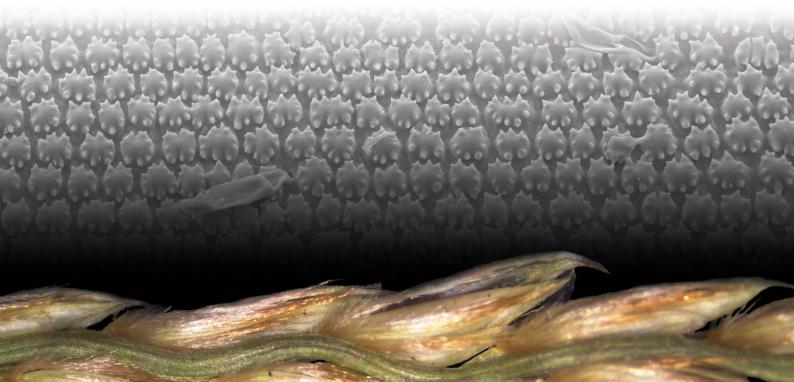


Citogenética e morfologia de espécies de Mesosetum Steud. (Poaceae, Paspaleae)

Mayco Werllen dos Santos Sousa 2014



Citogenética e morfologia de espécies de Mesosetum Steud. (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: Mayco Werllen dos Santos Sousa

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

BRASÍLIA – DF JUNHO/2014 Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade de Brasília. Acervo 1016125.

Sousa, Mayco Werllen dos Santos.

S725c

Citogenética e morfologia de espécies de Mesosetum Steud. (Poaceae, Paspaleae) / Mayco Werllen dos Santos Sousa. -- 2014.

vii, 61 f.: il.; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade de Brasília, Instituto de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Botânica, 2014.

Inclui bibliografia.

Orientação: Regina Célia de Oliveira.

 Botânica - Morfologia. 2. Citogenética. I. Oliveira, Regina Célia de. II. Título.

CDU 581.4

Citogenética e morfologia de espécies de *Mesosetum* Steud. (Poaceae, Paspaleae)

-	foi julgada adequada para obtenção do Titulo de Mestre em Botânica e a forma final pelo Programa de Pós- Graduação em Botânica da Universidade
de Brasília.	
Aprovada em:_	
	BANCA EXAMINADORA
	Profa. Dra. Regina Célia de Oliveira (Orientadora) Universidade de Brasília/ UnB
	Dr. José Francisco Montenegro Valls (Examinador externo vinculado à Universidade de Brasília) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/ EMBRAPA
	Dra. Ana Cláudia Guerra de Araújo (Examinador externo) Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária/ EMBRAPA
	 Dra. Micheline Carvalho Silva

(Suplente)
Universidade de Brasília/ UnB

Sigo um caminho sem rumo, corajoso e inseguro, lançando-me em cordas instáveis] Quero sentir a recompensa por vir de que não parei por aqui, mas me lancei à sorte...].

André Leal.



AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por fazer dos meus medos poeira, por me fazer sentir amado e amparado, pelo seu sim em minha vida e por toda proteção e por me propiciar vôos cada vez maiores, abrindo os meus caminhos e colocando seus anjos por onde passo.

A minha família, minha Mãe Ana Maria dos Santos, por seu apoio incondicional às minhas loucuras, por estar sempre do meu lado, pelo amor gigante que me da de graça todos os dias e seu sorriso lindo que me motiva a seguir meu caminho em busca de dias melhores. Aos meus três irmãos Melk, Samantha e Sâmia, por todo apoio e carinho ao longo dessa caminhada.

À Dra. Regina Célia de Oliveira, que dispôs do seu tempo a me ensinar cuidadosamente todo o universo botânico e, sobretudo o mundo das gramíneas. A sua confiança, alegria e disponibilidade a ensinar "um analfabeto científico". Os puxões de orelha que em sua face oculta sempre existiu e existe muito esmero, carinho, dedicação e cuidado à formação de um jovem botânico. Sou muito orgulhoso de ser seu orientando, e tudo o que tenho aprendido serão levados para além da minha vida acadêmica. Que nossa parceria científica perdure muitos anos.

À Dra. Marisa Tonilo Pozzobon, pelo seu acolhimento e ensinamentos no Laboratório de Citogenética Vegetal, por toda sua paciência em ensinar, esse mundo maravilhoso da citogenética, bem como o trato e o labor diário de um pesquisador em citogenética.

À Dra. Sueli Maria Gomes, por sua disponibilidade em sempre ensinar, por muitas vezes sanar minhas dúvidas e por seu voto de confiança. É um exemplo de profissional a ser seguido.

Ao Dr. Christopher William Fagg, por ter- me cedido à bolsa que subsidiou minha estadia em Brasília, por suas valorosas contribuições no trabalho, desde a banca de defesa de projeto ate o fim do mesmo.

Ao Dr. José Francisco Montenegro Valls, por todo conhecimento dado de bom grado, as excelentes conversas e saídas de campo. Por instigar questionamentos profundos e mostrar que a Botânica se reside no que é simples e ao mesmo tempo complexo. Por sua disponibilidade em sempre nos ajudar, pelas excelentes bibliografias e, sobretudo as discussões que tivemos sobre o trabalho e tudo relacionado a gramíneas.

Ao meu amigo André Leal, pela amizade dispensada, apoio e motivação durante o mestrado, por sempre me ajudar e ouvir meus perrengues e anseios quanto ao curso e, sobretudo por me ajudar a rever os textos da dissertação e pelas excelentes conversas.

À Desirée Ramos, pelas saídas de campo sempre muito animadas, por sempre me incentivar, pelas excelentes conversas e sobre os "toques" assim que comecei a escrever a dissertação e por sua revisão.

À André Rodolfo e Anádria Silva, pelos ensinamentos, e pela ajuda nas etapas de morfologia, analisem em MEV e citogenética. Muito obrigado pelo apoio de vocês.

À Rodolfo Patini, que sempre me ajudou a melhorar minhas imagens, no programa de Photoshop e pela bela capa da minha dissertação.

À Darli Nuza pela ajuda nas capas dos capítulos e por sua amizade, que me ensina a ver a vida com mais leveza.

À minha família amada do Piauí, minhas tias Fátima e Maria Nina (in memoriam) por sempre me ajudar e dar seu apoio, a minha avó Gerusa pelo seu carinho e amor. Meus Padrinhos e Madrinhas: Carmosa e Pedro, Odailde e Maria Oneide, Pedro e Deilson, por todo apoio. Meus primos e afilhados a confiança de todos vocês em mim, me deixa forte, seguro para enfrentar as dificuldades e supera-las. Muito Obrigado, por tudo!

À minha família amada de Brasília que me recebeu e me recebe de braços abertos todos os dias e tenho certeza que se não fosse pela ajuda de todos na etapa inicial eu não estaria realizando esse grande sonho. Muito obrigado! Vó Zilda, Tio Mazim e Cristina,Rejane e Magno, e meus primos, os de sangue e os postiços, serei eternamente grato e essa conquista também e de vocês.

À Nayra Bomfim, por sempre ter me ajudado e incentivado e por sua revisão nos textos, muito obrigado por sua amizade.

À Dani Hashimoto, por me apoiar no Laboratório de Citogenética da UnB, e ensinar a mexer no microscópio e assim começar minha pesquisa. E a todos do laboratório.

À Professora Andréa Peñaloza, grande pesquisadora! Pelo acolhimento no Laboratório de Citogenética Vegetal da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, pelas bibliografias e ensinamentos.

À Sileuza Santos, pelo auxílio e pelo ensino no uso de equipamentos e reagentes no Laboratório de Citogenética Vegetal da Embrapa Recursos Genético e Biotecnologia.

Aos técnicos do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura da UnB e Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, por seu auxílio nas análises.

Aos técnicos do Laboratório de Anatomia Vegetal da UnB: Daiane, Lucas Maia e Bernardo, por sua ajuda no preparo de reagentes e auxílios no campo.

Aos colegas da Botânica, Natacha, Andressa, Reneida, Renata Cristina, André Kennedy, Aline, Danielle, Rafaela, Priscila, Erica, Josimar, Alan, Osvanda e Evellin, pelas

conversas, desabafos e prospecções de futuro junto à botânica, e pelas discussões sobre nossos trabalhos, motivo de orgulho!

Aos meus amigos do Piauí e de Brasília, aqui todos representados por duas pessoas: Jakeline e Karen, muito obrigado, pelo apoio e incentivo e de me fazer enxergar por mais que o cansaço fosse maior que eu era capaz e que não era para desistir.

À Jarbas e Célia, pela acolhida em sua casa e por sua confiança depositada em mim.

Aos "Compas" da Colina Eder, Luis e Hernandoe pelo convívio amistoso, amigável e divertido nesses meses que estamos convivendo.

As amizades que fiz na Colina Amanda, Danille, Luciana, Rodolfo, Aramis e José, obrigado pela companhia e conversas desestressantes.

Aos professores do Departamento de Botânica, pela cortesia e educação, com a qual tem me tratado durante o curso de Mestrado.

Por último, mas não menos importante a Capes/Protax projeto número 562340/2010-6 pela bolsa de estudo concedida pelo suporte financeiro a pesquisa.

Resumo

Mesosetum Steud. é um gênero americano e compreende 25 espécies que distribuemse do México até a Argentina. O gênero tem centro de diversidade no Brasil Central e há espécies consideradas raras e endêmicas. Coletas adicionais tem mostrado maior variabilidade morfológica do que as descritas nas duas revisões taxonômicas disponíveis de Mesosetum e dificuldades na delimitação de alguns táxons têm surgido. Dentre as espécies com dificuldade de delimitação figuram Mesosetum cayennense e M. rottboellioides, consideradas sinônimos por alguns autores, sendo que não há estudos cromossômicos anteriores para essas espécies. O número cromossômico básico até então relacionado ao gênero é x=8. No entanto, dados adicionais tem mostrado citotipos com 2n=8, 2n=16, 2n=24 e 2n=32 cromossomos. O objetivo dessa presente dissertação foi discutir características morfológicas aliadas à citogenética que auxiliassem a delimitação taxonômica de Mesosetum cayennense e M. rottboellioides e ampliar o conhecimento citogenético do gênero, com a adição de contagens e análises meióticas de espécies de várias seções, como subsidio à taxonomia. O trabalho foi feito com base em coletas, observação a campo e das espécies sob cultivo, e análises de vouchers de herbário. A morfologia foi descrita com base em dados macromorfológicos e micromorfologia do antécio superior em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para a citogenética, foram realizadas coletas de inflorescências em solução fixadora de Carnoy (meiose) e pontas de raizes (mitose) em α- Bromonaftaleno de 12 acessos, de seis espécies distribuídas nas seções: Loliiformia, Mesosetum e Sclerochloae. Foi possível a descrição de novos caracteres macromorfológicos de valor taxonômico, utilizados na diferenciação de M. cayennense e M. rottboellioides. A micromorfologia do antécio superior foi homogênea, não fornecendo caracteres distintivos para essas espécies. Foram encontradas espécies de Mesosetum com números cromossômicos de 2n=8, 2n=16, 2n=20, 2n=24, 2n=32 e 2n=60. Os números cromossômicos 2n=20 e 60 são inéditos para o gênero e sugerem um novo número básico, x=10. As espécies com x=10 pertencem à seção *Mesosetum* que, foi considerada basal no gênero na última revisão do grupo. Por estarem num clado cujo número básico é x=10, nossos dados também corroboram que a seção é basal ou indicam que o gênero pode ser parafilético. O comportamento meiótico foi regular para as espécies com número de cromossomos 2n=8, 2n=16 e 2n=20 e irregular em M. loliiforme, com 2n= 24, um novo número para a espécie. Análises não conclusivas de acessos de M. loliiforme com 2n=16 e 2n=32 mostram tendência à irregularidades. Assim, sugere-se ocorrência de poliploidia na evolução do gênero Mesosetum.

Palavras-chave: Morfologia, Arthropogoninae, mitose, meiose, poliploidia, número cromossômico básico.

Abstract

Mesosetum Steud. is an American genus and composed by 25 species distributed from Mexico to Argentina. The genus center of diversity is in Central Brazil and circumscribe some rare and endemic species. Additional collections have shown greater morphological variability than described in the two taxonomic reviews of the Mesosetum, and several difficulties in the delimitation of some taxa have appeared. Among the species with difficulty of delimitation are *Mesosetum cavennense* and *M. rottboellioides*, both considered synonyms by authors. The basic chromosome number recorded for the genus is x=8, but there is no chromosome data published for Mesosetum cayennense and M. rottboellioides. However, additional data has shown cytotypes with 2n=8, 2n=16, 2n=24 and 2n=23 chromosomes. The purpose of the present dissertation is to discuss morphological traits coupled with cytogenetic data which can be useful to taxonomic delimitation of Mesosetum cayennense and M. rottboellioides improving the chromosome knowledge of the genus, with additional chromosomes counts and meiotic analysis of species from several sections. The work was based in collection, observation of the species in field and those under cultivation, and analysis of herbarium vouchers. The morphological analysis was made based on macromorphological traits and on the micromorphology of the superior anther under Scanning Electron Microscopes (SEM). For cytogenetic, we collected inflorescences in Carnoy solution (meiosis) and root caps (mitosis) in α bromonaphthalene for 12 accessions of six species distributed in the following sections: Loliiformia, Mesosetum and Sclerochloae. The description of new macromorphological traits of taxonomic value used in the distinction of M. cayennense and M. rottboellioides has been proven possible. The micromorphology of the upper floret shown homogeneity in this character, giving no distinctive traits for these species. Species of *Mesosetum* have been found with chromosome numbers of 2n=8, 2n=16, 2n=20, 2n-24, 2n=32 and 2n=60. The chromosome number of 2n=20 and 60 are new to the genus and suggest a new basic number of x=10. The species with x=10 belong to the *Mesosetum* section, which has been considered basic in the genus on the last group review. The Mesosetum section belongs to a clade with the basic number of x=10, and for this reason, the new chromosome number found indicates that, either the section is basic or that the genus is paraphyletic. The meiotic behavior is regular in the species with chromosome numbers of 2n=8, 2n=16 and 2n=20 and irregular, in M. loliiforme with 2n=24, which is a new number for this species. Inconclusive analysis of accessions of M. loliiforme with 2n=16 and 2n=32 show tendency to irregularity. Thus, polyploidy is suggested in the evolution of the Mesosetum genus.

Keywords: Morphology, Arthropogoninae, mitosis, meiosis, polyploidy, basic chromossome number

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	xiii
LISTA DE FIGURAS	xiv
INTRODUÇÃO GERAL	1
REVISÃO DE LITERATURA	4
1- Características citogenéticas	4
1.1 - Citogenética e Citotaxonomia	4
1.2- Citogenética em Poaceae	5
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	7
CAPITULO I- NOVO NÚMERO BÁSICO DE CROMOSSOMOS I	
MESOSETUM E DISTINÇÃO DE ESPÉCIES COM BASE EM COMPO	
MEIÓTICO, MOROFLOGIA, FENOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO	
1.1-INTRODUÇÃO	13
1.2-MATERIAIS E MÉTODOS	14
1.3-RESULTADOS	
1.4-DISCUSSÃO	35
1.5-CONCLUSÃO	37
1.6-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
CAPITULO II: NOVAS CONTAGENS E COMPORTAMENTO MI	EIÓTICO DE
ESPECIES DE MESOSETUM STEUD	41
2.1-INTRODUÇÃO	41
2.2-MATERIAIS E MÉTODOS	42
2.3-RESULTADOS	45
2.4-DISCUSSÃO	54
2.6-CONCLUSÃO	57
2.5-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57
CONCLUSÃO GERAL	60

LISTA DE TABELAS.

CAPITULO I

Tabela 1: Vouchers das espécies de Mesosetum coletadas e analisadas citogeneticamente no presente trabalho e depositados no herbário da Universidade de Brasília.
Tabela 2: Vouchers utilizados na descrição morfológica, local de coleta, coordenadas herbários, número de tombo e coletor de espécies de Mesosetum.
Tabela 3: Caracteres e estados de caráter utilizados analisados em M. cayennense e M rottboellioides
Tabela 4: Contagens cromossômicas em espécies de Mesosetum, número do coletor e número cromossômico. 31
Tabela 5: Comportamento meiótico de Mesosetum cayennense
Tabela 6: Comportamento meiótico de <i>Mesosetum rottboellioides</i> 32
CAPITULO II Tabela 1: Espécies de <i>Mesosetum</i> coletadas no presente trabalho com respectivos dados de coletores, número e local da coleta
Tabela 2: Contagens cromossômicas em espécies de Mesosetum, coletor e número, número cromossômico e ciclo de vida
Tabela 3: Comportamento meiótico de Mesosetum annuum (n=4), total de células analisadas para as fases da meiose I e II, acesso ASS 269
Tabela 4: Comportamento meiótico de Mesosetum sclerochloa (n=8), total de células analisadas para as fases da meiose I e II, acesso RO
281048
Tabela 5: Comportamento meiótico de Mesosetum loliiforme (n=12), total de células analisadas para as fases da meiose I e II, acesso M.W 63
Tabela 6: Relação das espécies incluídas por Morrone <i>et al.</i> (2012) na subtribo Arthropogoninae, contagens cromossômicas disponíveis e respectivas referência bibliográfica C.C.= Contagem Cromossômica. s.d. = sem dado disponível

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO I

Figura 1 : Área de ocorrência documentada de <i>M. cayennense</i> + e <i>M. rottboellioides</i> ▲20
Figura 2 : Eixo "x" corresponde aos meses com registro de coleta de espécimens de <i>M. cayennense</i> e <i>M. rottboellioides</i> e o "y" indica o número de exsicatas colhidas por mês, segundo dados obtidos dos materiais de herbário
Figura 3: Acessos de M. cayennense e M. rottboellioides. A- B: M.cayennense. (RCO- 2744):
A- Hábito B. Disposição das folhas no colmo (RCO 2810). C-D. M. rottboellioides. (PAR-
331): C. Exsicata de herbário evidenciando estolão (seta) (G. Davidse 15116) e, D . Evidência
a distribuição das folhas concentrada na base da planta (entrenós curtos)22
Figura 4: Gluma I de Mesosetum cayennese e M. rottboellioides. A-B- M. cayennese (GHR
940): evidenciando os tufos de tricomas. A. Vista Dorsal, seta indica dois tufos organizados
no terço médio. B. Vista Dorsal, seta indica tricomas na superfície circundante. C-D. M.
rottboellioides (PAR 331): setas indicam cílios nas nervuras laterais e margens homogêneas
ao longo do comprimento até a porção mediana da gluma. Barra: 1mm25
Figura 5: Gluma II de Mesosetum cayennese e M. rottboellioides. A-B- M. cayennese (GHR
940): evidenciando os tricomas. A. Micrografia Eletrônica, Vista Dorsal, seta indica a "arco"
na base e o circulo os dois tufos organizados no ápice. B. Lema, tricomas indicados pela seta.
C-D. M. rottboellioides (PAR 331): evidenciando tricomas. Barra: A: 10µm. B, C-D:
1mm26
Figura 6: Tricomas curtos e largos do Lema, na superfície dorsal marginal. A. M.
cayennense. (GHR 940); B . M. rottboellioides (PAR 331)27
Figura 7: Fotomicrografia do Antécio Superior em MEV de A-B Mesosetum cayennense.
(RG 630): A- Fileiras de estômatos. B As imagens evidenciam os estômatos. Barra:
10μm27
Figura 8 : Fotomicrografia da tampa de germinação de <i>M .cayennense</i> e <i>M. rottboellioides</i> :
A-B M. cayennense. A- Visão geral da superfície dorsal (J.J Graville 15423); B- Papilas
dupla (GHR 940); C-D M. rottboellioides. C- Papilas em forma de estrela (Hatschabach
55064); D- Papila redonda e várias pontas (Hubber 5207). Barra:
100um

dorsal; B- Detalhe das papilas estreladas (seta); C- Região distal do lema superior com papilas simples em uma única célula epidérmica (seta); D- Detalhe das papilas da região distal simples (seta). Barra: 10µm
Figura 10 : Fotomicrografia do lema superior de <i>M. rottboellioides</i> . A – Visão geral da superfície dorsal (Wurback 43753); B- Papilas dupla (Hubber 2335) C- Papilas em forma de estrela (Hatschabach 55064) do lema superior; D- Papila redonda e várias pontas (Hubber 5207). Barra: A- 10μm. B,C-D- 1μm
Figura 11 . Comportamento meiótico em células-mãe de anteras de <i>M. cayennense</i> Steud. A . Diacinese. B . Metáfase I. C . Anáfase I. D . Telófase I. E . Prófase. F. Metáfase II e divisão assicrônica (seta). G . Anáfase II. H . Telófase II. I . Tétrade. <i>Voucher</i> : G.H. Rua 940. Legenda: em ordem alfabética das letras usadas. Escala: A-D, I= 10 μm
Figura 12 . Comportamento meiótico em células-mãe de anteras de <i>M. rottboellioides</i> (Kunth) Hitchc. A . Diacinese. B . Metáfase I. C . Anáfase I. D . Anáfase I com retardatário. E . Telófase I. F. Prófase II G . Telófase II. H . Divisão assicrônica. I . Tétrade. <i>Voucher</i> : P. A. Reis 331. Escala: A-D, I= 10 μm
Figura 13: Número cromossômico somático de <i>M. cayennense e M. rottboellioides</i> . A . <i>M. cayennense</i> (<i>Voucher</i> : GHR 940). B <i>M. rottboellioides</i> (<i>Voucher</i> : PAR 331). Barra: 10μm
CAPITULO II
Figura 1: Comportamento meiótico em células-mãe de grão de pólen de <i>Mesosetum annuum</i> Swallen com 2n=8 cromossomos: A. Diacinese; B Metáfase I; C Anáfase I; D . Telófase I; E . Prófase II; F Metáfase II; G Anáfase II; H Assicronia com ponte; I . assincronia de metáfase II e telófase II; J . Telófase II; L Tétrade regular. (A.S.Silva 269) Barra: 10 μm
Figura 2: Comportamento meiótico em células-mãe de grão de pólen de <i>M. sclerochloa</i> Hitchock. com 2n=16 cromossomos: A. Diacinese. B. Metáfase I. C Anáfase I. D. Telófase I. E. Prófase II. F Metáfase II. G Anáfase II. H Assincronia de metáfase II com anáfase II. I Telófase II. J Tétrade regular. (R.C.Oliveira & C.W. Fagg 2810). Barra: 10μm49
Figura 3: Células meióticas em Diacinese de acessos de <i>Mesosetum loliiforme</i> (Hochst. ex Steud.) Chase: A . Acesso com 2n=16 cromossomos (Valls <i>et al.</i> 15902) e pareamento em

Figura 9: Fotomicrografia do lema superior de M. cayennense (GHR 940). A. Superfície

bivalentes. B . Acesso com 2n=16 cromossomos (Valls et al. 15914) e pareamento em						
bivalentes. C. Acesso com 2n=16 cromossomos (Valls et al. 15896) com pontes e aderências.						
D . Acesso com 2n=32 cromossomos (M.W.S. Sousa 66) com pontes, aderências e formação						
de tetravalentes. Barra: 10µm50						
Figura 4: Comportamento na meiose I em células-mãe de grão de pólen de Mesosetum						
lolii forme (Hochst. ex Steud.) Chase com $2n=24$ cromossomos: A-B. Diacineses. A Normal.						
B. Tetravalentes (seta). C-D. Metáfases I C. Normal. D. Com retardatários (seta). E-F.						
Anáfases I. E. Normal. F. Com retardatários (seta). G-H. Prófases II. G. Normal. H. Com						
retardatários (seta). I. Prófase II normal. (M.W.S. Sousa & R.C. Oliveira 63). Barra:						
10μm52						
Figura 5: Comportamento em meiose II em células-mãe de grão de pólen de Mesosetum						
$loliiforme$ (Hochst. ex Steud.) Chase com $2n=24$ cromossomos: ${\bf J.}$ Prófase II com						
Retardatários. L. Metáfase II. M -N Telófases II. M . Normal. N. Com retardatários (seta). O-						
P. Tétrades. O. Normal. P. Com micronúcleo (seta). (M.W.S. Sousa & R.C. Oliveira 63).						
Barra: 10µm53						
Figura 6: Metáfase mitótica em ponta de raiz de Mesosetum ferrugineum (Trin.) Chase						
(M.W.S. Sousa & D.M. Ramos 64). Setas indicam sobreposição de						
cromossomos54						

INTRODUÇÃO GERAL

As gramíneas representam o componente básico de diversos ecossistemas terrestres, desempenhando papéis ecológicos diversos e contribuindo significativamente para a biodiversidade local. Ecossistemas savânicos tropicais, como o Cerrado brasileiro e a Savana africana, caracterizam-se pelo estrato herbáceo composto por um tapete graminoso, que produz biomassa expressiva e faz parte da cadeia alimentar (Jacobs *et al.* 1999, Shaw 2000). Nesses ecossistemas, verifica-se ampla diversidade de espécies de Poaceae, que se destaca como uma das mais importantes famílias na sua composição florística (Haase & Beck 1989; Davis *et al.* 1994; Mendonça *et al.* 2008).

O número estimado de espécies para a família é quase unânime na opinião da comunidade científica, estando representada por cerca de 790 gêneros e 10.000 espécies distribuídas em todo o mundo (Clayton & Renvoize 1986; Watson & Dallwitz 1992). Para o Brasil, são citados 218 gêneros e 1440 espécies (Filgueiras *et al.* 2014). É a quinta família botânica em número de espécies e a maior em número de indivíduos (Nascimento e Renvoize 2001).

A família ocorre dos círculos polares ao Equador e de cumes de montanhas ao nível do mar. Poucas formações vegetais não têm gramíneas e muitas, como as estepes, pradarias, campos de altitude, campos rupestres e cerrado, são dominadas por estas (Heywood 1993). Aproximadamente um terço da cobertura vegetal da Terra compreende savanas, campos e outros ecossistemas dominados por gramíneas (Shantz 1954).

GPWG (2001) reconhece 12 subfamílias em Poaceae. A subfamília Panicoideae tem sido reconhecida como monofilética (GPWG 2001, Vicentini *et al.* 2008, Sánchez-Ken & Clark 2010). As sinapomorfias morfológicas que caracterizam a subfamília são: a presença de espigueta com dois antécios; antécio inferior masculino ou neutro e o superior perfeito e, cariopse com grãos de amido simples (Kellogg & Campbell 1987).

GPWG (2001) considera que Panicoideae tem 3.270 espécies agrupadas em 206 gêneros e seis tribos, Andropogoneae Dumort., Arundinelleae Stapf, Hubbardieae C.E. Hubb. Isachneae Benth., Paniceae R.Br. e Steyermarkochloeae Davidse & R.P. Ellis.

As tribos Paniceae e Andropogoneae tem o maior número de espécies e gêneros, dentro da subfamília Panicoideae (Gómez-Martínez & Culham 2000; Duvall *et al.* 2001; Giussani *et al.* 2001; Mathews *et al.* 2002).

Mesosetum Steud. é relacionado à subfamília Panicoideae, tribo Paniceae I.s., num clado de espécies americanas com x = 10, segregada como a tribo Paspaleae (Morrone *et al.* 2012). Em Paspaleae, Mesosetum é relacionado à subtribo Arthropogoninae num subclado

constituído pelos gêneros monoespecíficos *Tatianyx arnacities* (Trin.) Zuloaga & Soderstr. e *Keratochlaena rigidifolia* (Filg., Morrone & Zuloaga) Morrone & Zuloaga. Ambas as espécies são endêmicas do Brasil (Morrone *et al.* 2012). O subclado Arthropogoninae, no qual *Mesosetum* está inserido, é heterogêneio e foi chamado de "clado ambíguo" (Giussani *et al.* 2001).

Mesosetum foi citado pela primeira vez por Steudel (1850), mas, somente quatro anos depois, foi feita a primeira descrição formal do gênero. Mesosetum cayennense Steud. é a espécie tipo do gênero, que foi descrito como monotípico (Steudel 1854). Chase (1911) aceitou o gênero e fez a primeira descrição abrangente do grupo e, criou duas seções: Mesosetum e Bifaria (Hack.) Chase. Ao passar do tempo Mesosetum teve varias espécies descritas e incorporadas.

A primeira grande revisão do gênero foi feita por Swallen (1937), que aceitou 33 espécies, das quais descreveu quinze novas, fez duas novas combinações e dividiu o gênero em seis seções: *Fulva* Swallen, *Annua* Swallen, *Bifaria* (Hack.) Chase, *Penicillata* Swallen, *Loliiformia* Swallen *e Sclerochloae* Swallen e mais um grupo de sete espécies, isoladas qual foi denominado "ungrouped species".

Filgueiras (1989) revisou novamente o gênero e aceitou quatro das seções descritas por Swallen (1937), *Bifaria*, *Loliiformia*, *Penicillata* e *Sclerochloae*, fundiu a seção *Annua* com *Loliiformia*, e corrigiu o nome da seção *Fulva* para *Mesosetum*, além de ter alocado as espécies não agrupadas nessas seções.

O gênero *Mesosetum* com cerca de 25 espécies de distribuição Neotropical, que ocorrem do sul do México ao nordeste da Argentina (Filgueiras, 1989). Filgueiras (1989) enfatiza que, no Brasil, encontra-se a maior ocorrência de espécies do gênero, sendo catalogadas 20 espécies

O gênero *Mesosetum* é reconhecido pela inflorescência em espiga solitária, terminal, espiguetas com a primeira gluma adaxial à ráquis, lema inferior provido de tricomas e cariopse com hilo linear (Filgueiras, 1989).

O presente estudo englobou espécies das seções *Loliiformia*, *Mesosetum* e *Sclerochloae*. Na seção *Mesosetum*, são aceitas três espécies (*Mesosetum cayennense* Steud., *M. ferrugineum* (Trin.) Chase e *M. rottboellioides* (Kunth) Hitchc.). Esta seção caracteriza-se pelas espiguetas com glumas e lema inferior com tricomas ferrugíneos e em tufos e ausência de pálea no antécio inferior (Filgueiras 1989).

Sclerochloae é constituída por duas espécies anuais (M. sclerochloa (Trin.) Chase e M. pittieri Hitchc.), com as glumas e o lema inferior com ápice corrugado e o antécio inferior com pálea bem desenvolvida (Filgueiras 1989).

A seção *Loliiformia* é composta por sete espécies, anuais e perenes (*M. annum* Swallen, *M. arenarium* Swallen, *M. comatum* Swallen, *M. chlorostachyum* (Döll) Chase, *M. gibbosum* Renvoize & Filg., *M. loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase in Hitchcock e *M. pappophorum* (Nees) Kuhlm.). É caracterizado, pela primeira gluma assimétrica, inflada e segunda gluma triangulada, com 3- nervuras (Filgueiras 1989).

Ao que concerne à citogenética, os dados publicados são incipientes, havendo relato dos números cromossômicos para *M. pittieri* (Gould 1966, Pohl & Davidse 1971), *M. loliiforme* (Gould & Soderstrom 1967, Davidse & Pohl 1978, Sede *et al.* 2010), *M. chaseae*, *M. alatum* Filg., *M. ansatum* (Trin.) Kuhlm., *M. longiaristatum* Filg., *M. bifarium* (Hack.) Chase e *M. elytrochaetum* (Hack.) Swallen (Silva, 2012; Ribeiro, 2013).

O objetivo desse trabalho é ampliar o conhecimento citogenético e morfológico do gênero *Mesosetum*, como subsídio à taxonomia, para a compreensão da evolução do clado.

Os dados foram organizados em dois capítulos. O primeiro versa sobre a complexa circunscrição de *M. cayennense* e *M. rottboellioides*. Fornece dados morfológicos e citogenéticos que fundamentam a distinção de ambas as espécies. Os novos números relacionados a essas espécies sugerem número básico novo para *Mesosetum*.

O segundo capítulo traz novas contagens e análises meióticas de espécies de *Mesosetum* de três seções distintas e mostra que a poliploidia vem interferindo na evolução do gênero.

REVISÃO DE LITERATURA

1- Características citogenéticas.

1.2 - Citogenética e Citotaxonomia

Desde Mendel, a citologia e a genética passaram a colocar seus conhecimentos em um único campo de estudo, sendo, mais tarde, agrupadas na citogenética. Deste desenvolvimento, a citogenética expandiu-se enormemente, se inserindo em vários outros campos da Biologia, como a Taxonomia, a Bioquímica, a Medicina Clínica e o Melhoramento Genético Animal e Vegetal (Guerra 1990).

Os dados citogenéticos vem sendo aplicados na taxonomia de plantas desde o inicio do século passado (Guerra 1990). A primeira observação foi feita por Ferguson em 1904 (citado por Ehrendorfer 1964), que mostrou que o gênero *Pinus* Du Roi podia ser caracterizado pela constância do número cromossômico básico x=12.

Duas a três décadas se passaram e um grande número de gêneros foi investigado, com extensas análises populacionais em nível infra-específico (Guerra 1990). Esses trabalhos, que estabeleceram a base da citotaxonomia vegetal clássica, foram realizados quase sempre em plantas de regiões temperadas (Böcher 1961) e (Ehrendorfer 1964).

A citotaxonomia clássica se caracteriza pela observação do número e da morfologia dos cromossomos mitóticos e do seu comportamento na meiose (Stebbins 1971).

Ehrendorfer (1970) enfatiza que existe a possibilidade de que a evolução ou adaptação a nível cariológico, encontrados em plantas de regiões temperadas, não sejam as mesmas ou não tenham a mesma expressão em populações tropicais, principalmente, em espécies lenhosas. Stebbins (1966) enfatiza que cariótipo de plantas tropicais difere em alguns aspectos importantes de plantas que habitam zonas temperadas.

Desde o início do século XX, a citogenética vem sendo amplamente utilizada em trabalhos que envolvem caracterização taxonômica e estudos de evolução e filogenia (Stuessy 1990).

Nos últimos anos, a citogenética alcançou importante progresso, relacionado ao desenvolvimento da biologia molecular, o que permitiu o aparecimento de novas e diversificadas técnicas citológicas, como a Hibridização Fluorescente *In Situ* ou FISH (Pedrosa *et al.* 2002), a Hibridização Genômica *In Situ* ou GISH (Poggio *et al.* 2005) e a microdissecção cromossômica (Forminaya *et al.* 2005). Essas técnicas vêm permitindo um detalhamento minucioso dos cariótipos, facilitando o reconhecimento de pequenas variações cromossômicas, difíceis de serem detectadas com técnicas convencionais.

Investigações de grandes grupos de plantas são preferencialmente realizadas em conjunto com a Sistemática, Filogenética, Fitogeografia, e ou pesquisa ecológica, onde é essencial conhecer o número e o tamanho dos cromossomos (Levitsky & Kuzmin 1927; Flovik 1938, Stahlin 1929, Turesson 1930, 1931).

1.2- Citogenética em Poaceae

Ao estudar a citogenética de Poaceae, Avdulov, propôs a "hipótese de redução" que sustenta que x = 12 é o número ancestral e que números abaixo deste se originaram por aneuploidia (Flovik 1938). Raven (1975) utiliza como testemunha o predomínio nas contagens de x=12 para as espécies da subfamília Bambusoideae por ser o grupo basal das gramíneas, para a "hipótese de redução", enfatizando que números com x=6 são encontrados em espécies mais evoluídas (Flovik 1938).

Avdulov analisou 230 espécies, distribuídas em cerca de 100 gêneros diferentes, descobrindo que as características citológicas, se aplicam principalmente ao número e ao tamanho dos cromossomos, tendo essa descoberta grande valor para a sistemática (Flovik, 1938).

Com base nos critérios citológicos, em conjunto com outros critérios mencionados, Avdulov (1930;1931) (citado por Flovik (1938)) propôs mudanças revolucionárias na taxonomia de Poaceae. As espécies de gramíneas examinadas por ele foram subdivididas em três grupos "Cario-sistemáticos". O primeiro destes grupos é composto pela subfamília Sacchariferum (Harz) Avdulov e é caracterizado por possuir cromossomos pequenos e com números básicos x=9 e 10 e distribuição geográfica principalmente tropical e sub-tropical.

O segundo grupo, Festuciformis Avdulov, é caracterizado por cromossomos relativamente grandes, número básico x=7 ou inferior e distribuição confinada ao clima temperado e zonas polares. O terceiro grupo, Phragmitiformis (Harz) Avdulov, também distingue-se por pequenos cromossomos, mas tem o número básico de x=12 e distribuição geográfica essencialmente tropical (Avdulov (1930;1931)) (citado por Flovik (1938))

De acordo com Hunziker & Stebbins (1986), o tamanho do cromossomo varia enormemente na família Poaceae, variando entre 0,60 µm em Bambusoideae para quase 10 µm em *Secale* L. A variação no tamanho e número entre as várias subdivisões taxonômicas enfatiza a enorme diversidade biológica dentro da família.

Hunziker & Stebbins (1986) enfatizam que o número cromossômico básico em Poaceae tem sido alvo de muita especulação e endossam que deve ser x=6, tendo como base as plantas tetraploides, onde este número é bastante recorrente. Do número cromossômico básico x=6 provavelmente pode ter ocorrido uma aneuploidia, gerando um aumento ou

redução, onde resultou x=7 e 5, respectivamente. Da redução veio um número secundário x= 10 e x= 12, como já ressaltado por Avdulov (1931) (citado por Flovik (1938)). Do número x=12, originou-se 11, 10, 9, 8 e novamente o 7 (Hunziker & Stebbins, 1986)

Stebbins (1982) apresentou a "hipótese da poliploidia secundária" em desacordo com a "hipótese de redução" (Avdulov 1931) (citado por Flovik (1938)).. A "hipótese da poliploidia secundária" sugere x=12 e 11 como números cromossomo secundários derivados de x=5 e 6. Para sustentar sua teoria, utilizou argumentos de compensação de x=6 e 7, encontrado em tribos primitivas.

Hilu (2004) enfatiza que o número cromossômico ancestral em Poaceae e sua propensão à evolução tem sido objeto de investigação. 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).

O grupo irmão de *Panicoideae* Link, a tribo *Gyneriaeae* Sánchez-Ken & L.G. Clark (GPWG 2001), possui x= 11 (Hilu 2004). Outra tribo basal relacionada à *Panicoideae Arundinelleae* Stapf (Hilu *et al.* 1999; GPWG 2001) possui x = 9, 10 e 12, com x = 9, sendo menos comum (Phipps & Mahon 1970; Kammacher *et al.* 1973).

Na subfamília *Panicoideae*, predominam x = 9 e 10 (Hilu 2004). De Wet (1987) apontou um padrão de números cromossômicos básicos nas duas principais tribos, de *Panicoideae: Paniceae* e *Andropogoneae*.

Tem-se, a hipótese que x=11 é o número básico ancestral de *Panicoideae*, do qual derivaram-se, por aneuploidia, os números x=10, x=9 e x=5. Após eventos de alopoliploidia o número básico de x=10 foi novamente restaurado a partir de x=5 (Hilu 2004).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

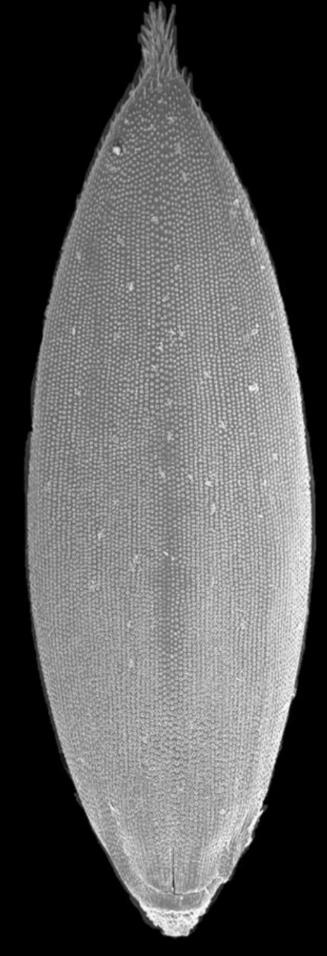
- Böcher TW (1961). The development of cytotaxonomy since Darwin's time. *In:* P.J. Wanstall, ed. A Darwin centenary. B.S.B.I. Conference Reports, Number six, London. p.26-43.
- Chase A. 1911. Notes on genera of Paniceae, IV. Proceedings of the Biological Society of Washigton,-24: 103-159.
- Clayton WD, Renvoize SA. 1986. Genera graminum: grasses of the world. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Davidse G, Pohl RW. 1978. Chromosome numbers of tropical American grasses (Gramineae). Annals Missouri Botanical Garden 65: 637–649.
- Davis SD, Heywood VH, Macbryde OH, Villa-Lobos J, Hamilton AC. 1994. Centers of plant diversity: a guide & strategy for their conservation. Vol 3. The Americas. IUCN Publications, Cambridge, Inglaterra.
- 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.
- Duvall MR, Noll JD, Minn AH. 2001. Phylogenetics of Paniceae (Poaceae). American Journal of Botany 88: 1988–1992.
- Ehrendorfer F. 1964. Cytologie, Taxonomie and Evolution bei Samenpflanzen. Vistas in Botany 4: 99-186.
- Ehrendorfer F. 1970. Chromosomen, Verwandtschaft und Evolution tropischer Holzpflanzen. I. Allgemeine Hinweise. Oesterreichische Botanische Zeitschrift 118: 30-37
- Filgueiras TS, Longhi-Wagner HM, Viana PL, Zanin A, Oliveira RC, Canto-Dorow TS, Shirasuna RT, Valls JFM, Oliveira RP, Rodrigues RS, Santos-Gonçalves AP, Welker CAD, Ferreira FM, Carvalho MLS, Silva AS, Reis PA, Dórea MC, Silva C, Mota AC. 2014. *Poaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB193. (Acesso em: 22 Mai. 2014)
- Filgueiras TS. 1989. Revisão de *Mesosetum* Steudel (Gramineae: Paniceae). Acta Amazonica, 19: 47-114.

- Flovik K. 1938. Cytological studies of Arctic grasses. Hereditas 24: 265-376.
- Forminaya A, Linares C, Loarce, Ferre E. 2005. Microdissection and microcloning of plant chromossomes. Cytogenetic and Genome Research Basel, 109: 8-14.
- 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.
- Gómez-Martínez R, Culham A. 2000. Phylogeny of the subfamily Panicoideae with emphasis on the tribe Paniceae: evidence from the trnL-F cpDNA region. In: Jacobs, S.W.L. & Everett, J.E. (Eds.) Grasses: Systematics and Evolution. CSIRO Publishing, Collingwood, Vic., Australia, pp. 136–140.
- Gould FW, Soderstrom TR. 1967. Chromosome numbers of tropical American Grasses. American Journal of Botany 54: 676-683.
- Gould FW. 1966. Chromosome numbers of some Mexican grasses. Canadian Journal of Botany 44: 1683-1696.
- GPWG (Grass Phylogeny Working Group). 2001. Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae). Annals of the Missouri Botanical Garden 88: 373–457.
- Guerra M. 1990. A Situação da citotaxonomia de angiospermas nos trópicos e em particular no Brasil. Acta Botanica Brasilica 34: 75-86.
- Haase R, Beck S. 1989. Structure & composition of savanna vegetation in northern Bolivia: a preliminary report. Brittonia 41: 80-100.
- Heywood VH. 1993. Flowering Plants of the World. Oxford University Press New York. 335p.
- Hilu K. 2004. Phylogenetics and chromosomal evolution in the Poaceae (grasses). Australian Journal of Botany 52: 13-22.
- Hilu KW, Alice LA, Liang H. 1999. Phylogeny of Poaceae inferred from *mat k* sequences. Annals of the Missouri Botanical Garden. 86: 835–851
- Hunziker JH, Stebbins LG. 1986. Chromosomal evolution in the Gramineae. In Grass: Systematics and Evolution (ed. T. R. Soderstrom, W. H. Hilu, C. S. Campbell and M. E. Barkworth), pp. 179–187. Smithsonian Institution Press, Washington.

- Jacobs BF, Kingston JD, Jacobs LL. 1999. The origin of grass dominated ecosystems. Annals of Missouri Botanical Gardens 86: 590-643.
- Kammacher P, Anoma G, Adjanohoun E, Aké Assi L. 1973. Nombres Chromosomiques de Graminées de Côte-d' Ivoire. Candollea 28: 191-217.
- Kellogg EA, Campbell CS. 1987. Phylogenetic analysis of the Gramineae. In: Soderstrom, T.R.; Hilu, K.W.; Campbell, C.S. & Barkworth, S.C. (Eds.), Grass Systematics and Evolution. Smithsonian Institution Press, Washington, DC, pp. 310–322.
- Levitskyg A, Kuzumina NE. 1927. Karyological investigations on the systematics and phylogenetics of the genus *Festuca*. Bulletin of Applied Botanical, Genetics and Plant-Breeding 17, pp. 3-37.
- Mathews S, Spangler RE, Mason-Gamer RJ. 2002. Phylogeny of Andropogoneae inferred from phytochrome B, GBSSI, and NDHF. International Journal of Plant Sciences 163: 441–450.
- Mendonça RC, Felfili JM, Walter BMT, Silva Júnior MC, Rezende AV, Filgueiras TS, Nogueira PE, Fagg CW. 2008. Flora vascular do cerrado: *Chechlist* com 12.356 espécies. In: Cerrado: ecologia e flora (S.M. Sano, S.P. Almeida & J.F. Ribeiro, eds.). Embrapa-CPAC, Planaltina, p.417-1279.
- 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.
- Nascimento MPSCB, Renvoize SA. 2001. A. Gramineas forrageiras naturais e cultivadas na região Meio-Norte. Teresina: Embrapa Meio-Norte; Kew: Royal Botanic Gardens, Kew.
- Pedrosa A, Sandal N, Stougaard J, Scheweiser D, Bachmair A. 2002. Chromosomal map of the model Legume *Lotus japonicus*. Genetics, 161: 1661-1672.
- Phipps JB, Mahon JB. 1970. Studies in the *Arundinelleae* (Gramineae). IX. Chromosome Numbers of 21 species. Canadian Journal of Botany 48: 1419- 1423.
- Poggio L, Gonzales G, Confalonieri V, Comas C, Naranjo CA. 2005. The genome organization and diversification of maize and its allied species revisited: evidences from

- classical and Fish-Gish cytogenetic analysis. Cytogenetic and Genome Research, 109: 259-267.
- Pohl RW, Davidse G. 1971. Chromosome numbers of Costa Rican grasses. Brittonia 23(3): 293–324.
- Raven PH. 1975. The basis of angiosperm phylogeny: Cytology. Annals Missouri Botanical Garden 62: 724-764
- Ribeiro ARO. 2013. Citogenética, reprodução e variabilidade morfologica de especies de *Mesosetum* Sect. *Bifaria* (Hack) Chase (Poaceae: Paspaleae). Tese de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, 111p.
- Sánchez-Ken JG, Clark LG. 2010. Phylogeny and a new tribal classification of the Panicoideae s.l. (Poaceae) based on plastid and nuclear sequence data and structural data. American Journal of Botany 97: 1732–1748.
- Shantz HL. 1954. The place of grasslands in the Earth's cover of vegetation. Ecology 35: 143-145.
- Shaw RB. 2000. Tropical grasslands & savannas. In: S.W.L.J. Everett (ed). Grasses: systematics & evolution. CSIRO, Melbourne, Austrália. pp 351-355.
- 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.
- Stahlin A. 1929. Morphologische und zytologische Untersuchungen an Gramineen. Wiss. Archiv fur Landwirtschaft Abteilung Pflanzenbau, pp. 330-398.
- Stebbins GL. 1966. Chromosome variation and evolution. Science 152: 1463-1469.
- Stebbins GL. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. London: Edward Arnold, 216p.
- Stebbins GL. 1982. Major Trends of Evolution in the Poaceae and Their Possible Significance. In: J. R. Estes, R. J. Tyrl, & J. N. Brunken (eds), Grasses and Grasslands: Systematics and Ecology, pp. 3 36. University of Oklahoma Press, Norman.
- Steudel EG. 1850. Synopsis Plantarum Glumacearum I. Gramineae. Stuttgartiae, J.B. Metzler. 474 p.

- Steudel EG. 1854. Üeber den gengenwartigen Stand der *Synopsis Plantarum* und eine Gattung der Graser. Flora 33: 225- 232.
- Stuessy TF. 1990. Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data. New York: Columbia University Press.
- Swallen JR. 1937. The grass genus Mesosetum. Brittonia, 2: 363-392
- Turesson G. 1930. Studien über *Festuca ovina* L. II.Chromosomenzahl und Viviparie. Hereditas XIII, pp. 177-184.
- Turesson G. 1931. Studien über *Festuca ovina* L. III. Weitere Beitrage zur Kenntnis der Chromosomenzahlen viviparer Formen. Hereditas XV, pp. 13-16.
- Vicentinini A, Barber JC, Aliscioni SS, Giussani LM, Kellogg EA. 2008. The age of the grasses and clusters of origins of C4 photosynthesis. Global Change Biology 14: 2963–2977. 851.
- Watson L, Dallwitz MJ. 1992. The grass genera of the world. C.A.B. International, Wallingford, 1081.



CAPÍTULO I

Novo número básico de cromossomos no gênero *Mesosetum* e distinção de espécies com base em comportamento meiótico, morfologia, fenologia e distribuição.

CAPITULO I- Novo número básico de cromossomos no gênero *Mesosetum* e distinção de espécies com base em comportamento meiótico, morfologia, fenologia e distribuição.

1- INTRODUÇÃO

Mesosetum Steud. é um gênero Neotropical com 25 espécies (Filgueiras 1989) e cinco seções: Mesosetum, Bifaria (Hack.) Chase, Penicillata Swallen, Loliiformia Swallen e Sclerochloae Swallen. Ocorrem no Brasil 20 espécies de Mesosetum, algumas das quais são dominantes ou muito frequentes nos campos naturais, especialmente do Brasil Central e, algumas delas, têm potencial de uso forrageiro (Allem &Valls 1987).

O gênero *Mesosetum* é reconhecido pela inflorescência em espiga solitária e terminal, espiguetas com a primeira gluma adaxial à ráquis, lema inferior provido de tricomas e cariopse com mancha hilar linear (Filgueiras 1989).

Na visão gradista, segundo a revisão elaborada por Filgueiras (1989), as espécies da seção *Mesosetum* são basais na evolução do gênero e assim, contribuíram na formação das demais espécies. O autor caracterizou esta seção pelos tricomas ferrugíneos, que se apresentam em tufos nas glumas e no lema inferior e, pela ausência de pálea no antécio inferior. A seção *Mesosetum*, segundo Filgueiras (1989) é composta por três espécies: *M. cayennense* Steud., *M. rottoboellioides* (Kunth) Hitchc. e *M. ferrugineum* (Trin.) Chase. No entanto, *M. ferrugineum* teria sido anteriormente relacionada a um grupo de espécies sem seção definida por Swallen (1937).

A espécie tipo do gênero é *M. cayennense*, descrita por Steudel (1854) que definiu o gênero, monotípico, de forma imprecisa (Filgueiras 1989). Hitchcock (1909) mostrou reconhecer o gênero, com a transferência de *Panicum rottboellioides* Kunth para *Mesosetum*.

Mesosetum cayennense e M. rottboellioides são duas espécies morfologicamente relacionadas, tendo sido sinonimizadas por Chase (1911). Mesosetum rottboellioides foi, posteriormente, reabilitada por Swallen (1937) e aceita por Filgueiras (1989) e outros autores. No entanto, a caracterização dos táxons e as chaves fornecidas vêm deixando dúvidas na identificação dessas espécies.

Mesosetum Steud. é incluído na subfamília Panicoideae, tribo Paniceae 1.s., num clado de espécies americanas com x = 10, que está sendo chamado tribo Paspaleae (Morrone *et al.* 2012). Em Paspalae, *Mesosetum* é considerado pertencente à subtribo Arthropogoninae. O número cromossômico básico sugerido para o gênero é de x=8.

Número cromossômico e comportamento meiótico podem gerar inferências quanto a origem da espécie e o modo de reprodução. Ou seja, espécies com número superior ao número

básico de cromossomos são poliploides ou aneuplóides e o pareamento cromossômico fornece evidências de sexualidade ou não.

Além da grande similaridade morfológica das inflorescências, conferidas pela pilosidade ferrugínea característica da seção *Mesosetum*, na qual são posicionadas, frequentemente compartilham o mesmo habitat e época de floração, sendo provável que ocorram híbridos naturais (Filgueiras 1989).

Diante do exposto, os objetivos do presente trabalho foram verificar se há características que subsidiem a distinção morfológica das espécies e se o número cromossômico e comportamento meiótico associado fornecem dados que expliquem a variabilidade e os limites específicos de *M. cayennense* e *M. rottboellioides*. A análise é complementada com dados de florescimento, distribuição geográfica e caracteres micromorfológicos do antécio superior.

1.2- MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta de material

Foram realizadas coletas de material botânico em campo no período reprodutivo e nos locais de ocorrência conhecida das espécies, assim como em outros locais com características morfoclimáticas semelhantes. O material obtido é discriminado na **Tabela 1**.

Tabela 1: *Vouchers* das espécies de *Mesosetum* coletadas e analisadas citogeneticamente no presente trabalho e depositados no herbário da Universidade de Brasília.

Espécie	Acesso	Coletores	Local de Coleta
M. cayennense	2744	Regina Célia de Oliveira-	Brasil, Goiás. Alto Paraíso, 14° 05'
		RCO; André Rodolfo de	47.8''S, 47° 16' 53,8''w
		Oliveira Ribeiro- AROR	
M. cayennense	940	Gabriel H. Rua- GHR;	Brasil, Mato Grosso, Mineiros, 17° 22'
		Marisa Graciela Bonasora-	44.6"S, 052° 55' 26.8"W, Serra com
			afloramentos rochosos ao norte da BR
		Silva- ASS e Vandelio Cesar	364, 14/04/2012.
		Mendes- VCM	
M. rottboellioides	331	Priscila Alves Reis- PAR	Brasil, Minas Gerais, Grão Mogol, 16º 35'
		Mayco Werllen dos Santos	36"S, 42°.34'01.4"W. Embaixo da ponte
		Sousa- MWSS.	do rio Itacambiruçu após o trevo de Grão
			Mogol sentido Cristália, 05/06/2013

As mudas, obtidas junto a um *voucher*, estão sendo mantidas vivas na casa-devegetação do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília e Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Embrapa Cenargen), Brasília, DF.

Os *vouchers* foram incorporados ao herbário UB, com duplicatas para o CEN (siglas segundo Thiers 2014) e herbários congêneres.

Análise morfológica e micromorfológica

As descrições morfológicas foram feitas no Laboratório de Morfologia Vegetal a partir de espécimes herborizados depositadas no UB e de plantas cultivadas na casa de vegetação da Universidade de Brasília- UnB. Para as descrições, utilizou-se lupa Leica EZ4D. Todas as estruturas das espiguetas foram fotografadas.

As identificações do material coletado (**Tabela 4**) foram feitas com auxilio da literatura especializada no gênero (Filgueiras 1989, Swallen 1977), enquanto as descrições dos estados de caracteres foram realizadas com base na terminologia de Radford (1974).

As análises feitas no microscópio eletrônico de varredura (MEV) foram baseadas em uma espigueta de cada exsicata disponível das duas espécies. O material foi montado em stubs metalizados em ouro e observado no MEV Jeol JSM 7001S a 15 KV nos laboratórios de Microscopia Eletrônica da Universidade de Brasília e da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. A terminologia usada seguiu Sordestrom & Zuloaga (1989).

Análises citogenética

O número cromossômico foi determinado em células da ponta da raiz (mitose) ou em células mães-de-pólen (meiose), a partir das plantas cultivadas ou de material fixado obtido a campo.

As inflorescências foram fixadas em solução 3:1 (etanol absoluto e ácido acético glacial, v/v) por 24 horas. Após esse período, o material foi transferido para álcool 70% e acondicionado sob refrigeração até o momento da preparação das lâminas (Pozzobon *et al.* 2000). Para as análises meióticas, os meiócitos foram preparados e corados com carmim acético a 2%.

Para a avaliação do comportamento meiótico foram analisadas 200 células por fase da meiose I e II, conforme recomendado em Risso-Pascotto *et al.* (2006).

Para determinação do número cromossômico somático as pontas de raizes, obtidas do material cultivado, foram pré-tratadas com solução de α bromonaftaleno por aproximadamente 2 horas, à temperatura ambiente. Posteriormente, fixadas 3:1 por 24 horas, em temperatura ambiente (Pozzobon *et al.* 2000). Depois de fixadas, as raízes foram guardadas em álcool 70%, em freezer, até o momento da montagem das lâminas.

Para a confecção das lâminas, as raízes armazenadas foram lavadas com água destilada e hidrolisadas com solução de HCl 1N em banho maria por 10 minutos, em seguida, coradas com solução de Feulgen por 20 minutos ou até que as pontas das raízes estivessem coradas. Logo após, as raízes foram lavadas em água destilada em três banhos de 5 minutos cada e a coifa retirada.

Posteriormente, as raízes foram dispostas em uma lâmina, adicionou-se 10μm (microlitros) da enzima pectinase-celulase 20%-2% e levadas a uma incubadora com temperatura de 37°C por 30 minutos. As lâminas foram coradas com carmim acético a 2% e observadas e fotografadas em microscópio óptico Zeiss Axio.

1.2.4- Dados de florescimento

Os dados de florescimento foram obtidos para verificar a possibilidade de hibridação entre os táxons. Foram obtidos com base nos *vouchers* de herbário disponibilizados no Species Link (2014) com identificações confiáveis.

Tabela 2: *Vouchers* utilizados na descrição morfológica, local de coleta, coordenadas, herbários, número de tombo e coletor de espécies de *Mesosetum*. André Rodolfo de Oliveira Ribeiro- AROR; Anádria Stéphanie da Silva- ASS; Carlos Romero Martins- CRM; Cristhopher William Fagg- CWF; G. Addison- GA; G. A. Black- GAB; Gabriel Hugo Rua- GHR; Marisa Graciela Bonasora- MGB; Mayco Werllen dos Santos Sousa- MWSS; Priscila Alves dos Reis- PAR; Regina Célia de Oliveira- RCO; Roberta G. Chacon- RGC; Ronald Liesner- RL; R.L. Froes- RLF; Vandelio Cesar Mendes- VCM e Willian R. Anderson- WRA.

Espécie	Local de coleta	Coordenadas	Herbário	Número de tombo	Coletor e número
M. cayennense	Brasil, Tocantins. Cachoeira Paraiso.	11° 39'21.0''S, 047 41' 52.8''w	UB		RCO e CWF 2848
M. cayennense	Brasil, Tocantins. Cachoeira Paraiso.	11° 39'21.0''S, 047 41' 52.8''w	UB		RCO e CWF 2848
M. cayennense	Brasil, Tocantins. Cachoeira Paraiso.	11° 39'21.0''S, 047 41' 52.8''w	UB		RCO e CWF 2848
M. cayennense	Brasil, Tocantins. Cachoeira Paraiso.	11° 39'21.0''S, 047 41' 52.8''w	UB		RCO e CWF 2848
M. cayennense	Brasil, Tocantins. Cachoeira Paraiso.	11° 39'21.0''S, 047 41' 52.8''w	UB		RCO e CWF 2848
M. cayennense	Brasil, Tocantins. Cachoeira Paraiso.	11° 39'21.0''S, 047 41' 52.8''w	UB		RCO e CWF 2848
M. cayennense	Brasil, Tocantins. Cachoeira Paraiso.	11° 39'21.0''S, 047 41' 52.8''w	UB		RCO e CWF 2848
M. cayennense	Brasil, Goiás. Trevo de Niquelândia.	14° 23′ 48.4′′S, 048° 25′ 59.9′′w	UB		RCO, RGC e BCE 2503
M. cayennense	Brasil, Goiás. Alto Paraíso.	14° 05' 47.8''S, 47° 16' 53,8''w	UB		RCO e AROR 2744
M. cayennense	Brasil, Goiás. Alto Paraíso.	14° 05' 47.8''S, 47° 16' 53,8''w	UB		RCO e AROR 2744
M. cayennense	Brasil, Goiás. Alto Paraíso.	14° 05' 47.8''S, 47° 16' 53,8''w	UB		RCO e AROR 2744
M. cayennense M. cayennense	Brasil, Macapá- Clevolândia. Brasil, Macapá- Clevolândia.		UB UB	10607 5693	GAB 55, 186 GAB 55, 18554

M. cayennense	Brasil, Macapá- Clevolândia.		UB	10606	GAB 55, 18554
M. cayennense	Brasil, Pará. Parauapebas, Floresta		UB		CRM 958
	Nacional dos Carajás.	-6° 02' 31''S, -50° 17' 00''W			
M. cayennense	Brasil, Pará. Parauapebas, Floresta		UB		CRM 1191
	Nacional dos Carajás.	-6° 05' 88''S, -50° 07' 64''W			
M. cayennense	Goiás, Brasil, 2-4 km de Funil.		UB		WRA 7135
M. cayennense	Brasil. Mato Grosso, Mineiros.	-17° 22' 44.6"S, 052° 55' 26.8"W			GHR, MGB. ASS
			UB		E VCM 940
M. cayennense	Brasil. Mato Grosso, Mineiros.	-17° 22' 43.9''S, -52° 55' 2.00''W			GHR, MGB. ASS
			UB		E VCM 943
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
	_				331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
	_				331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
					331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
		,			331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
	,	,			331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
	,	,			331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
	,	,			331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
	, .	,			331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
	, .	,			331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Grão Mogol.	16° 35′ 36′′S, 42°.34′01.4′′W.	UB		PAR e MWSS
		, , , , , , , , , , , , , , , , , , , ,			331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Cristália.	16° 45' 17''S, 42° 54' 30''W.	UB		PAR e MWSS
		,	-		331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Cristália.	16° 45' 17''S, 42° 54' 30''W.	UB		PAR e MWSS
	2, 2	· · · · · · · · · · · · · · · · ·			331

M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Cristália.	16° 45' 17''S, 42° 54' 30''W.	UB		PAR e MWSS
					331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Cristália.	16° 45′ 17′′S, 42° 54′ 30′′W.	UB		PAR e MWSS
					331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Cristália.	16° 45′ 17′′S, 42° 54′ 30′′W.	UB		PAR e MWSS
					331
M. rottboellioides	Brasil. Minas Gerais, Cristália.	16° 45′ 17′′S, 42° 54′ 30′′W.	UB		PAR e MWSS
		0.70.4.010			331
M. rottboellioides	Bolivar: Gran sabana	05° 19'S, 61° 04' W	MO		RL 24091
M. rottboellioides	Brasil. Amazonas. Barcelos.		UB	10605	RLF e GA 29269

1.3- RESULTADOS

Distribuição geográfica e florescimento

M. cayennense e M. rottboellioides tem preferência pelo mesmo habitat, crescem sobre rochas e terrenos pedregosos. Apesar da área de ocorrência registrada de ambas as espécies ser semelhante, as populações não são simpátricas (**Figura 1**). A área de ocorrência de M. cayennense é ampla, quando comparada a outra espécie. Vale ressaltar, que existe pouco material de herbário para M. rottboellioides, ou seja, as coletas ainda são ínfimas.

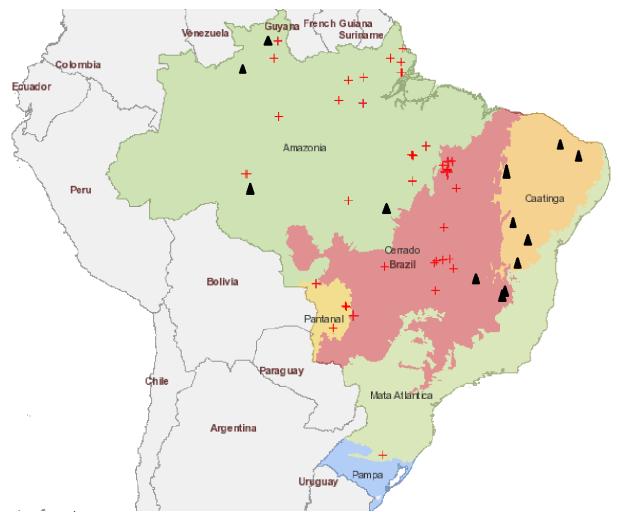


Figura 1: Área de ocorrência documentada de *M. cayennense* + e *M. rottboellioides* \triangle

Panicum lolium Nees foi sinonimizada a M. rottboellioides por Filgueiras (1989). O tipo de P. lolium é proveniente do Piauí, mas, a análise da imagem do holótipo, deixa dúvidas quanto à verdadeira identidade do táxon, que parece mais relacionado à M. cayennense, cuja área de distribuição conhecida referenda ainda mais essa observação.

A **Figura 2** relaciona os meses em que ambas as espécies foram coletadas, conforme descrito no material e métodos.

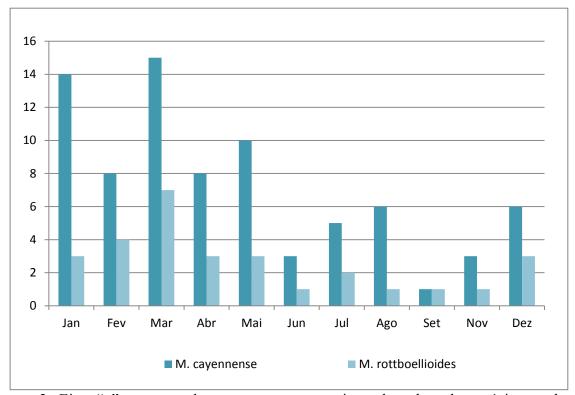


Figura 2: Eixo "x" corresponde aos meses com registro de coleta de espécimens de *M. cayennense* e *M. rottboellioides* e o "y" indica o número de exsicatas colhidas por mês, segundo dados obtidos dos materiais de herbário.

Macromorfologia

A **Tabela 5** mostra a lista dos caracteres analisados e os estados de caráter. Dos 36 descritores morfológicos analisados, 29 caracteres foram constantes para ambas as espécies. Dos dezoito caracteres qualitativos analisados, 14 (ramificação do hábito, forma da lâmina foliar, a forma e o ápice do pedicelo, a forma da gluma superior, compressão, orifício e elaiossomo da base das espiguetas, antécio superior neutro, pálea estéril ausente e as anteras com cores vináceas e castanho) variaram entre os indivíduos da mesma espécie e quatro serviram para discriminar as espécies. Os caracteres distintivos foram: presença de estolho, o ápice e a pilosidade das glumas inferior e superior.

A Figura 3 mostra indivíduos cultivados e ilustra a variação morfológica dos caracteres vegetativos em *Mesosetum cayennense* (**Figura 3- A-B**). A Figura 3b mostra uma planta glabra, menor em diâmetro e altura e evidencia a disposição das folhas nos ramos, que possuem entrenós longos. A Figura 3 A, por sua vez, mostra a mesma espécie com diâmetro

mais vigoroso e pilosidade densa. Em *M. rottboellioides*, as diferentes formas vegetativas foram vistas em material de herbário onde se evidenciaram plantas com lâminas foliares desde filiformes a involutas concentradas na base, e lineares lanceoladas com distribuição caulinar. Além disso, denotou-se a formação de estolho no exemplar G. Davidse 15116 (**Figura 3- C seta**). Cabe à ressalva, que o hábito das espécies difere *M. cayennense* (**Figura 3 A-B setas**) tem suas folhas dispostas ao longo do colmo, enquanto *M. rottboellioides*, tem as concentradas na base (**Figura 3- D seta**).

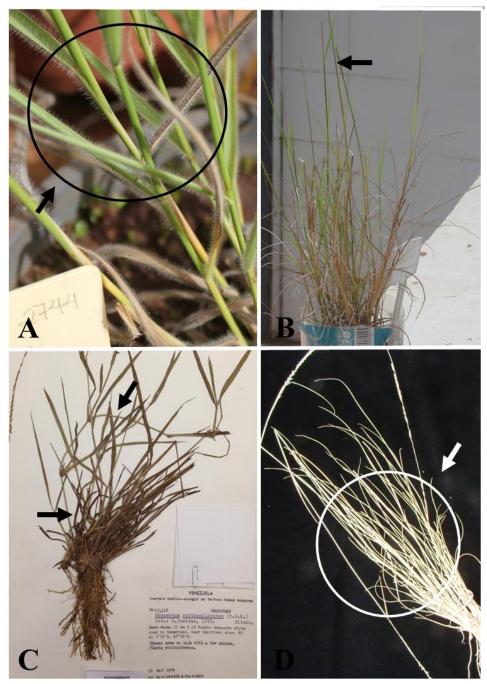


Figura 3: Acessos de *M. cayennense* e *M. rottboellioides*. **A- B:** *M. cayennense*. **A-** Hábito (RCO- 2744); **B.** Disposição das folhas no colmo (RCO 2810). **C-D.** *M. rottboellioides*. **C.** Exsicata de herbário evidenciando estolão (seta) (G. Davidse 15116) e, **D.** Evidência a distribuição das folhas concentrada na base da planta (entrenós curtos) (PAR- 331).

Tabela 3: Caracteres e estados de caráter utilizados na distinção das espécies de *M. cayennense* e *M. rottboellioides*.

Caracter	Estado de caráter	M. cayennense	M. rottboellioides
	Ramificação	Na base e nos nós superiores	Na base, nós superiores.
	Número de nós	3 – 8	3 – 3
Hábito	Comprimento do entrenó (cm)	3.5 – 12	4.5 - 14.5
	Estolho	Ausente	Presente
	Comprimento (mm)	3.5 - 17.5	3 - 18.5
Lâmina	Largura (mm)	2-6	1-3
foliar	Forma	Linear- lanceolada e Lanceolada	Filiforme- involuta e linear- lanceolada.
Ráquis	Largura (mm)	0.2 - 0.2	0.2 - 1
Pedicelo	Ápice	Obliquo	Obliquo
	Forma	Clavado	Clavado
	Compressão	Dorsal	Dorsal
Espiguetas	Orifício da base	Presente	Presente
	Elaiossomo na base	Ausente	Ausente
	Comprimento (mm)	1.83 - 3.17	1.84 - 3.46
	Largura (mm)	0.52 - 1.33	0.4 - 0.97
	Apice	Dois dentados e truncado	Agudo, obliquo ou arredondando.
	Pilosidade	Dois tufos de tricomas na base e no centro	Nas margens, ate metade da gluma.
Gluma	Forma	Elíptica	Lanceolada, Elíptica, oblanceolado.
Inferior	Número de nervuras	3 – 3	3 – 3
	Tricomas mais longo(mm)	0.56 - 3.26	0.49 - 2.28

Tabela 3: (continuação) Caracteres e estados de caráter utilizados na distinção das espécies de *M. cayennense* e *M. rottboellioides*.

Caracter	Estado de caráter	M. cayennense	M. rottboellioides
	Comprimento (mm)	2.32 - 4.64	2.13 - 4.99
Gluma	Largura (mm)	0.75 - 1.53	0.3 - 1.82
Superior	Ápice	Agudo 2- dentado	Acuminado
	Pilosidade	Tricomas organizados na base, dois tufos de tricomas ao centro e dois perto do ápice.	Ciliado nas margens, com dois tufos de tricomas no ápice e laterais e ao longo da nervura central.
	Forma	Lanceolada	Lanceolada
	Número de nervuras	5 – 5	5 – 5
	Tricomas mais longo (mm)	0.8 - 3.14	0.26 - 1.74
Antécio Superior	Masculino/Neutro	Neutro	Neutro
	Comprimento (mm)	2.03 - 3.73	1.87 - 4.63
	Largura (mm)	0.53 - 1.26	0.6 - 1.23
Antécio	Número de Nervuras	0	1
inferior	Tricomas no dorso	Densamente piloso	Densamente piloso
	Tricomas mais longo (mm)	0.5 - 3.68	0.53 - 1.95
	Comprimento (mm)	2.03 - 3.73	1.87 - 4.63
Pálea esteril	Presente, ausente ou rudimentar.	Ausente	Ausentes
Anteras	Coloração em antese	Vinácea e castanho	Vinácea e castanho

Os caracteres de valor distintivo foram alguns daqueles encontrados nas espiguetas, conforme Tabela 3. A Figura 4 ilustra a gluma inferior de ambas as espécies e evidencia que há variação em tamanho e forma. Em *M. cayennense* (Figura 4. A e B setas) a nervura mediana é canaliculada na região proximal da gluma e apresenta tricomas na superfície circundante. O restante da superfície da gluma inferior é glabro, com exceção de dois tufos de tricomas marginais na metade do comprimento da gluma. Já em *M. rottboellioides*, a nervura central não forma uma cânula na base do órgão, sendo totalmente plana. A superfície dorsal é glabra no centro proximal da gluma, com cílios nas nervuras laterais e margens homogêneas ao longo do comprimento até a porção mediana da gluma, onde também formam tufos (Figura 4. C- D setas). A forma do ápice da gluma foi variável entre os espécimens da mesma espécie.

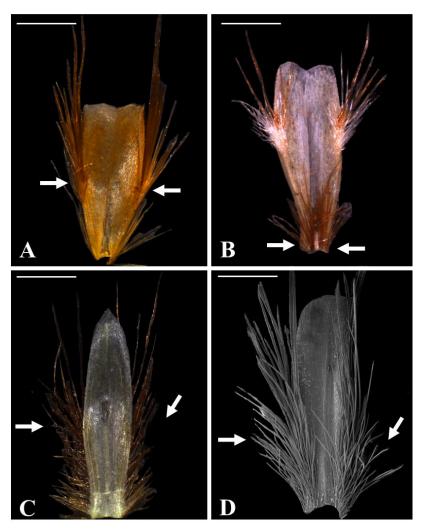


Figura 4: Gluma I de *Mesosetum cayennese* e *M. rottboellioides*. **A-B-** *M. cayennese* (GHR 940): evidenciando os tufos de tricomas. **A.** Vista Dorsal, seta indica dois tufos organizados no terço médio. **B.** Vista Dorsal, seta indica tricomas na superfície circundante. **C-D.** *M. rottboellioides* (PAR 331): setas indicam cílios nas nervuras laterais e margens homogêneas ao longo do comprimento até a porção mediana da gluma. Barra: 1mm

A Figura 5 mostra a segunda gluma de ambas às espécies. *Mesosetum cayennense* possui gluma superior com tufos de tricomas laterais (Figura 5 B setas) e no ápice com a região proximal provida de tricomas (Figura 5 A- circulo) na superfície dorsal (Figura 5 A- seta), formando um arco. Em *M. rottboellioides* a gluma superior é pilosa ao longo das nervuras sendo que a pilosidade é mais densa ao longo da nervura central (Figura C- circulo) e, ocorrem dois tufos de tricomas longos na superfície dorsal distal entre os feixes vasculares laterais e o principal, como também, tufos marginais em glumas mais velhas (Figura D- setas). É curioso ressaltar que a pilosidade das glumas em *M. rottboellioides*, ao contrário do que ocorre na maioria das espécies de Poaceae, aumenta com a idade.

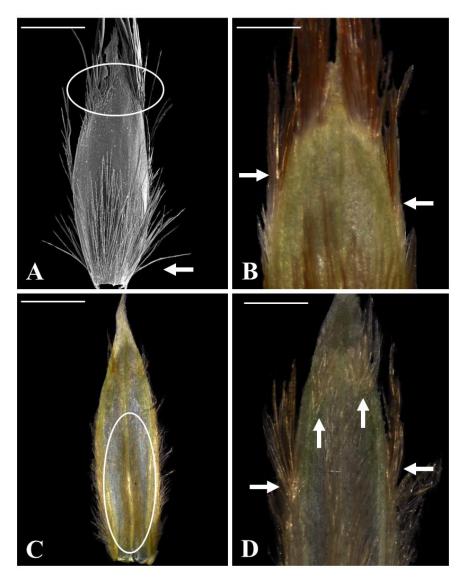


Figura 5: Gluma II de *Mesosetum cayennese* e *M. rottboellioides*. **A-B-** *M. cayennese* (GHR 940): evidenciando os tricomas. **A.** Micrografía Eletrônica, Vista Dorsal, seta indica a "arco" na base e o circulo os dois tufos organizados no ápice. **B.** Lema, tricomas indicados pela seta. **C-D.** *M. rottboellioides* (PAR 331): evidenciando tricomas. Barra: A: 10μm. B, C-D: 1mm

A **Figura 6** ilustra o lema inferior. O lema inferior de ambas as espécies possui ápice acuminado e cílios e tricomas curtos e largos em número variável na superfície dorsal marginal, conforme mostram as setas na (**Figura 6 A e B**).

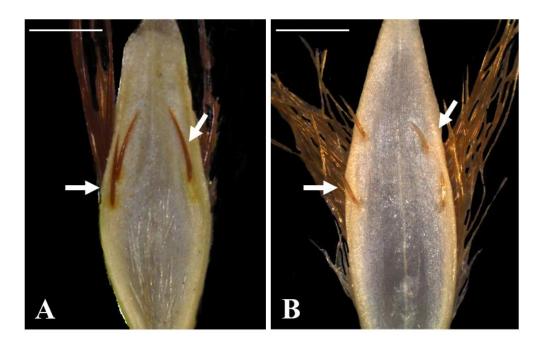


Figura 6: Tricomas curtos e largos do Lema, na superfície dorsal marginal. **A**. *M*. *cayennense*. (GHR 940); **B**. *M*. *rottboellioides* (PAR 331).

Micromorfologia

As análises micromorfológica do antécio superior, aqui apresentadas, são inéditas e revelaram estômatos em *M. cayennense* (**Figura 7. A-B**). A tampa de germinação de ambas as espécies é bilobadas e estreitas nos bordos (**Figura 8**).

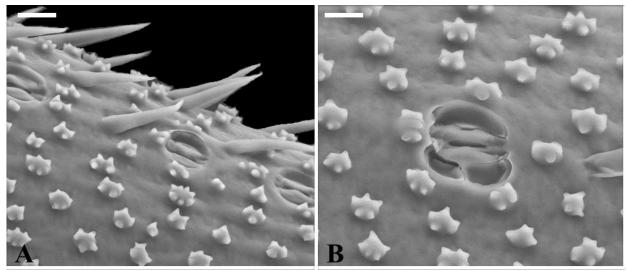


Figura 7: Fotomicrografia do Antécio Superior em MEV de **A-B** *Mesosetum cayennense*. (RG 630): **A-** Fileiras de estômatos. **B.**. As imagens evidenciam os estômatos. Barra: 10μm

A superfície do ápice do lema fértil, de ambas as espécies, mostram papilas em grandes quantidades (**Figuras 9 e 10**.), simples e compostas, organizadas em uma única célula. **Figura**

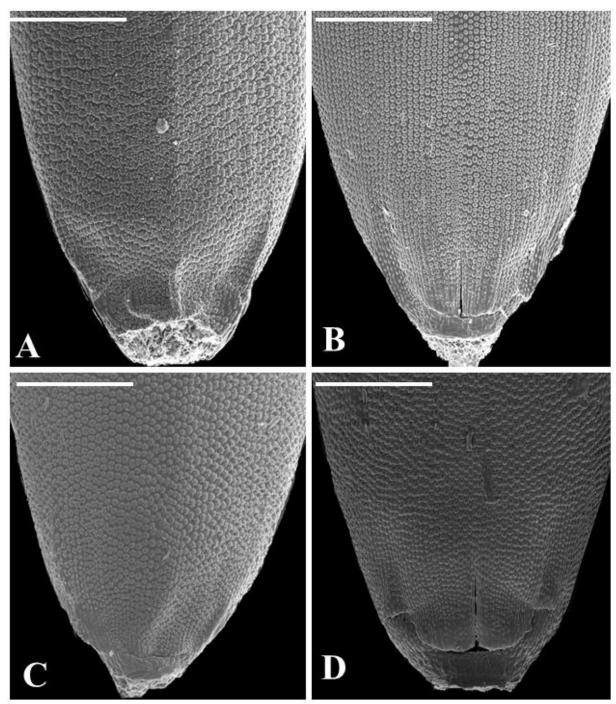


Figura 8: Fotomicrografia da tampa de germinação de *M. cayennense* e *M. rottboellioides:* **A-B** *M. cayennense* **A-** Visão geral da superfície dorsal (J.J Graville 15423); **B-** Papilas dupla (GHR 940); **C-D** *M. rottboellioides.* **C-** Papilas em forma de estrela (Hatschabach 55064); **D-** Papila redonda e várias pontas (Hubber 5207). Barra: 100μm.

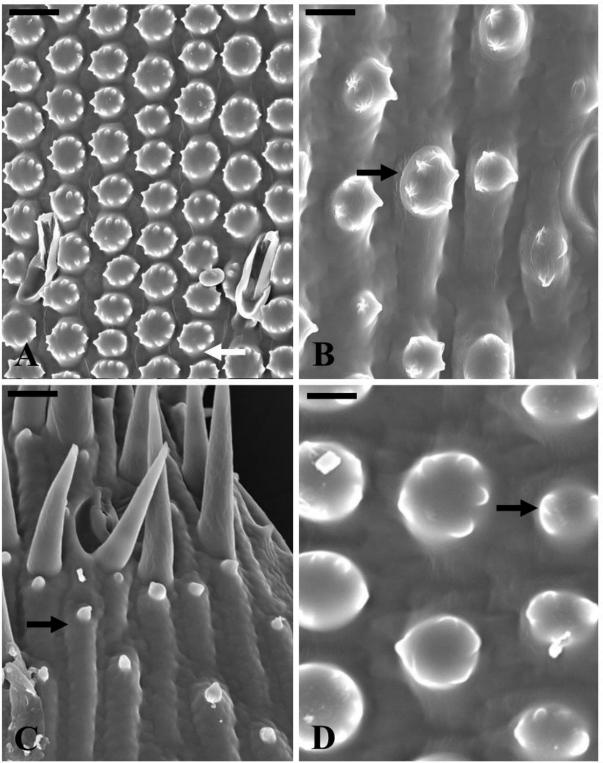


Figura 9: Fotomicrografia do lema superior de *M. cayennense* (GHR 940). **A.** Superfície dorsal; **B-**Detalhe das papilas estreladas (seta); **C-** Região distal do lema superior com papilas simples em uma única célula epidérmica (seta); **D-** Detalhe das papilas da região distal simples (seta). Barra: 10μm.

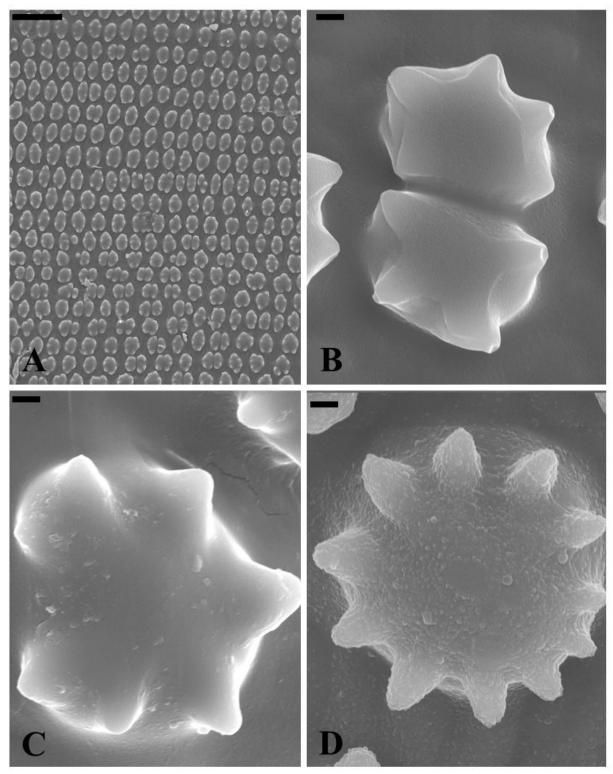


Figura 10: Fotomicrografia do lema superior de *M. rottboellioides*. **A**– Visão geral da superfície dorsal (Wurback 43753); **B**- Papilas dupla (Hubber 2335) **C**- Papilas em forma de estrela (Hatschabach 55064) do lema superior; **D**-Papila redonda e várias pontas (Hubber 5207). Barra: A- 10μm. B,C-D- 1μm.

Análise citogenética

A Tabela 4 mostra o número cromossômico obtido em meiose e confirmado por mitose das espécies *M. cayennense* e *M. rottboellioides*.

Tabela 4: Contagens cromossômicas em espécies de *Mesosetum*, número do coletor e número cromossômico.

Espécie	Acesso	Contagem cromossômica	Ciclo de vida
M. cayennense	G.H.Rua et al 940	2n=20	Perene
M. rottoebllioides	P.A. Reis & M.W.S.Sousa	2n=20	Perene
	331		

O comportamento meiótico foi analisado para um acesso de *M. cayennense* e um de *M. rottboellioides*, amostras GHR 940 e PAR 331, respectivamente. As investigações apontaram para um comportamento meiótico regular (**Tabela 5 e Tabela 6**) com configuração cromossômica predominante de dez bivalentes (**Figura 11**).

Foram analisados e interpretados 1.976 microsporócitos em diferentes fases da meiose para *M. cayennense* (**Tabela 5**). Obtendo 100 % de regularidade nas fases I da meiose. As poucas irregularidades encontradas não comprometeram. Conforme Love (1949), o índice meiótico que representa a porcentagem de tétrades de pólen normais, foi de 100%, apesar de ter ocorrido assincronia em metáfase II (**Figura 11 F seta**).

Tabela 5. Comportamento meiótico de *Mesosetum cayennense*.

Fase	Total de células	Irregular	Irregularidade (%)
Diacinese	262	0	0 %
Metáfase I	218	0	0 %
Anáfase I	236	0	0 %
Telófase I	200	0	0 %
Prófase II	200	0	0 %
Metáfase II	250	15	6%
Anáfase II	200	0	0 %
Telófase II	200	0	0 %
Tétrade	210	0	0 %
Total	1. 976	15	0,75%

Foram analisados e interpretados 1.480 microsporócitos em diferentes fases da meiose de *M. rottboellioides* (**Tabela 6**). Obtendo-se 100 % de regularidade nas fases I e II. Conforme Love (1949), o índice meiótico que representa a porcentagem de tétrades de pólen

normais foi de 100%, apesar da ocorrência de cromossomos retardatários (**Figura 12 D seta**). Telófases I e II foram normais, bem como as demais fases analisadas. Cabe ressaltar, que todas as fases não foram encontradas.

Tabela 6. Comportamento meiótico de Mesosetum rottboellioides

Fase	Total de células	Irregular	Irregularidade (%)	
Diacinese	250	0	0 %	
Metáfase I	210	0	0 %	
Anáfase I	200	0	0 %	
Telófase I	210	0	0 %	
Prófase II	200	0	0 %	
Metáfase II	-	-	-	
Anáfase II	-	_	-	
Telófase II	200	1	0.5 %	
Tétrade Total	210	1	0 % 0,067%	
Total	1. 480	1	U,UO / %o	

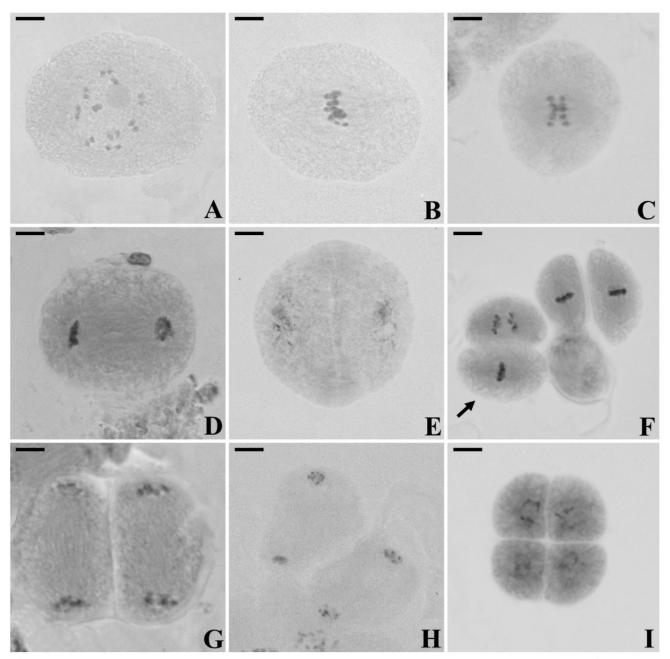


Figura 11. Comportamento meiótico em células-mãe de anteras de *M. cayennense* Steud. **A**. Diacinese. **B**. Metáfase I. **C**. Anáfase I. **D**. Telófase I. **E**. Prófase II. F. Metáfase II e divisão assincrônica (seta). **G**. Final anáfase II. **H**. Telófase II. **I**. Tétrade. *Voucher*: G.H. Rua 940. Legenda: em ordem alfabética das letras usadas. Escala: A-D, I= 10 μm.

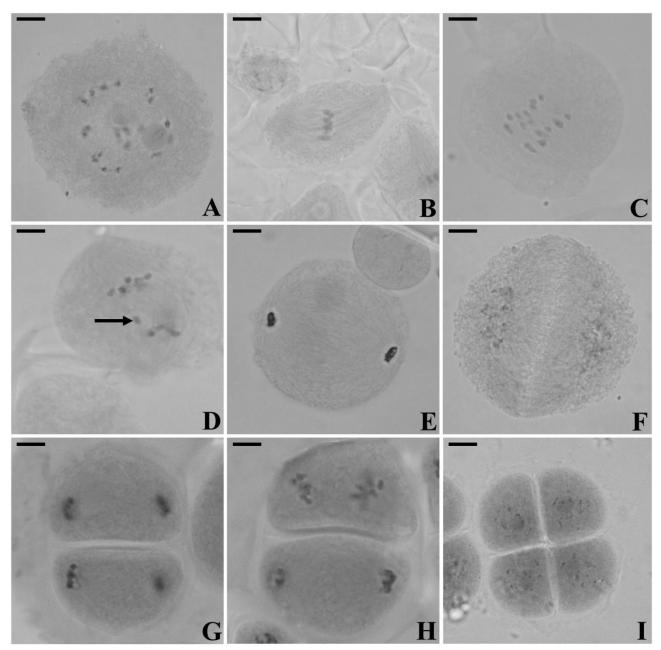


Figura 12. Comportamento meiótico em células-mãe de anteras de *M. rottboellioides* (Kunth) Hitchc. A. Diacinese. **B**. Metáfase I. **C**. Anáfase I. **D**. Anáfase I com retardatário. **E**. Telófase I. F. Prófase II **G**. Telófase II. **H**. Divisão assincrônica. **I**. Tétrade. *Voucher*: P. A. Reis 331. Legenda: em ordem alfabética das letras usadas. Escala: A-D, I= 10 μm.

O número cromossômico determinado por mitose de *M. cayennense* e *M. rottboellioides* foi de 2n=20 (**Figura 13**).

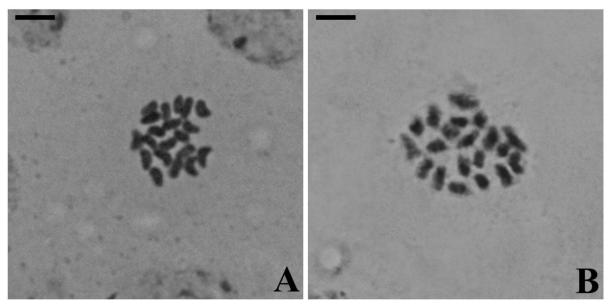


Figura 13: Célula somática de *M. cayennense e M. rottboellioides*. **A**. *M. cayennense* (*Voucher*: GHR 940). **B** *M. rottboellioides* (*Voucher*: PAR 331). Barra: 10µm

1.4- DISCUSSÃO

Chase (1911) propôs a sinonimização dos nomes *Mesosetum cayennense* a *M. rottboellioides* que, de fato, são muito relacionadas e com limites morfológicos pouco claros na bibliografia corrente.

Mesosetum rottboellioides possui colmos com entrenós curtos e, assim, as folhas ficam concentradas na base da planta. Em *M. cayennense*, os entrenós são longos e as folhas distribuem-se ao longo dos nós. No entanto, como *M. rottboellioides* forma estolão, muitas vezes o aspecto geral da planta é o mesmo de *M. cayennense*, com entrenós alongados.

Filgueiras (1989) utiliza como principal caráter distintivo a morfologia do ápice da gluma inferior. No entanto, os resultados mostram que esse caráter é variável entre indivíduos da mesma espécie. Swallen (1937) utiliza a gluma superior para distinguir as espécies, baseando-se na pilosidade basal em arco da superfície dorsal de *M. cayennense* X glabra na superfície basal dorsal em *M. rottboellioides*, o que é um caráter mais seguro. No entanto, os resultados do presente trabalho evidenciam novos caracteres abaixo relacionados.

1- Nervura mediana canaliculada, região proximal da gluma apresenta tricomas na superfície circundante. Gluma inferior glabra e dois tufos de tricomas marginais na metade do comprimento da gluma. Gluma superior com tufos de tricomas laterais e no

A análise micromorfológica, feita no MEV, apesar de ser inédita para as espécies, não demonstrou características fortes o suficiente para distingui-las. Ambas apresentaram os mesmos tipos celulares e ornamentações.

Até o ano de 2013, os números conhecidos para *Mesosetum* eram: 2n=8. 2n=16, 2n=24, 2n=32 cromossomos (Gould 1966, Gould & Soderstrom 1967, Davidse & Pohl 1972, Pohl & Davidse 1971, Silva *et al.* 2012, Sede *et al.* 2010, Ribeiro 2013). O achado de 2n= 20 para espécies do gênero *Mesosetum* é inédito e torna mais clara a relação do gênero com os demais do clado, segundo a filogenia proposta por Morrone *et al.* (2012). Este se refere à *Mesosetum* com número básico x=8 como pertencente ao clado x =10, denominado Paspaleae, subtribo Arthropogoninae. Desta forma, essa nova contagem de x=10 para espécies de *Mesosetum*, mostra que, ou o gênero perdeu cromossomos ao longo da evolução das espécies e aquelas com x=8 seriam aneuplóides ou que, *Mesosetum* é polifilético e então, as espécies com x=8 deveriam ser segregadas em um gênero independente já que, *M. cayennense* com x=10 é a espécie tipo do gênero.

Caso *Mesosetum* seja monofilético é possível que a indicação feita por Filgueiras (1989) de que a seção *Mesosetum* é basal, esteja correta. *Tatianyx arnacites* (Trin.) Zuloaga & Soderstr. constitui o grupo irmão do clado constituído por *Mesosetum* e *Keratochlaena rigidifolia* (Filg., Morrone & Zuloaga) Morrone & Zuloaga.

Até o momento o número básico sugerido anteriormente para o grupo, 2n= 8 (Gould 1966, Giussani 2001), diverge da recente descoberta, o que coloca em questão esse número e sugere-se que pelo menos mais um número básico pode estar envolvidos na evolução cromossômica do gênero. Os números cromossômicos conhecidos para o gênero são: 2n=16 para *M. pittieri, M. chaseae* e *M. loliiforme* (Gould 1966, Gould & Soderstrom 1967, Davidse & Pohl 1972, Pohl & Davidse 1971, Silva *et al.* 2012); 2n=32 para *M. loliiforme* (Sede *et al.* 2010); 2n=24 para *M. chaseae, M. elytrochaetum* e *M. longiaristatum* (Ribeiro 2013) e 2n= 8 para *M. longiaristatum, M. ansatum* e *M. alatum* (Ribeiro 2013).

1.5- CONCLUSÃO

A análise morfológica evidenciou que os caracteres usados até então na diferenciação das duas espécies eram fracos, por ser uma característica variável o que poderia induzir taxonomistas ao erro. Não é possivel que ocorra hibridos naturais entre as duas especies.

A contagem de 2n=20 para ambas as espécies mostra que há novo número cromossômico básico em *Mesosetum*.

1.6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Allem AC, Valls JFM. 1987. Recursos Forrageiros Nativos do Pantanal Matogrossense. Brasília: EMBRAPA. p. 203.
- Chase A. 1911. Notes on genera of Paniceae IV. Proceedings of the Biological Society of Washigton, 24: 103-159.
- Davidse G, Pohl RW. 1978. Chromosome numbers of tropical American grasses (Gramineae). Annals of the Missouri Botanical Garden 65: 637–649.
- Filgueiras TS. 1989. Revisão de *Mesosetum* Steudel (Gramineae: Paniceae). Acta Amazonica, 19: 47-114.
- Gould FW, Soderstrom TR. 1967. Chromosome numbers of tropical American Grasses. American Journal of Botany 54: 676-683.
- Gould FW. 1966. Chromosome numbers of some Mexican grasses. Canadian Journal of Botany 44: 1683-1696.
- Gould FW. 1966. Chromosome numbers of some Mexican grasses. Canadian Journal of Botany 44: 1683-1696.
- Hitchocock AS. 1909. Catalogue of the grasses of Cuba. Contributions from the United States National Herbarium, Washington, 12: 228-229.
- Love RA. 1949. Estudos Citológicos Preliminares de Trigos Rio grandenses. Circular nº 74, Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 14 p.
- 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(3): 293–324.
- Pozzobon MT, Valls JFM, Santos S. 2000. Contagens cromossômicas em espécies brasileiras de *Paspalum L*. (Gramineae). Acta botanica brasílica 14(2): 151-162.
- Radford AE, Dickison WC, Massey JR, Bell CR. 1974. Vascular Plant Systematics. Harper & Row Publishers, New York. 891pp.
- Ribeiro ARO. 2013. Citogenética, reprodução e variabilidade morfologica de especies de Mesosetum Sect. Bifaria (Hack) Chase (Poaceae: Paspaleae). Tese de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, 111p.
- Risso-Pascotto C, Pagliarini MS, Valle CB. 2006. Microsporogênesis in *Brachiaria dictyoneura* (Fig. & De Not.) Stapf (Poaceae: Paniceae). Genetics and Molecular Research 5(4): 837-845.
- 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, 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.
- 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. 69: 1-79.
- Species Link. 2014. The Field Museum of Natural History. (Acessado em 23 de maio de 2014).
- Steudel EG. 1854. Ueber den gengenwartigen. Stand der *Synopsis Plantarum* und eine Gattung der Graser. Flora 33: 225- 232.
- Swallen JR. 1937. The grass genus *Mesosetum*. Brittonia, 2: 363-392

Thiers B. 2014. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Vitual Herbarium. http://sweetgum.nybg.org/ih (acessado 14 Maio 2014).



CAPITULO II: Novas contagens de cromossomos e comportamento meiótico de espécies de *Mesosetum* Steud.

2.1- INTRODUÇÃO

A citogenética é um instrumento importante para a taxonomia e têm sido utilizada para compreender as relações de parentesco e os mecanismos de evolução cromossômica nas mais diversas categorias (Stebbins 1971, Guerra 1990). O número cromossômico é o parâmetro mais utilizado para o qual se tem a maior quantidade de dados (Stuessy 1990).

O destaque principal é a citotaxonomia clássica, que se caracteriza pela observação do número e da morfologia dos cromossomos mitóticos e do seu comportamento na meiose, integrada com a taxonomia morfológica, num esforço para entender e resolver problemas de sistemática (Lawrence 1951, Stebbins 1971).

Em Poaceae, a circunscrição das espécies é relativamente difícil, porque os limites interespecíficos se confundem por hibridação e poliploidia. Hilu (2004) enfatiza que o número cromossômico ancestral em Poaceae e sua propensão à evolução tem sido objeto de investigação. 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) apontou um padrão de números básicos de cromossomos nas duas principais tribos de Panicoideae: Paniceae e Andropogoneae, sendo que em Paniceae x=10 prevalece em 21% das espécies e, no restante 79%, x= 9. Morrone *et al.* (2012) demonstraram que Paniceae *lato sensu* (l.s.) é parafilética subdividindo-se em dois clados, Paniceae *stricto sensu* (s.s.), com as espécies x=9 e Paspaleae, que engloba táxons americanos e cujo número básico ancestral é x=10 cromossomos.

Mesosetum Steud. é relacionado à subfamília Panicoideae Link, tribo Paspaleae J. Presl, subtribo Arthropogoninae Butzin. A subtribo Arthropogoninae já havia se mostrado como monofilética em Giusssani *et al.* (2001), que a denominaram de "ambiguous clade", por englobar espécies aparentemente pouco relacionadas morfologicamente.

Mesosetum forma um clado com Keratochlaena rigidifolia (Filg., Morrone & Zuloaga) Morrone & Zuloaga, tendo Tatianyx arnacites (Trin.) Zuloaga & Soderstr. como grupo irão. Keratochlaena e Tatianyx são gêneros monoespecíficos e endêmicos do Brasil (Morrone et al. 2012).

O conhecimento citogenético do gênero *Mesosetum* é restrito a espécies da seção *Bifaria* (Hackel) Chase, com números 2n=8, 16 e 24 (Ribeiro 2013, Silva *et a.* 2012), uma espécie da seção *Sclerochloae* Swallen com 2n=16 (Gould 1966, Pohl & Davidse 1971) e

uma espécie da seção *Loiiformia* Swallen, com 2n=16 e 2n=32 cromossomos (Davidse & Pohl (1978), Gould & Soderstrom 1967, Sede *et al.* 2010). No capitulo I da presente dissertação, as duas espécies da seção *Mesosetum* analisadas mostraram 2n=20 cromossomos.

Este capitulo engloba espécies das seções Loliiformia e Sclerochloae.

A seção *Loliiformia* é constituída, segundo Filgueiras (1989), por sete espécies (*M. annum* Swallen, *M. arenarium* Swallen, *M. comatum* Swallen, *M. chlorostachyum* (Döll) Chase, *M. gibbosum* Renvoize & Filg., *M. loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase e *M. pappophorum* (Nees) Kuhlm.). Caracteriza-se pela primeira gluma assimétrica, inflada e segunda gluma triangulada 3- nervuras.

A seção *Sclerochloae* é constituída por duas espécies anuais (*M. sclerochloa* (Trin.) Chase *e M. pittieri* Hitchc.), com as glumas e o lema inferior com ápice corrugado e o antécio inferior com pálea bem desenvolvida (Filgueiras 1989).

Cabe a ressalva que o *M. sclerochloa* foi coletado recentemente por Valls *et al.* (2009), após 150 anos sem coleta, sendo que o único registro havia sido em 1821, feito por Langsdorf, em Cuiabá, no Mato Grosso, em 1821. A descrição original desta espécie foi feita com base em um único exemplar de herbário. Após Valls *et al.* (2009), foi reencontrada várias vezes em Flores de Goiás, ampliando em muito, a área de distribuição da espécie.

O presente trabalho tem como objetivo subsidiar o conhecimento taxonômico e evolutivo de *Mesosetum*, com a análise do comportamento meiótico e mitótico, por fornecer indícios do número cromossômico básico do gênero e seções e, pela possibilidade de inferências sobre o modo de reprodução o qual, fundamenta discussões sobre o conceito de espécies.

2.2- MATERIAL E MÉTODOS.

2.2.1- Coleta de material

Foram realizadas coletas de material botânico e mudas no período reprodutivo e nos locais de ocorrência conhecida das espécies e em outros locais com características morfoclimáticas semelhantes. O material obtido é discriminado na **Tabela 1**.

Tabela 1: Espécies de *Mesosetum* coletadas com respectivos dados de coletores, número e local da coleta.

Espécie Número	Coletores	Local de Coleta
----------------	-----------	-----------------

M. sclerochloa	2810	Regina Celia de Oliveira- RCO e Christopher William Fagg- CWF	Brasil, Goiás, Flores de Goiás, 14° 26' 55''S, 47° 03' 01''W, Saindo da cidade à esquerda, após a ponte de acesso a Nova Roma, a 9 km a partir da 1ª ponte, à cerca de 400m de um silo, 10/02/2013.
М. аппиит	269	Anádria Stéphanie da Silva- ASS; Mayco Werllen dos Santos Sousa- MWSS e Leandro Ruas- LR.	Brasil, Goiás, Flores de Goiás, 14° 24' 6"S, 47° 03' 03"W, estrada para Nova Roma, 8 km após a ponte de Flores de Goiás, 02/03/2013.
M. loliiforme	63	Mayco Werllen dos Santos Sousa- MWSS e Regina Celia de Oliveira- RCO	Brasil, Distrito Federal, Brasília, 15° 35' 43.2"S, 047° 39' 05.0"W, Jardim Botânico de Brasília, Cristo Redentor, 15/01/2013.
M. loliiforme	66	Mayco Werllen dos Santos Sousa- MWSS e Desiree Marques Ramos- DMR	Brasil, Distrito Federal, Brasília, 15° 56′ 41″S e 47° 53′ 07″W, Fazenda Água Limpa, 15/01/2014.
M. loliiforme	15914	José Francisco Montenegro Valls- V; Mayco Werllen dos Santos Sousa- MWSS, Andressa Dantas da Silveira- ADS, Rafaela Araujo Rocha- RAR e Josimar Pereira Santos- JPS	Brasil, Goiás, Teresina de Goias, 13° 51' 39.2" S e 47° 16' 25.7"W. Na estrada entre Teresina de Goiás e Cavalcante, 17/012014.
M. loliiforme	15902	José Francisco Montenegro Valls- V; Mayco Werllen dos Santos Sousa- MWSS, Andressa Dantas da Silveira- ADS, Rafaela Araujo Rocha- RAR e Josimar Pereira Santos- JPS	
M. loliiforme	15896	José Francisco Montenegro Valls- V; Mayco Werllen dos Santos Sousa- MWSS, Andressa Dantas da Silveira- ADS, Rafaela Araujo Rocha- RAR e Josimar Pereira Santos- JPS	Brasil, Goiás, Teresina de Goiás, 13° 47' 33.8"S e 47° 16' 20.7"W, Teresina de Goiás, Cerrado pouco denso, 17/01/2014.
M. ferrugineum	64	Mayco Werllen dos Santos Sousa- MWSS e Desiree Marques Ramos- DMR	Brasil, Distrito Federal, Brasília, 15° 38' 32.4"S; 48° 00' 50.6"W, Parque Nacional de Brasília, ao lado da represa

		Maria ológica,		estação 013.

As mudas estão sendo mantidas vivas na casa-de-vegetação do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília e foram obtidas junto a um *voucher* de herbário com duplicatas. As espécies pouco conhecidas e raras foram, também, enviadas ao Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Embrapa Cenargen), Brasília, DF. O material cultivado foi utilizado para as contagens em ponta-de-raiz e obtenção de inflorescências para análise da meiose e análise morfológica. V*ouchers* foram incorporados ao herbário UB e duplicatas para o CEN (siglas segundo Thiers 2014) e herbários congêneres.

2.2.2 - Análise citogenética

O número cromossômico foi determinado em células da ponta da raiz (mitose) ou em células mãe-de-pólen (meiose).

As inflorescências foram fixadas em solução 3:1 de etanol absoluto e ácido acético glacial, por 24 horas. Após esse período, o material foi transferido para álcool a 70% e acondicionado sob refrigeração até o momento da preparação das lâminas (Pozzobon *et al.* 2000). Para as análises meióticas, os meiócitos foram corados com carmim acético a 2%.

Para a avaliação do comportamento meiótico, foi analisado um número de 200 células (Risso-Pascotto *et al.* 2006) por cada fase da meiose I e II. O índice meiótico foi calculado conforme Love (1949).

Para determinação do número cromossômico somático foram utilizados tecidos de ponta de raiz com aproximadamente um cm de comprimento (região em que se encontra o meristema radicular). As raízes foram pré-tratadas com solução de α bromonaftaleno por aproximadamente 2 horas, à temperatura ambiente. Posteriormente, fixadas em 3:1 por 24 horas, em temperatura ambiente (Pozzobon *et al.* 2000). Depois de fixadas, as raízes foram guardadas em álcool 70%, no freezer, até o momento da montagem das lâminas.

Para a confecção das lâminas, as raízes armazenadas foram lavadas com água destilada e hidrolisadas com solução de HCl 1N em banho maria por 10 minutos. As raízes foram coradas com solução de Feulgen, deixando por 20 minutos ou, até que as pontas das raízes estivessem coradas. Logo após as raízes foram lavadas em água destilada em três banhos de 5 minutos cada e a coifa foi retirada.

Posteriormente, as raízes foram dispostas em uma lâmina, e com uma pipeta de precisão foi adicionado 10μm (microlitros) da enzima pectinase-celulase 20%-2% e levadas a uma incubadora com temperatura de 37°C por 30 minutos. As lâminas foram coradas com carmim acético a 2% e observadas e fotografadas em microscópio óptico Zeiss Axiophot.

2.3- RESULTADOS

A **Tabela 2** mostra o número cromossômico obtido em meiose das espécies *M. annuum, M. loliiforme, M. sclerochloa* e *M. ferrugineum.* Dados de campo estão discriminados na **Tabela 2.**

Tabela 2: Contagens cromossômicas em espécies de *Mesosetum*, coletor e número, número cromossômico e ciclo de vida.

Espécie	Acesso	Contagem cromossômica	Ciclo de vida
M. annuum Swallen	A.S. Silva et al. 269	2n=8	Anual
M. loliiforme (Hochst.	M.W.S. Sousa & D.M.	2n=32	Perene
ex Steud.) Chase*	Ramos 66		
M. loliiforme (Hochst.	M.W.S. Sousa & R.C.	2n=24	Perene
ex Steud.) Chase	Oliveira 63		
M. loliiforme (Hochst. ex Steud.) Chase*	V et al. 15. 914	2n=16	Perene
<i>M. loliiforme</i> (Hochst. ex Steud.) Chase*	V et al. 15. 902	2n=16	Perene
M. loliiforme (Hochst. ex Steud.) Chase*	V et al. 15. 896	2n=16	Perene
M. sclerochloa Hitchc.	R.C. Oliveira & C.W.Fagg	2n=16	Anual
	2810		
M. ferrugineum (Trin.)	M.W.S. Sousa & D.M.	2n=60	Perene
Chase**	Ramos 64		

^{*} Espécies com número cromossômico definido, por meiose. ** Espécie com número cromossômico definido por mitose.

Foi analisado o comportamento meiótico de um acesso *M. annuum*, que apresentou 2n=8 cromossomos, conforme discriminado na Tabela 3. Foram 1.871 células analisadas e interpretadas nas duas fases da meiose, I e II. As análises mostraram poucas irregularidades meióticas como divisão assincrônica (**Figura 1 G**) e aderência cromossômica (**Figura 1 F**). A

maioria das células, entretanto, apresentou meiose regular com pareamento com quatro bivalentes.

Tabela 3: Comportamento meiótico de *Mesosetum annuum* (n=4), total de células analisadas para as fases da meiose I e II, acesso ASS 269.

Fase	Total de células	Irregular	Irregularidade
Diacinese	200	0	0 %
Metáfase I	208	0	0 %
Anáfase I	201	0	0 %
Telófase I	209	0	0 %
Prófase II	210	0	0 %
Metáfase II	200	50	25%
Anáfase II	0	0	0 %
Telófase II	400	0	0 %
Tétrade	243	0	0 %
Total	1871	50	2.67 %

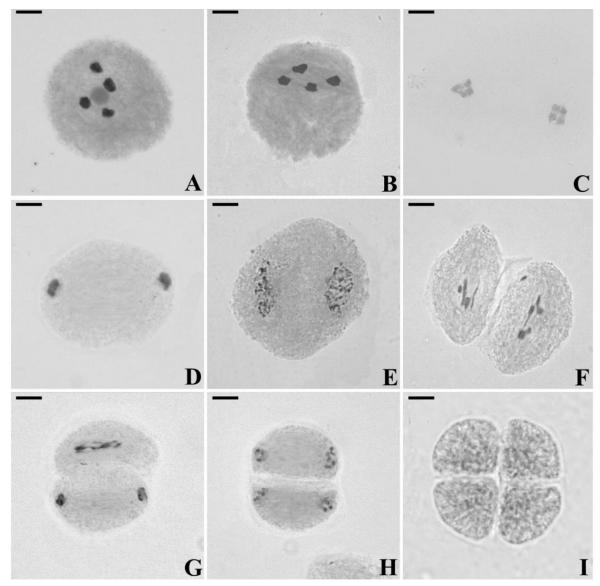


Figura 1: Comportamento meiótico em células-mãe de anteras de *Mesosetum annum* Swallen: **A.** Diacinese; B Metáfase I; C Anáfase I; D. Telófase I; E. Prófase II; F Metáfase II; G Anáfase II; H Assincronia com ponte; I. assincronia em metáfase II e telófase II; J. Telófase II; L Tétrade regular. (A.S.Silva 269)Barra: 10 μm.

O comportamento meiótico de*M. sclerochloa* está discriminado na Tabela 4. O total de células analisadas e interpretadas nas duas fases foi de 1.814 células, tendo sido analisadas 200 células por fase, exceto na anáfase I (**Tabela 4**).

As análises mostraram 100% de regularidade nas tétrades segundo o índice meiótico proposto por Love (1949). Na meiose I foram observadas anáfases com cromossomos retardatários (**Figura 2 D-E**) e aderências (**Figura 2 F**).

Na meiose II foram observados divisões assicrônicas. O pareamento foi regular em 8 bivalentes com cromossomos de configuração em bastão e anel.

Tabela 4: Comportamento meiótico de *Mesosetum sclerochloa* (n=8), total de células analisadas para as fases da meiose I e II, acesso RCO 2810.

Fase	Total de células	Irregular	Irregularidade (%)
Diacinese	200	0	0 %
Metáfase I	214	0	0 %
Anáfase I	200	50	25 %
Telófase I	200	0	0 %
Prófase II	200	0	0 %
Metáfase II	200	12	6%
Anáfase II	200	0	0 %
Telófase II	200	0	0 %
Tétrade	200	0	0 %
Total	1814	62	3.41 %

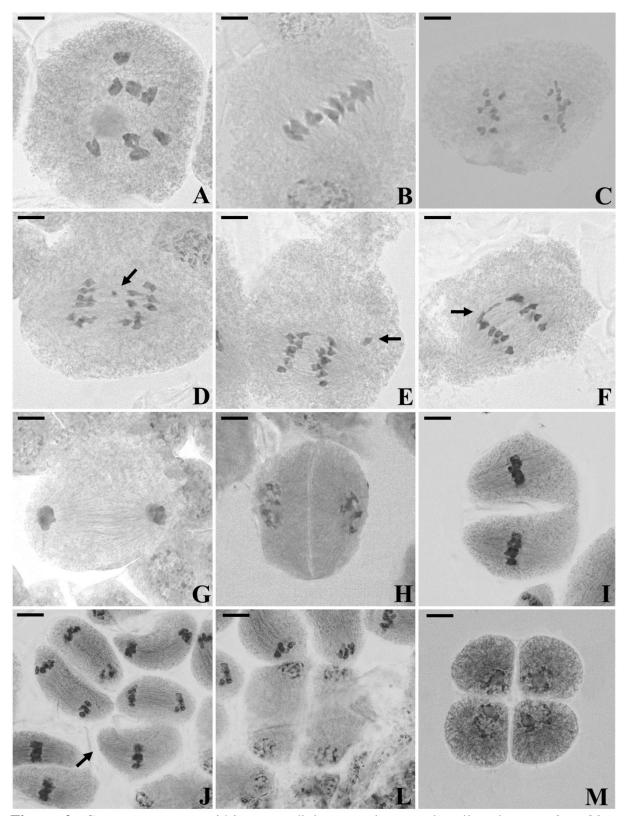


Figura 2: Comportamento meiótico em células-mãe de grão de pólen de *M. sclerochloa* (Trin.) Hitchc. com 2n=16. **A.** Diacinese. **B.** Metáfase I. **C** Anáfase I. **D**. Telófase I. **E**. Prófase II. **F** Metáfase II. **G** Anáfase II. **H** Assincronia em metáfase II com anáfase II; **I** Telófase II. **J** Tétrade regular. (R.C.Oliveira & C.W. Fagg 2810). Barra: 10μm

Todos os cinco acessos de *M. loliiforme* (seção *Loliiformia*) tiveram seu número cromossômico determinado por meiose. Três populações possuem 2n=16 e uma, 2n=32 cromossomos.

O índice meiótico de acessos de *M. loliiforme* com 2n=16 e 32 não foi obtido. A **Figura 3** mostra irregularidades no pareamento de acessos com 2n= 16 e 32.

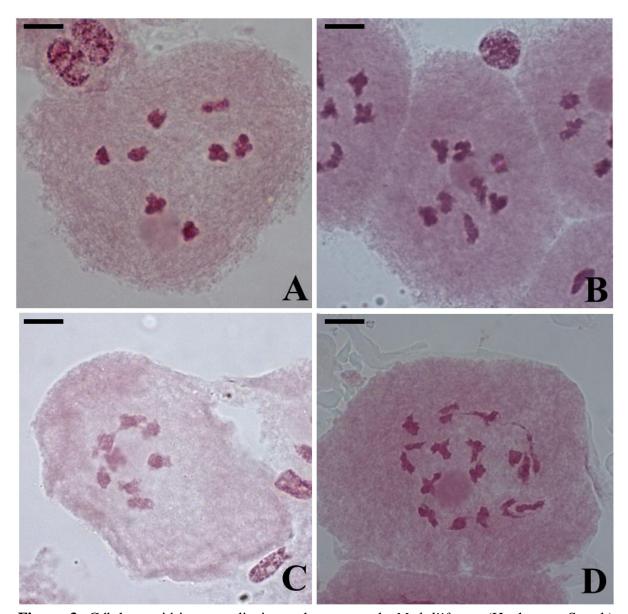


Figura 3: Células meióticas em diacinese de acessos de *M. loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase: **A.** Acesso com 2n=16 cromossomos (Valls *et al.* 15902) e pareamento em bivalentes. **B.** Acesso com 2n=16 cromossomos (Valls *et al.* 15914) e pareamento em bivalentes. **C.** Acesso com 2n=16 cromossomos (Valls *et al.* 15896) aderências. **D.** Acesso com 2n=32 cromossomos (M.W.S. Sousa 66) com aderências.

O comportamento meiótico do acesso M.W.S. Sousa & R.C. Oliveira 63 de *M. loliiforme* está discriminado na Tabela 5. O total de células analisadas e interpretadas nas duas

fases foi de 1.765 células, tendo sido analisadas 200 células por fase, exceto na anáfase II e tétrades (**Tabela 5**).

A análise do acesso com 2n=24 cromossomos, mostrou 13.87% de irregularidade na meiose como um todo e, nas tétrades, o percentual de irregularidade foi de 33.33% segundo o índice meiótico proposto por Love (1949). Na meiose I foram observadas Diacineses com aderências (**Figura 4 B**). Cromossomos retardatários foram registrados em metáfases (**Figura 4 D**), anáfases (**Figura 4 F**) e telófases (**Figura 4 H**) e aderências em anáfase (**Figura 4 F**).

Na meiose II (**Figura 5, Tabela 5**) foram observadas divisões assincrônicas. Ocorreu pareamento regular dos cromossomos em 12 bivalentes, como também pareamento com tetravalentes.

Tabela 5: Comportamento meiótico de *Mesosetum loliiforme* (n=12), total de células analisadas para as fases da meiose I e II, acesso MWSS 63.

Fase	Total de células	Irregular	Irregularidade (%)
Diacinese	200	50	25%
Metáfase I	200	30	15%
Anáfase I	200	30	15%
Telófase I	200	10	5%
Prófase II	200	15	7.5%
Metáfase II	200	-	0%
Anáfase II	-	-	-
Telófase II	200	30	15%
Tétrade	150	50	33.33%
Total	1.550	215	13.87%

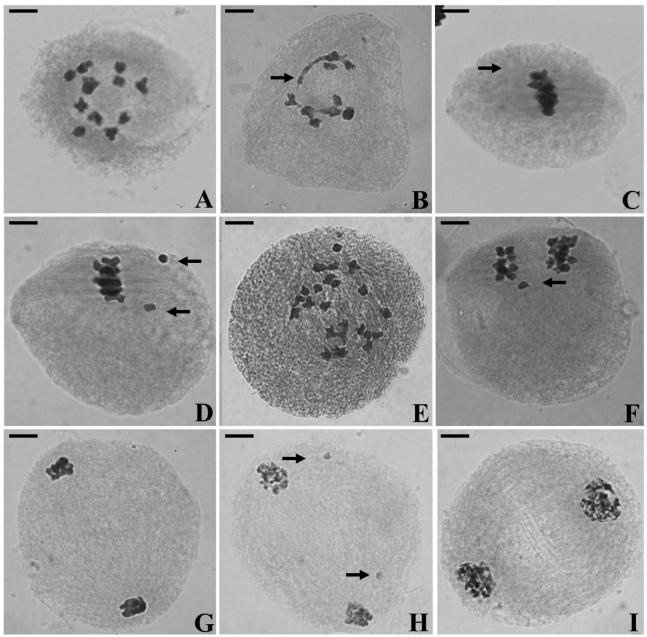


Figura 4: Comportamento na meiose I em células-mãe de grão de pólen de *Mesosetum loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase com 2n=24. **A-B.** Diacineses. **A** Normal. **B.** Tetravalentes (seta). **C-D.** Metáfases 1 **C.** Normal. **D.** Com retardatários (seta). **E-F.** Anáfases I. **E.** Normal. **F.** Com retardatários (seta). **G-H.** Prófases II. **G.** Normal. **H.** Com retardatários (seta). I. Prófase II normal. (M.W.S. Sousa & R.C. Oliveira 63). Barra: 10μm.

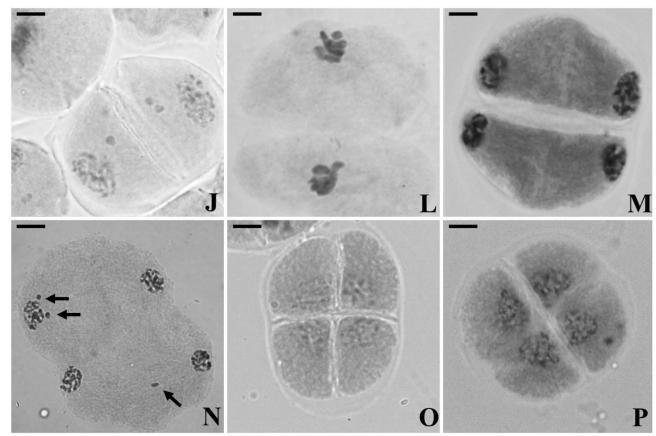


Figura 5: Comportamento em meiose II em células-mãe de anteras de *M. loliiforme* (Hochst. ex Steud.) Chase com 2n=24. **J.** Prófase II com Retardatários. **L.** Metáfase II. **M-N** Telófases II. **M.** Normal. **N.** Com retardatários (seta). **O- P.** Tétrades. **O.** Normal. **P.** Com micronúcleo (seta). (M.W.S. Sousa & R.C. Oliveira 63). Barra: 10μm.

O número cromossômico do acesso de *M. ferrugineum* (**Figura 6**), seção *Mesosetum*, foi determinado por mitose e encontrou-se 2n=60 cromossomos.

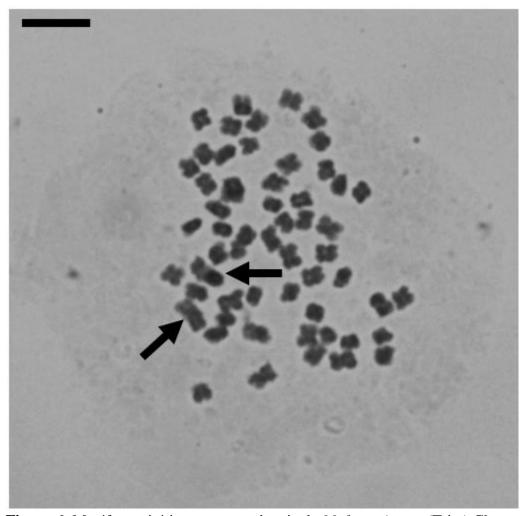


Figura 6: Metáfase mitótica em ponta de raiz de *M. ferrugineum* (Trin.) Chase. (M.W.S. Sousa & D.M. Ramos 64). Setas indicam sobreposição de cromossomos.

2.4- DISCUSSÃO

Segundo a filogenia da tribo Paniceae l.s., proposta por Morrone *et al.* (2012), *Mesosetum* Steud. pertence ao clado x =10, denominado Paspaleae, subtribo Arthropogoninae. O enquadramento nesse clado foi baseado em uma única espécie do gênero, *M. chaseae* Luces. Embora relacionado a esse clado x=10, as contagens cromossômicas disponíveis para as espécies do clado são pouco numerosas, conforme mostra a revisão bibliográfica discriminada na Tabela 6.

Tabela 6: Relação das espécies incluídas por Morrone *et al.* (2012) na subtribo Arthropogoninae, contagens cromossômicas disponíveis e respectivas referência bibliográfica. C.C.= Contagem Cromossômica. s.d. = sem dado disponível.

Espécie	C.C.	Autores
Stephostachys mertensii (Roth) Zuloaga	2n= 40	Pohl e Davidse (1971)
& Morrone	2n = 36	Norrmann et al (1994)
Oplismenopsis najada (Hack. & Arechav.) Parodi	s.d.	s.d.
Oncorachis ramosa (Zuloaga & Soderstr.) Morrone & Zuloaga	s.d.	s.d.
Cyphonanthus discrepans (Döll) Zuloaga & Morrone	s.d.	s.d.
Homolepis isocalycia (G. Mey.) Chase	2n=40	Gould e Sordestrom (1967)
Homolepis glutinosa (Sw.) Zuloaga &	2n = 40	Pohl e Davidse (1971)
Soderstrom	2n = 20	Shibata (1962)
Tatianyx arnacites (Trin.) Zuloaga & Soderstrom	2n = 60	Morrone <i>et al.</i> (1995).
Mesosetum chaseae Luces	2n=16 2n=24	Silva <i>et al.</i> (2012); Ribeiro (2013) - dados não publicados
Keratochlaena rigidifolia (Filg., Morrone & Zuloaga) Morrone & Zuloaga	s.d.	s.d.
Arthropogon villosus Nees	s.d.	s.d.
Altoparadisium chapadense Filgueiras, Davidse, Zuloaga & Morrone	s.d.	s.d.
Achlaena piptostachya Grisebach	s.d.	s.d.
Phanopyrum gymnocarpon (Elliott) Nash	2n = 40	Kessler JW e Hatch SL (1984).
Canastra lanceolata (Filg.) Morrone, Zuloaga, Davidse & Filgueiras.	s.d.	s.d.
Canastra aristella (Döll) Zuloaga & Morrone	s.d.	s.d.
Apochloa subtiramulosa (Renvoize & Zuloaga) Zuloaga & Morrone	s.d.	s.d.
Apochloa euprepes (Renvoize) Zuloaga & Morrone	2n = 40	Morrone et al (1995)
	a d	. A
Coleataenia prionitis (Nees) Soreng	s.d.	s.d.
Coleataenia petersonii (Hitchc. & Ekman) Soreng	s.d.	s.d.
Triscenia ovina Grisebach	s.d.	s.d.
Coleataenia anceps (Michx.) Soreng	s.d.	s.d.
Coleataenia tenera (Beyr. ex Trin.) Soreng	s.d.	s.d.
Coleataenia longifolia (Torr.) Soreng	s.d.	s.d.

Fonte: Index to Plant *Chromosome* Numbers- IPCN: Adaptado

No presente trabalho são relacionadas as primeiras contagens para as espécies (Tabela 9): *Mesosetum. Sclerochloa* (seção *Sclerochloae*) com 2n=16, *M. annuum* com 2n=8, *M. ferrugineum* com 2n=60 e um novo citotipo de *M. loliiforme* com 2n=24.

A contagem 2n=16 para *M. sclerochloa* já havia sido relatado para outra espécie da mesma seção *M. pittieri* Hitchc. (Gould 1966 Pohl & Davidse 1971) e, o número básico até então relacionado ao gênero é de x=8.

Contagens anteriores com 2n=16 cromossomos também foram feitas em *M. loliifome*, seção *Loliiformia* (Gould & Sordestrom 1967) e *M. chaseae*, sessão *Bifaria* (Silva *et al.* 2012). No entanto, os dados fornecidos pelos autores não trazem informações sobre o comportamento meiótico de *M. pittieri* e *M. loliifome*.

A taxa de irregularidade meiótica *em M. scleroclhoa* é alta, porém, registrada apenas em anáfase I, não havendo indícios de comprometimento da fertilidade da planta pois, forma tétrades regulares.

Mesosetum annuum possui 2n=8 cromossomos. Este número também foi encontrado para *M. alatum* Filg., *M. ansatum* (Trin.) Kuhlm. e *M. longiaristatum* Filgo que sugere novo número básico x=4 para o gênero (Ribeiro 2013).

As espécies *M. ansatum* e *M. longiaristatum* com 2n=8 tiveram meiose regular, com raras irregularidades, segundo Ribeiro (2013). Ribeiro (2013) fornece, ainda, dados do saco embrionário de *M. ansatum* que é do tipo *Polygonum*, levando à suposição de sexualidade.

Foi confirmado em *M. lolliforme* mais um nível de ploidia, 2n=24. As irregularidades ficaram em torno de 13.87%. Foram encontradas irregularidades na meiose I e II e a formação de tétrades com micronúcleo. As outras três populações com 2n=16 e uma com 2n=32 de *M. loliiforme* que tiveram números confirmados em meiose, apesar de não concluída todas as fases, notou-se instabilidade em suas divisões, como predisposição à formação de tetravalentes e outras associações múltiplas, característica essa também encontrada na população de 2n=24.

A instabilidade meiótica em diferentes citotipos de *M. loliiforme* leva à inferência de estar ocorrendo poliploidia nessa espécie e, assim, investigações à busca de acessos diploides traria grande benefício à discussão. No entanto, cabe ressaltar, que *M. loliiforme* é uma espécie com grande área de ocorrência e ampla variabilidade morfológica. Filgueiras (1989) relaciona, para esse táxon, nove sinônimos e relata que essa espécie encontra-se em franco processo de especiação. A circunscrição de *M. loliiforme* merece ser reavaliada, com base nesses dados citológicos.

Guerra (1988) enfatiza que associações múltiplas se formam quando ocorre homologia em mais de dois conjuntos de cromossomos, o que caracteriza poliploidia, seja ela

autoploliploidia ou aloliploidia segmentar. Ribeiro (2013) também relatou, nos níveis de ploidia de 2n=16 e 2n=24 cromossomos em *M. longiaristatum* e *M. chaseae*, respectivamente, a presença de tetravalentes, ratificando a hipótese de poliploidia, e que a mesma esteja envolvida no processo de evolução cromossômica do gênero.

A primeira contagem para o gênero de 2n=60 em *M. ferrugineum* adiciona elementos à discussão. *Mesosetum ferrugineum* tem sido relacionada à seção *Mesosetum*, juntamente com *M. cayennense* e *M. rottboellioides*, ambas com 2n=20 cromossomos. Essa nova contagem corrobora a proposição de mais um número básico para *Mesosetum* (x=10) e indica a possibilidade de poliploidia na evolução do gênero.

Embora *Mesosetum* tenha sido bem estudado do ponto de vista da taxonomia clássica, dados referentes à citogenética vem adicionando dados surpreendentes e antagônicos ao que se pensava sobre esse táxon. Ou seja, números cromossômicos muito distintos que estão sendo relacionados às suas espécies levam à suposição de novos números cromossômicos básicos para o gênero e sustenta a hipótese de que *Mesosetum* não é monofilético. Estudos adicionais e uma hipótese de filogenia robusta para o gênero são necessárias para a compreensão dos mecanismos da evolução cromossômica no grupo.

2.5- CONCLUSÃO

As análises meióticas mostraram a grande variação cromossômica dentro do gênero *Mesosetum*, e sugerem um novo número básico, diferente do já conhecido x=8. As irregularidades meióticas encontradas sustentam a idéia de que a poliploidia esteja atuando na evolução e especiação do gênero.

2.6- REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Davidse G, Pohl RW. 1978. Chromosome numbers of tropical American grasses (Gramineae). Annals Missouri Botanical Garden 65: 637–649.
- 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.
- Filgueiras TS. 1989. Revisão de *Mesosetum* Steudel (Gramineae: Paniceae). Acta Amazonica, 19: 47-114.

- 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. 1990. A Situação da Citotaxonomia de Angiospermas nos Tropicos e em particular no Brasil. Acta Botanica Brasilica 34: 75-86.
- Guerra M. 1988. Introdução à citogenética geral. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 142 p.
- Hilu K. 2004. Phyolgenetics and chromosomal evolution in the Poaceae (grasses). Australian Journal of Botany 52:13-22.
- Index to Plant Chromosome Numbers. 1979. P. Goldblatt & D. E. Johnson, eds. Missouri Botanical Garden, St. Louis. Acesso: 14 de Maio de 2014.
- Lawrence GHM. 1951. Taxonomy of vascular plants New York, The Macmillan Company, 823 p.
- Love, RA. 1949. Estudos Citológicos Preliminares de Trigos Rio grandenses. Circular nº 74, Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, Porto Alegre-RS, 14 p.
- Morrone O, Aagesen L, Scataglini MA, Salariato DL, Denham SS, Chemisquy MA, Sede SM, Giussani LM, Kellogg EA e Zuloaga FO. 2012. Phylogeny of the Paniceae (Poaceae: Panicoideae): Integrating Plastid DNA Sequences and Morphology Into a New Classification. Annals Cladistics 28: 333 -356.
- Pohl RW, Davidse G. 1971. Chromosome numbers of Costa Rican grasses. Brittonia 23(3): 293–324.
- Pozzobon MT, Valls JFM, Santos S. 2000. Contagens cromossômicas em espécies brasileiras de *Paspalum L*. (Gramineae). Acta Botanica Brasílica 14(2): 151- 162.
- Ribeiro ARO. 2013. Citogenética, reprodução e variabilidade morfologica de especies de Mesosetum Sect. Bifaria (Hack) Chase (Poaceae: Paspaleae). Tese de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília, 111p.

- Risso-Pascotto C, Pagliarini MS, Valle CB. 2006. Microsporogênesis in *Brachiaria dictyoneura* (Fig. & De Not.) Stapf (Poaceae: Paniceae). Genetics and Molecular Research 5(4): 837-845.
- 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, 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.
- Stebbins GL. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. London: Edward Arnold. 216p.
- Stuessy TF. 1990. Plant taxonomy: the systematic evaluation of comparative data. New York: Columbia University Press.
- Thiers B. 2014. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. http://sweetgum.nybg.org/ih (acessado 14 Maio 2014).
- Valls JFM, Ramos DM, Penaloza APS, Santos S. 2009. Nota sobre a ocorrência e distribuição geográfica de *Mesosetum sclerochloa* (Trin.) Hitchc., gramínea brasileira raríssimas coletas. In: Anais do 60° Congresso Brasileiro de Botânica, Feira de Santana BA.

CONCLUSÃO GERAL

A adição de novos caracteres com valor taxonômico auxiliou a distinção de *Mesosetum cayennense* e *M. rottboellioides*. O caráter se mostrou forte e não variou dentro dos espécimes analisados.

A hipótese que existam dois grupos distintos dentro do gênero *Mesosetum* é viável. Mais estudos devem ser feitos a fim de responder as questões taxonômicas que envolvem esse gênero, bem como a adição de informações no âmbito molecular, anatômico e reprodutivo.

No presente trabalho foram encontrados novos números cromossômicos, sugerindo novo número básico no gênero x=10. Os dados citogenéticos obtidos, são essenciais para a taxonomia do grupo, e devem ser aprofundadas as outras seções ainda com números desconhecidos.