

São Carlos, SP / Abril, 2024

Morfologia polínica de *Paspalum* spp. pelo método de acetólise e microscopia eletrônica de varredura

Naiana Barbosa Dinato⁽¹⁾, Bianca Baccili Zanotto Vigna⁽²⁾ e Alessandra Pereira Fávero⁽²⁾

⁽¹⁾ Professora, Colégio Estadual da Polícia Militar de Goiás, Itumbiara, GO. ⁽²⁾ Pesquisadoras, Embrapa Pecuaría Sudeste, São Carlos, SP.

Resumo – As espécies do gênero *Paspalum* possuem ampla distribuição na América do Sul, pertencem à família Poaceae e apresentam diversas características de interesse para uso como pastagem. Esse gênero compreende mais de 300 espécies adaptadas tanto aos trópicos quanto aos subtropicais e está organizado em 25 grupos informais. A caracterização morfológica é importante tanto para a sistemática de plantas quanto para a conservação e uso de recursos genéticos vegetais. O objetivo desse trabalho foi identificar padrões de morfologia polínica de diferentes acessos de *Paspalum* usados em programa de melhoramento genético. Para caracterização morfológica e ultraestrutural, as anteras de cada amostra foram fixadas em solução de Karnovsky modificada. As anteras foram seccionadas e os grãos de pólen foram analisados no microscópio eletrônico de varredura convencional. Observou-se que há pouca diferença entre os grãos de pólen estudados, os quais, no geral, apresentam-se como mônades, de tamanho médio (25–50 µm), com simetria radial, heteropolares, com âmbito circular, prolato esférico, monoporado, poro circular, exina tectada com parede em forma de báculo. Embora tenha sido observada pouca variação morfológica nas espécies analisadas nesse trabalho, é a primeira vez que é feita a caracterização morfológica de grãos de pólen para *Paspalum malacophyllum*, *Paspalum atratum*, *Paspalum regnellii* e o híbrido *Paspalum plicatulum* 4PT x *Paspalum guenoarum* cv. Azulão. Assim, este trabalho contribui para uma melhor compreensão da diversidade polínica do gênero *Paspalum*, podendo auxiliar na conservação e uso destas espécies.

Termos para indexação: grãos de pólen, Poaceae, palinologia.

Pollen morphology of *Paspalum* spp. by the method of acetolysis and scanning electron microscopy

Abstract – Species of the genus *Paspalum* are widely distributed in South America, belong to the Poaceae family and have several characteristics of interest for use as pasture. This genus comprises more than 300 species adapted to both the tropics and subtropics and is organized into 25 informal groups. The morphopollenic characterization is important both for the systematics of plants and may be related to the success of fertility and the ability to cross. The objective of this work was to identify patterns of pollen

Embrapa Pecuaría Sudeste

Rod. Wasghinton Luiz, Km 234
13560-970, São Carlos, SP
www.embrapa.br/pecuaría-sudeste
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente

André Luis Monteiro Novo

Secretário-executivo

Luiz Francisco Zafalon

Membros

Aisten Baldan, Gisele Rosso, Mara

Angélica Pedrochi, Maria Cristina

Campanelli Brito, Sílvia Helena

Picirillo Sanchez

Revisão de texto

Gisele Rosso

Normalização bibliográfica

Mara Angélica Pedrochi (CRB-8/6556)

Projeto gráfico

Leandro Sousa Fazio

Diagramação

Maria Cristina Campanelli Brito

Publicação digital: PDF

Todos os direitos reservados à Embrapa.

morphology of different accessions of *Paspalum* used in a genetic improvement program. For morphological and ultrastructural characterization, the anthers of each sample were fixed in modified Karnovsky solution. The anthers were sectioned and the pollen grains were analyzed using a conventional scanning electron microscope. It was observed that there is little difference between the studied pollen, which, in general, appear as monads, of medium size (25-50 µm), with radial symmetry, heteropolar, circular shape, spherical prolate, monoporate, pore circular, exine tectate with baculum-shaped wall. Although little morphological variation was observed in the species analyzed in this work, it is the first time that the morphological characterization of pollen has been carried out for *Paspalum malacophyllum*, *Paspalum atratum*, *Paspalum regnellii*, and the hybrid *Paspalum plicatum* 4PT x *Paspalum guenoarum* cv. Azulão. Thus, this work contributes to a better understanding of the pollen diversity of the genus *Paspalum*, and may assist in the conservation and use of these species.

Index terms: pollen, Poaceae, palynology.

Introdução

As espécies do gênero *Paspalum* estão amplamente distribuídas na América do Sul e são pertencentes à tribo Paniceae e família Poaceae (Batista; Godoy, 2000; Aliscioni; Denham, 2008). Esse gênero apresenta uma vasta biodiversidade e destaca-se entre as gramíneas brasileiras principalmente pelo valor forrageiro (Valls; Pozzobon, 1987), pois é a base alimentar para diferentes herbívoros (Prestes et al., 1976). *Paspalum* compreende mais de 300 espécies (Acuña et al., 2009), adaptadas tanto aos trópicos quanto aos subtropicais, sendo a maioria cultivada como forrageiras de verão (Novo et al., 2017). Esse gênero foi organizado por Chase (1929) em 25 grupos informais, e até hoje são utilizados por taxonomistas (Essi; Souza-Chies, 2007). Dentre eles há quatro grupos com várias espécies com características importantes como alta produção e qualidade de forragem e boa aceitação pelos animais, sendo eles: *Plicatula*, *Notata*, *Dilatata* e *Virgata* (Barreto, 1974; Pereira et al., 2015).

O Brasil possui 216 espécies de *Paspalum* descritas, 78 das quais endêmicas (Bonasora et al., 2015; Valls et al., 2023) e abriga a maior parte de sua

diversidade. Além disso, as espécies apresentam distintas características morfológicas, hábitos de crescimento, modos de reprodução, entre outras (Burson, 1997).

Uma correlação alta e positiva entre o tamanho do pólen e a germinação (Nadeem et al., 2013) e entre o número de sementes produzidas por hibridização e o diâmetro do pólen (Pipino et al., 2011) já foi descrita na literatura em hibridizações de sucesso. Além disso, essa ferramenta é importante para estudo da conservação, taxonomia, filogenia e melhoramento genético. Grãos de pólen da família Poaceae apresentam-se como monades, de âmbito circular, prolato-esferoidais a oblato-esferoidais, abertura do tipo poro, com presença de ânulo e opérculo, exina rugulada-pilada (de difícil visualização em microscopia óptica) e areolada, com aréolas de diferentes tamanhos, com contornos irregulares e recobertos por espículos quando vistos em microscopia eletrônica de varredura (Corrêa et al., 2005).

Estudos relacionados à taxonomia, citogenética, reprodução e valor nutricional têm sido realizados com espécies do gênero para sua conservação e uso (Fachinetto et al., 2017; Matta et al., 2023). Justifica-se a importância de ampliar essas pesquisas nas espécies de *Paspalum* para auxiliar na preservação da espécie e conservação de pólen, além de contribuir para estudos de taxonomia, filogenia e diversidade evolutiva do gênero (Souza et al., 2015).

A conservação genética é interessante para diversas espécies de plantas, pois o pólen pode ser mantido em bancos de conservação com a descrição da informação do genitor masculino (França, 2008), sendo de grande interesse para programas de melhoramento, pois permite o cruzamento entre genótipos que apresentam assincronia reprodutiva, como materiais não adaptados e espécies afins (Connor; Towill, 1993). Esse banco, também, pode ser disponibilizado para melhoristas, permitindo que além das hibridizações desejadas, seja possível o intercâmbio entre as instituições (Damasceno Junior et al., 2008).

Neste sentido, este estudo teve por objetivo caracterizar padrões da morfologia polínica de diferentes acessos de *Paspalum* de espécies de interesse para o programa de melhoramento genético, sendo que algumas ainda não são descritas na literatura.

Material e métodos

Materiais de *Paspalum* pertencentes ao programa de melhoramento genético para fins forrageiros da Embrapa Pecuária Sudeste foram selecionados: dois acessos de *Paspalum malacophyllum* Trin. BGP 6 (V5095) e BGP 293 (V14606), um de *Paspalum regnellii* Mez. BGP 215 (Lr2), e dois de *Paspalum atratum* Swallen BGP 98 [V9880e BGP 308 (V14525)], *Paspalum urvillei* Steudel BGP 393 (Af34), *Paspalum notatum* (grama-batatais, coletada na Fazenda Canchim, Embrapa Pecuária Sudeste, São Carlos, SP) e o híbrido *Paspalum plicatum* 4PT x *Paspalum guenoarum* cv. Azulão – plantas F1 #10, F1 #4, F1 #37 e F1 #42. O genitor feminino tetraploide sintético da espécie *Paspalum plicatum* denominado 4PT foi desenvolvido por Sartor et al. (2009), pela duplicação cromossômica de um acesso diploide sexual com colchicina, e Novo et al. (2017), que obtiveram a progênie F1 do cruzamento entre *P. plicatum* 4PT e *P. guenoarum* cv. Azulão. Os códigos BGP referem-se ao Código do Banco de Germoplasma de *Paspalum* da Embrapa Pecuária Sudeste e os códigos entre parênteses referem-se ao coletor e seu respectivo número de coleta.

Para caracterização morfológica e ultraestrutural, as anteras de cada amostra foram fixadas em solução de Karnovsky (Karnovsky, 1965) modificada [glutaraldeído (2,5%), paraformaldeído (2%), CaCl_2 (0,001 M), tampão cacodilato de sódio (0,05 M), em pH 7,2], por 24 horas. Posteriormente, foram lavadas três vezes em tampão cacodilato de sódio (0,05 M) e imediatamente pós-fixadas em tetróxido de ósmio (1%), por uma hora, em temperatura ambiente, seguido de lavagens com água destilada. Em seguida, as amostras foram desidratadas em séries crescentes de acetona (30-100%), por 10 minutos cada, sendo a última de 100%, repetidas três vezes de 10 minutos. Após, as amostras foram levadas à câmara de ponto crítico (Leica EM-CPD300) utilizando dióxido de carbono, por uma hora e 30 minutos, para eliminação da água do tecido.

As amostras dos acessos (BGP 393, BGP 215, BGP 308 e F1 #10) foram submetidas ao protocolo de fixação com solução de Karnovsky, exceto para o acesso BGP 393, o qual as amostras foram fixadas em solução FAA (formaldeído, ácido acético e álcool etílico) por uma hora, pois com a metodologia citada anteriormente, os grãos de pólen estouravam. Posteriormente, todas as amostras listadas acima foram secas em liofilizador por, pelo menos, 18 horas.

As anteras foram seccionadas e os grãos de pólen colocados sobre uma fita carbono nos stubs, as amostras então foram recobertas com

ouro [15 nm de ouro, 60 segundos com 40 μA , no aparelho Sputter coater, modelo SCD050 (Leica)]. Na sequência, as amostras foram analisadas no microscópio eletrônico de varredura (MEV) convencional Modelo JSM – 6510 (Jeol).

Para as medidas, os grãos de pólen foram submetidos à acetólise láctica fraca (ACLAC 40), conforme Raynal e Raynal (1979). Foram medidos aleatoriamente o diâmetro polar, equatorial e exina de 25 grãos de pólen, utilizando software da Axio Vision 40 x 64 v. 4.9 1.0, estes foram caracterizados de acordo com a nomenclatura proposta por Punt et al. (2007) e Hesse et al. (2009).

Resultados e discussão

A caracterização morfológica é importante para a sistemática de plantas e pode estar relacionada com o sucesso da fertilidade e da capacidade de cruzamento (Fratini et al., 2006). Essas informações subsidiam ações de manejo de germoplasma e melhoramento genético da espécie, sobretudo para a conservação de pólen para posterior uso em pesquisas, hibridizações e manutenção da variabilidade genética existente (Volk, 2011; Souza et al., 2015).

O tamanho dos grãos de pólen é outra característica biológica importante, além da relação com o nível de ploidia das plantas e volume de citoplasma, bem como as interações entre essas variáveis. Estudos da viabilidade polínica, morfologia do grão de pólen e a compatibilidade na interação pólen-estigma possibilitam informações cruciais sobre os sistemas de reprodução das plantas (Tomaszewska; Kosina, 2022). Dentro do gênero *Paspalum* é comum encontrar uma pequena diversidade quanto ao tamanho e morfologia do grão de pólen. Em estudos recentes, Radaeski e Bauermann (2018) identificaram, pela técnica de acetólise proposta por Erdtman (1952), o diâmetro médio do grão de pólen de cinco espécies de *Paspalum* (*P. nicorae*, *P. notatum*, *P. pauciciliatum*, *P. plicatum* e *P. urvillei*), que variou de 33 a 42 μm . Shaheen et al. (2022) observaram que o diâmetro médio de três espécies de *Paspalum* (*P. dilatatum*, *P. distichum* e *P. scrobiculatum*) variam de 25 a 37,5 μm e a forma variou de prolato a oval. Observou-se no presente trabalho que os grãos de pólen das espécies avaliadas apresentam tamanho médio, com diâmetro variando entre 24,37 e 50,15 μm . Há pouca diferença entre os grãos de pólen estudados, os quais, no geral, apresentam-se mônades, com simetria radial, heteropolares, de âmbito circular e formato prolato-esferoidal (Tabela 1 e Figura 1).

De acordo com Shaheen et al. (2022), os grãos de pólen de Poaceae são geralmente grãos monoporados estenopalinosos com poros anulares e operculados, sendo impossível distinguir as espécies pela ornamentação usando microscópio óptico. No MEV, os recursos do pólen são mais visíveis e fáceis de identificar. Na literatura, os grãos de pólen do gênero *Paspalum* não apresentam ornamentação na exina (Radaeski et al., 2014; Radaeski; Bauermann, 2018), o que foi corroborado por nossos resultados. Nas espécies aqui avaliadas, os grãos de pólen apresentaram-se todos monoporados, com poro circular e exina tectada com parede em forma de báculo (Tabela 1 e Figura 1). A morfologia

da parede é importante para a sobrevivência e manutenção da integridade do grão de pólen, além do aumento de volume devido à hidratação, necessários para evitar a ruptura do mesmo (Matamoro-Vidal et al., 2016). Muitos mecanismos estruturais, fisiológicos e moleculares são utilizados pelos grãos de pólen para se ajustar às mudanças no teor de água e para manter a estabilidade interna (Dinato et al., 2020), principalmente na fase da microsporogênese, onde ocorrem mudanças no volume de pólen e conteúdo de água durante o desenvolvimento do gametófito masculino (Firon et al., 2012).

Tabela 1. Características morfométricas de grãos de pólen de acessos do gênero *Paspalum*.

Espécie	Acesso	Diâmetro polar (DP)	Diâmetro equatorial (DE)	Exina	DP/DE ⁽¹⁾	Forma ⁽²⁾
μm						
<i>Paspalum malacophyllum</i>	BGP 6	29,01 \pm 1,96	24,37 \pm 2,37	1,58 \pm 0,18	1,10	Prolato-esferoidal
<i>P. malacophyllum</i>	BGP 293	39,32 \pm 1,50	37,38 \pm 1,51	1,50 \pm 0,16	1,05	Prolato-esferoidal
<i>Paspalum atratum</i>	BGP 308	49,72 \pm 2,20	45,36 \pm 2,57	1,42 \pm 0,14	1,10	Prolato-esferoidal
<i>Paspalum atratum</i>	BGP 98	50,15 \pm 1,47	45,79 \pm 1,84	1,40 \pm 0,15	1,10	Prolato-esferoidal
<i>Paspalum regnellii</i>	BGP 215	44,48 \pm 1,04	41,27 \pm 1,02	1,50 \pm 0,12	1,08	Prolato-esferoidal
<i>Paspalum urvillei</i>	BGP 393	36,37 \pm 1,65	32,83 \pm 1,24	1,54 \pm 0,10	1,11	Prolato-esferoidal
<i>Paspalum notatum</i>		42,17 \pm 1,06	37,72 \pm 1,24	1,34 \pm 0,10	1,12	Prolato-esferoidal
<i>Paspalum plicatulum</i> 4PT x <i>Paspalum guenoarum</i> cv. Azulão	F1#10	45,65 \pm 1,01	39,79 \pm 1,14	1,59 \pm 0,10	1,15	Subprolato

n = 25 replicatas, \pm desvio padrão.

⁽¹⁾ Proporção entre diâmetro polar e diâmetro equatorial em vista equatorial.

⁽²⁾ De acordo com a nomenclatura proposta por Labouriau (1973).

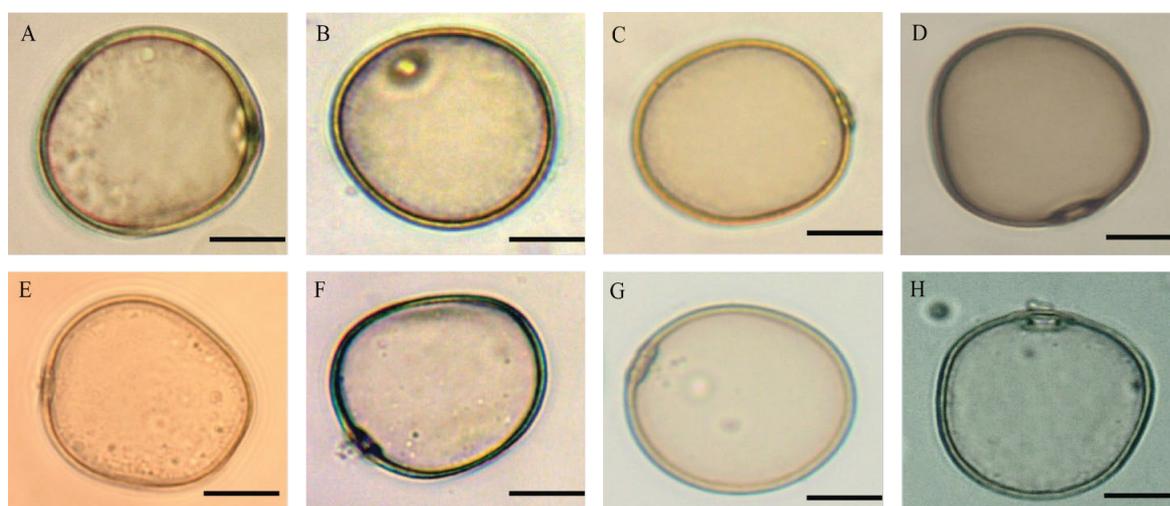


Figura 1. Visão polar e equatorial de grãos de pólen acetolisados de genótipos de *Paspalum*. *Paspalum malacophyllum*: BGP 6 (A) e BGP 293 (B), *Paspalum regnellii* (BGP 215) (C), *Paspalum plicatulum* 4PT (D) x *Paspalum guenoarum* cv. Azulão (E) e *Paspalum atratum* (BGP 98) e BGP 308 (F), *Paspalum urvillei* (BGP 393) (G), *Paspalum notatum* (H). Barras: 20 μm . Imagens obtidas em microscopia de luz por acetólise lática. Crédito: Naiana Dinato.

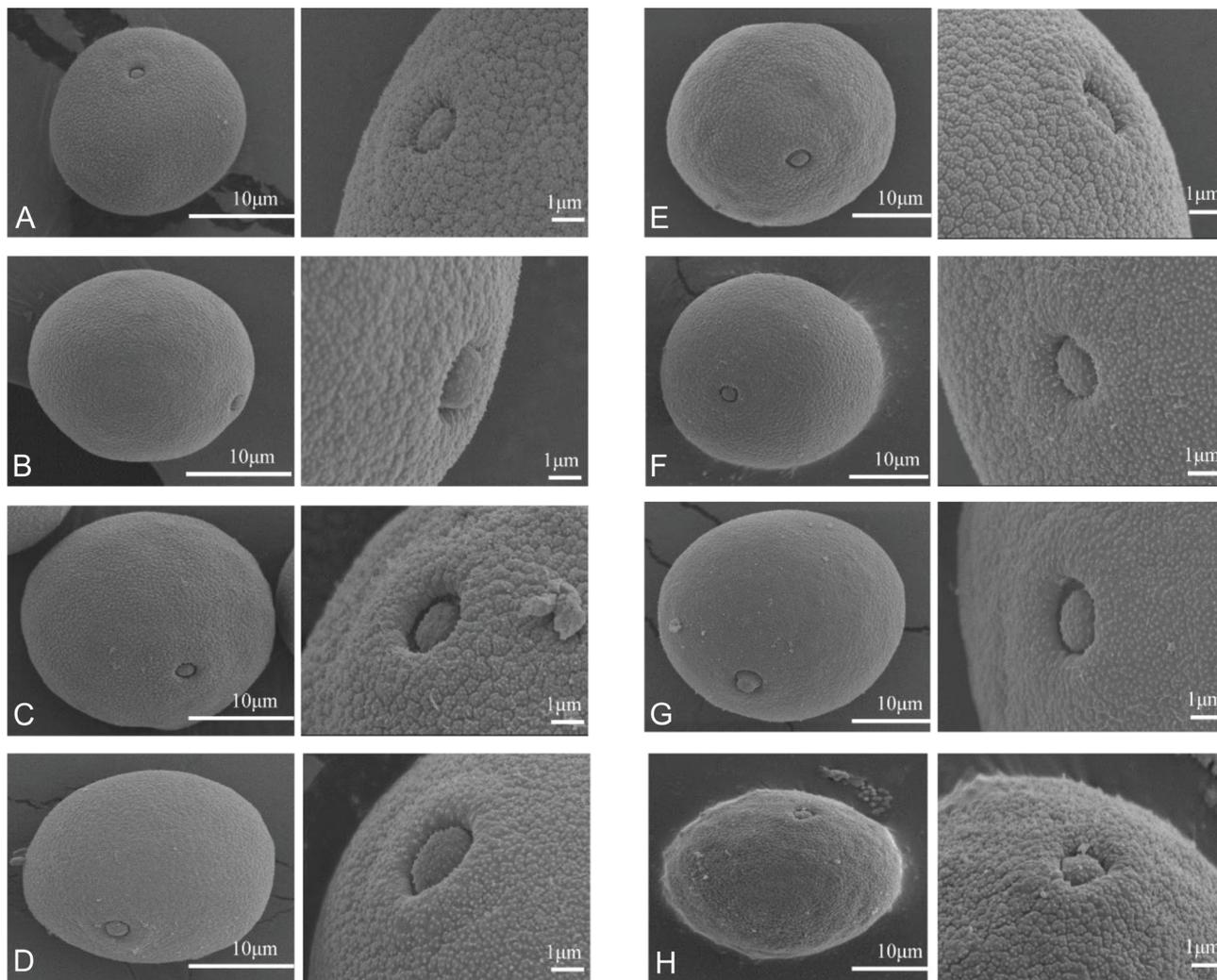


Figura 2. Aspecto geral do grão de pólen monosporado, mostrando opérculo. Exina com espínulos densamente dispostos. *Paspalum malacophyllum* (BGP 6) (A); *Paspalum atratum* (BGP 98) (B); *Paspalum regnellii* (BGP 215) (C); *Paspalum notatum* (D); *Paspalum malacophyllum* (BGP 293) (E); *Paspalum atratum* (BGP 308) (F); *Paspalum plicatulum* 4PT x *Paspalum guenoarum* cv. Azulão (G); *Paspalum urvillei* (BGP 393) (H). Imagens obtidas de microscopia eletrônica de varredura (MEV). Barras indicadas na figura. Fonte: Naiana Dinato.

Nas amostras que foram submetidas à fotomicrografia em MEV (Figura 2), observou-se pouca diferença entre os acessos, exceto para *P. plicatulum* 4PT x *P. guenoarum* cv. Azulão – planta F1#10, que apresentou uma estrutura mais ovalada, o que condiz com a análise de acetólise, onde a razão entre o diâmetro polar e equatorial foi igual a 1,15. De acordo com a nomenclatura proposta por Labouriau (1973), trata-se de um grão de pólen com forma subprolato, com corpo mais arredondado (Figura 2G). Embora tenha sido observada pouca

variação morfológica nas espécies analisadas nesse trabalho, é a primeira vez que é feita a caracterização morfológica de grãos de pólen para *P. malacophyllum*, *P. atratum*, *P. regnellii* e o híbrido *P. plicatulum* 4PT x *P. guenoarum* cv. Azulão. Assim, a pesquisa apresenta caracterizações polínicas inéditas para estas espécies, contribuindo para uma melhor compreensão da diversidade polínica do gênero *Paspalum* e podendo auxiliar na conservação e uso destas espécies.

Conclusão

1) Foi possível identificar pela análise de morfologia polínica que para os acessos de *P. atratum*, *P. malacophyllum*, *P. urvillei*, *P. regnellii* e *P. notatum*, os grãos de pólen têm forma de prolato-esferoidal. Já para o híbrido *P. plicatulum* 4PT x *P. guenoarum* cv. Azulão, os grãos de pólen apresentam a forma subprolato. Os acessos não apresentam ornamentação na exina, porém diferem no tamanho. A caracterização morfométrica mostra que há pouca diferença entre os grãos de pólen das espécies de *Paspalum* estudadas, embora inédita para a maioria das espécies avaliadas, contribuindo para um melhor entendimento da diversidade polínica do gênero *Paspalum*.

Agradecimentos

À Embrapa Instrumentação pelo auxílio na microscopia eletrônica, em especial à Sra. Joana Dias Bresolin e à equipe do Laboratório de Microscopia Eletrônica.

Referências

- ACUÑA, C. A.; BLOUNT, A. R.; QUESENBERRY, K. H.; KENWORTHY, K. E.; HANNA, W. W. Bahiagrass tetraploid germplasm: reproductive and agronomic characterization of segregating progeny. **Crop Science**, v. 49, n. 2, p. 581-588, 2009. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2008.07.0402>.
- ALISCIONI, S. S.; DENHAM, S. S. Rachis of the genus *Paspalum* L. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae): anatomy and taxonomic significance of the primary branches of the inflorescences. **Flora**, v. 203, n. 1, p. 60-76, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.flora.2007.01.001>
- BARRETO, I. L. **O Gênero *Paspalum* (Gramineae) no Rio Grande do Sul**. 1974. 258 f. Tese (Livro Docência – Fitotecnia) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- BATISTA, L. A. R.; GODOY, R. Caracterização preliminar e seleção de Germoplasma do Gênero *Paspalum* para produção de forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 29, n. 1, p. 23-32, 2000. DOI: 10.1590/S1516-35982000000100004.
- BONASORA, M. G.; POZZOBON, M. T.; HONFI, A. I.; RUA, G. H. *Paspalum schesslii* (Poaceae, Paspaleae), a new species from Mato Grosso (Brazil) with an unusual base chromosome number. **Plant Systematics and Evolution**, v. 301, p. 2325-2339, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00606-015-1231-0>.
- BURSON, B. L. Apomixis and sexuality in some *Paspalum* species. **Crop Science**, v. 37, n. 4, p. 1347-1351, 1997. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci1997.0011183X003700040052x>.
- CHASE, A. **The North American species of *Paspalum***. Washington, DC: U.S. Govt., 1929.
- CONNOR, K. F.; TOWILL, L. E. Pollen-handling protocol and hydration/dehydration characteristics of pollen for application to long-term storage. **Euphytica**, v. 68, p. 77-84, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00024157>.
- CORRÊA, A. M. da S.; GUIMARÃES, M. I. T. de M.; CRUZ-BARROS, M. A. V. da; BEGALE, F. F. Flora polínica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil) Família 176 – Poaceae (Gramineae). **Hoehnea**, v. 32, n. 2, p. 269-282, 2005.
- DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T. N. S.; PEREIRA, M. G.; SILVA, F. F. da. Conservação de pólen de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Ceres**, v. 55, n. 5, p. 433-438, 2008.
- DINATO, N. B.; SANTOS, I. R. I.; VIGNA, B. B. Z.; PAULA, A. F. de; FAVERO, A. P. Pollen cryopreservation for plant breeding and genetic resources conservation. **Cryoletters**, v. 41, n. 3, p. 115-127, 2020.
- ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy**: angiosperms. Sweden: Almqvist e Wiksell Stockholm, 1952.
- ESSI, L.; SOUZA-CHIES, T. T. de. Phylogeny of Linearia and Notata groups of *Paspalum* L. (Poaceae, Panicoideae, Paniceae) and related species. **Genetic Resources and Crop Evolution**, v. 54, n. 4, p. 779-791, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-006-9148-7>.
- FACHINETTO, J. M.; DALL'AGNOL, M.; SOUZA, C. H. L. de.; WEILER, R. L.; SIMIONI, C. Genetic diversity of a *Paspalum notatum* Flüge germplasm collection. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v. 46, n. 9, p. 714-721, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1806-92902017000900002>.
- FIRON, N.; NEPI, M.; PACINI, E. Water status and associated processes mark critical stages in pollen development and functioning. **Annals of Botany**, v. 109, n. 7, p. 1201-1214, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1093/aob/mcs070>.
- FRANÇA, L. V. **Secagem e conservação de grãos de pólen de berinjela**. 2008. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Faculdade de Ciências Agrárias, Universidade de Brasília, Brasília, DF.
- FRATINI, R.; GARCÍA, P.; RUIZ, M. L. Pollen and pistil morphology, in vitro pollen grain germination and crossing success of Lens cultivars and species. **Plant Breeding**, v. 125, n. 5, p. 501-505, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01277.x>.

- HESSE, M.; HALBRITTER, H.; ZETTER, R.; WEBER, M.; BUCHNER, R.; FROSCH-RADIVO, A.; ULRICH, S. **Pollen terminology**: an illustrated handbook. New York: Springer, 2009.
- KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde–glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 137-138, 1965.
- LABORIAU, M. L. S. **Contribuição à palinologia dos Cerrados**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, 1973.
- MATAMORO-VIDAL, A.; RAQUIN, C.; BRISSET, F.; COLAS, H.; IZAC, B.; ALBERT, B.; GOUYON, P. H. Links between morphology and function of the pollen wall: an experimental approach. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 180, n. 4, p. 478-490, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1111/boj.12378>.
- MATTA, F. de P.; FAVERO, A. P.; VIGNA, B. B. Z.; POZZOBON, M. T.; MEDEIROS, S. R. de; BARIONI JUNIOR, W.; CAVALLARI, M. M. Agronomic, nutritive value, reproductive, cytogenetic, and molecular aspects of *Paspalum* accessions: contribution to the development of new forage cultivars. **Grass and Forage Science**, v. 78, p. 101-118, 2023.
- NADEEM, M.; AKOND, M.; RIAZ, A.; QASIM, A.; YOUNIS, A.; FAROOQ, A. Pollen morphology and viability relates to seed production in hybrid roses. **Plant Breeding and Seed Science**, v. 68, p. 25-38, 2013. DOI: [10.2478/v10129-011-0078-y](https://doi.org/10.2478/v10129-011-0078-y).
- NOVO, P. E.; ACUÑA, C. A.; QUARÍN, C. L.; URBANI, M. H.; MARCÓN, F.; ESPINOZA, F. Hybridization and heterosis in the Plicatula group of *Paspalum*. **Euphytica**, v. 213, article 198, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-017-1983-4>.
- PEREIRA, E. A.; DALL'AGNOL, M.; SIMIONI, C.; MACHADO, J. M.; BITENCOURT, M. G. S. de; GUERRA, D.; ARENHARDT, E. G.; SILVA, J. A. G. da. Agronomic performance and interspecific hybrids selection of the genus *Paspalum*. **Científica**, v. 43, n. 4, p. 388-395, 2015. DOI: <https://doi.org/10.15361/1984-5529.2015v43n4p388-395>.
- PIPINO, L.; VAN LABEKE, M. C.; MANSUINO, A.; SCARIOT, V.; GIOVANNINI, A.; LEUS, L. Pollen morphology as fertility predictor in hybrid tea roses. **Euphytica**, v. 178, n. 2, p. 203-214, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-010-0298-5>.
- PRESTES, P. J. Q.; FREIRAS, E. A. G.; BARRETO, I. L. Hábito vegetativo e variação estacional do valor nutritivo das principais gramíneas da pastagem nativa do Rio Grande do Sul. **Anuário Técnico do Instituto de Pesquisas Zootécnicas “Francisco Osório”**, v. 3, n. 2, p. 516-531, 1976.
- PUNT, W.; HOEN, P. P.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. A glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 143, n. 1-2, p. 1-81, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.revpalbo.2006.06.008>.
- RADAESKI, J. N.; BAUERMANN, S. G. Poaceae pollen grains from southern Brazilian grasslands: Pollen grain size in species from dry and humid environments. **Neotropical Biology and Conservation**, v. 13, n. 2, p. 111-123, 2018. DOI: <https://doi.org/10.4013/nbc.2018.132.03>.
- RADAESKI, J. N.; EVALDT, A. C. P.; BAUERMANN, S. G.; LIMA, G. L. de. Diversidade de grãos de pólen e esporos dos campos do sul do Brasil: descrições morfológicas e implicações paleoecológicas. **Iheringia, Série Botânica**, v. 69, n. 1, p. 107-132, 2014.
- RAYNAL, A.; RAYNAL, J. Une technique de préparation des grains de pollen fragiles. **Adansonia**, v. 2, n. 11, p. 77-79, 1979.
- SARTOR, M. E.; QUARÍN, C. L.; ESPINOZA, F. Mode of reproduction of colchicine-induced *Paspalum plicatum* tetraploids. **Crop Science**, v. 49, n. 4, p. 1270-1276, 2009.
- SHAHEEN, S.; KHAN, M. A.; SHAHID, M. N.; SHAMIM, Z.; RASOOL, B.; HUSSAIN, K.; KHALID, S.; HARUN, N.; SIDDIQUE, R.; SONIA, R.; KHAN, F. Morphological and palynological assessment of taxonomically problematic genus *Paspalum* based on light and scanning electron microscopy. **Microscopy Research and Technique**, v. 85, n. 2, p. 623-629, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1002/jemt.23936>.
- SOUZA, E. H. de; SOUZA, F. V. D.; ROSSI, M. L.; BRANCALLEAO, N.; SILVA LEDO, C. A. da; MARTINELLI, A. P. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic forest. **Euphytica**, v. 204, n. 1, p. 13-28, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10681-014-1273-3>.
- TOMASZEWSKA, P.; KOSINA, R. Variability in the quality of pollen grains in oat amphiploids and their parental species. **Brazilian Journal of Botany**, v. 45, p. 987-1000, Aug. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40415-022-00822-3>.
- VALLS, J. F.M.; MACIEL, J. R.; SOUSA, M. W. D. S.; OLIVEIRA, R. C.; PIMENTA, K. M.; RUA, G. H. **Paspalum in Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2023. Disponível em: <https://florado-brasil.jbrj.gov.br/FB13432>. Acesso em: 8 fev. 2023.

VALLS, J. F. M.; POZZOBON, M. T. Variação apresentada pelos principais grupos taxonômicos de *Paspalum* com interesse forrageiro no Brasil. In: ENCONTRO INTERNACIONAL SOBREMELHORAMENTO GENETICO DE PASPALUM, 1987, Nova Odessa. **Anais...** Nova Odessa: Instituto de Zootecnia, 1987. p. 15-21.

VOLK, G. M. Collecting pollen for genetic resources conservation. In: GUARINO, L.; RAMANATHA RAO, V.; GOLDBERG, E. (ed.). **Collecting plant genetic diversity: technical guidelines**. Rome: Bioversity International, 2011. p. 1-10.