n=16$ na região localizada entre estes dois municípios.

De acordo com Guerra (1988), as associações múltiplas, como as observadas em *M. bifarium* ($2n=16$) e *M. chaseae* ($2n=24$), se formam quando há homologia em mais de dois conjuntos cromossômicos, o que define a poliploidia, seja autopoliploidia ou aloploidia segmentar. Deste modo, os tetravalentes observados indicam a ocorrência de poliploidia no gênero *Mesosetum*.

Quarín *et al.* (1982) também observou alguns tetravalentes e associações secundárias entre bivalentes para *Paspalum cromyrorhizon* Trin. ex Döll Trin com citótipo de $2n=20$ cromossomos, considerado diploide no gênero *Paspalum*, cujo número básico é $x=10$. A partir destes tetravalentes e associações secundárias, Quarín *et al.* (1982) sugeriu a hipótese de que *P. cromyrorhizon* seria um diploide secundário ou tetraploide diploidizado e que o número básico desta espécie seria $x=5$.

Deste modo, as contagens anteriores com $2n=8$ ($x=4$), a presença de tetravalentes nos níveis de $2n=16$ e $2n=24$ cromossomos e o registro de citótipos múltiplos em *M. longiaristatum* ($2n=8$ e $2n=24$) e *M. chaseae* ($2n=16$ e $2n=24$) tornam ainda mais plausível a hipótese de poliploidia. É bastante provável que $2n=8$ cromossomos represente o nível diploide de *Mesosetum* sect. *Bifaria* com nível tetraploide para $2n=4x=16$ cromossomos e hexaploide para $2n=6x=24$ cromossomos.

A meiose regular predominante nas amostras de *M. bifarium* ($2n=16$) e *M. elytrochaetum* ($2n=24$) sugere que já houve estabilização no nível poliploide e que estes funcionem como diploides secundários.

A observação do saco embrionário em *M. elytrochaetum* sugere reprodução sexual para o nível de $2n=24$ cromossomos. Os resultados obtidos por Silva (2012) e observados no Capítulo II indicam que o modo de reprodução sexual ocorre nos níveis de $2n=8$, $2n=16$ e $2n=24$ para *Mesosetum* sect. *Bifaria*. É importante considerar que todos os citótipos investigados possuem meiose regular. Serão imprescindíveis as análises reprodutivas em RCO 2772, (*M. chaseae*) com finalidade de investigar se o modo de reprodução sexual também ocorre em citótipos com meiose irregular.

Plantas poliploides, geralmente, apresentam uma grande quantidade de anormalidades meióticas relacionadas à segregação irregular dos cromossomos, as quais acabam gerando micrósporos geneticamente desbalanceados, comprometendo a fertilidade do grão de pólen, o que pode limitar os programas de melhoramento para a geração da variabilidade genética (Pagliarini & Pozzobon 2005). A avaliação mais rigorosa da meiose, assim como do desenvolvimento do saco embrionário são prioridades, já que muitas vezes essas irregularidades na microsporogênese podem estar também, associadas às irregularidades na megasporogênese, que por sua vez poderiam dar origem a sacos embrionários apomíticos. No entanto, para a amostra analisada de *M. chaseae*, a possibilidade de origem por hibridação não está descartada, uma vez que outras espécies do gênero foram encontradas na mesma área de coleta.

As novidades trazidas, neste trabalho, reforçam a necessidade de estudos citogenéticos e trabalhos envolvendo hibridação, na busca de informações básicas, mas que são imprescindíveis para melhor compreensão das relações evolutivas entre as espécies de Paniceae *s.l.* e da família como um todo.

3.5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Araújo ACG, Falcão R, Simões KCR, Carneiro VTC. 2004. Identificação de acessos de *Brachiaria* com interesse ao estudo da apomixia facultativa. Boletim de pesquisa e desenvolvimento n. 74, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, 29 p.
- Dall'agnol M, Schifino-Wittmann MT. 2005. Apomixia, genética e melhoramento de plantas. R. Bras. Agrociência 11 (2):127-133.
- Davidse G, Pohl RW. 1972. Chromosome numbers, meiotic behavior, and notes on some grasses from Central America and the West Indies. Canadian Journal of Botany 50:1441-1452.
- De Wet JMJ. 1987. Hybridization and polyploidy in the Poaceae. *In*: Grass systematics and evolution (Eds TR Soderstrom, KW Hilu, CS Campbell, MA Barkworth). Smithsonian Inst. Press, Washington DC, p. 188-194.
- Giussani LM, Cota-Sanchez H, Zuloaga FO, Kellogg EA. 2001. A molecular phylogeny of the grass subfamily Panicoideae (Poaceae) shows multiple origins of C4 photosynthesis. American Journal of Botany 88:1993-2012.
- Gould FW. 1966. Chromosome numbers of some Mexican grasses. Canadian Journal of Botany 44:1683-1696.
- Gould FW, Soderstrom TR. 1967. Chromosome numbers of tropical American grasses. American Journal of Botany 54:676-683.
- Guerra M. 1988. Introdução à citogenética geral. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 142 p.
- Hilu K. 2004. Phylogenetics and chromosomal evolution in the Poaceae (grasses). Australian Journal of Botany 52:13-22.

- Hojsgaard D, Honfi AI, Rua G, Daviña J. 2009. Chromosome numbers and ploidy levels of *Paspalum* species from subtropical South America (Poaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution* 56: 533-545.
- Hunziker JH, Stebbins GL. 1987. Chromosome evolution in the Gramineae. *In*. *Grass Systematics and Evolution*. (T Soderstrom, KW Hilu, CS Campbell, M Barkworth, eds.) Smithsonian Inst., Washington, p. 179-187.
- Love RA. 1949. Estudos Citológicos Preliminares de Trigos Riograndenses. Circular n° 74, Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 14 p.
- Ma GH, Huang XL, Xu QS, Eric B. 2009. Multiporate pollen and apomixis in Panicoideae. *Pakistan Journal of Botany* 41(5):2073-2082.
- Morrone O, Aagesen L, Scataglini MA, Salariato DL, Denham SS, Chemisquy MA, Sede SM, Giussani LM, Kellogg EA, Zuloaga FO. 2012. Phylogeny of the Paniceae (Poaceae: Panicoideae): integrating plastid DNA sequences and morphology into a new classification. *Cladistics* 28:333-356.
- Pagliarini MS, Pozzobon MT. 2005. Meiose em vegetais: um enfoque para a caracterização de germoplasma. *In* II - Curso de Citogenética aplicada a Recursos Genéticos Vegetais (APS Peñaloza, coord.). Documentos 154, Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, Brasília-DF, p. 24-41.
- Pohl RW, Davidse G. 1971. Chromosome numbers of Costa Rican grasses. *Brittonia* 23:293-324.
- Pozzobon MT, Valls JFM. 1997. Chromosome number in germplasm accessions of *Paspalum notatum* (Gramineae). *Brazilian Journal of Genetics* 20:29-34.
- Quarín CL, Hanna WW, Fernández A. 1982. Genetic studies in diploid and tetraploid *Paspalum* species. *The Journal of Heredity* 73:254-256.

- Quarín CL, Norrmann GA, Espinoza F. 1998. Evidence for autopoloidy in apomictic *Paspalum ru fum*. *Hereditas* 129:119-124.
- Savidan Y, Carman JG, Dresselhaus T. (eds). 2001. The Flowering of Apomixis: From Mechanisms to Genetic Engineering. CIMMYT, IRD, European Commission OC VI (FAIR), México-DF, 243 p.
- Sede S, Escobar A, Morrone O, Zuloaga FO. 2010. Chromosome studies in American paniceae (Poaceae-Panicoideae). *Annals of Missouri Botanical Garden* 97:128-138.
- Silva LAC. 2012. Citogenética e sistema reprodutivo da grama-do-cerrado (*Mesosetum chaseae* Lucas, Poaceae), Tese de doutorado, Universidade Estadual de Maringá, Maringá-PR, 48 p.
- Silva LAC, Pagliarini MS, Santos SA, Silva N, Souza VF. 2012. Chromosome number, microsporogenesis, microgametogenesis, and pollen viability in the Brazilian native grass *Mesosetum chaseae* (Poaceae). *Genetic and Molecular Research* 11(4):4100-4109.
- Stebbins, GL. 1956. Cytogenetics and Evolution of the Grass Family. *American Journal of Botany* 43(10):890-905.
- Thiers B. 2013. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/> (accessed 2013 Jan. 02).
- Valle CB, Savidan Y. 1996. Genetics, cytogenetics, and reproductive biology of *Brachiaria*. *In Brachiaria: biology, agronomy and improvement* (JW Miles, BL Maass, CB Valle, eds.). Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária – EMBRAPA, Cali, Colombia, p. 147-163.