

**Caracterização  
Citogenética de Acessos de  
*Brachiaria brizantha*  
(Gramineae)**



***República Federativa do Brasil***

*Fernando Henrique Cardoso*

Presidente

***Ministério da Agricultura, Pecuária e  
Abastecimento***

*Marcus Vinicius Pratini de Moraes*

Ministro

***Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária  
Conselho de Administração***

*Márcio Fortes de Almeida*

Presidente

*Alberto Duque Portugal*

Vice-Presidente

*Dietrich Gerhard Quast*

*José Honório Accarini*

*Sérgio Fausto*

*Urbano Campos Ribeiral*

Membros

***Diretoria-Executiva da Embrapa***

*Alberto Duque Portugal*

Diretor-Presidente

*Dante Daniel Giacomelli Scolari*

*Bonifácio Hideyuki Nakasu*

*José Roberto Rodrigues Peres*

Diretores

***Embrapa Gado de Corte***

*Antonio Batista Sancevero*

Chefe-Geral

# ***Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento***

## **Caracterização Citogenética de Acessos de *Brachiaria brizantha* (Gramineae)**

Andréa Beatriz Mendes-Bonato  
Cacilda Borges do Valle  
Maria Suely Pagliarini  
Maria Isabel de Oliveira Penteado

Exemplares desta publicação podem ser adquiridos na:

**Embrapa Gado de Corte**

Rodovia BR 262, km 4, CEP 79002-970 Campo Grande, MS

Caixa Postal 154

Fone: (67) 368 2064

Fax: (67) 368 2180

<http://www.cnpgc.embrapa.br>

E-mail: [sac@cnpgc.embrapa.br](mailto:sac@cnpgc.embrapa.br)

**Comitê de Publicações da Unidade**

Presidente: *Cacilda Borges do Valle*

Secretário-Executivo: *Liana Jank*

Membros: *Antonio do Nascimento Rosa, Arnildo Pott, Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima, Ezequiel Rodrigues do Valle, José Raul Valério, Maria Antonia Martins de Ulhôa Cintra, Rosângela Maria Simeão Resende, Tênisson Waldow de Souza*

Supervisor editorial: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima*

Revisor de texto: *Sylvia Odinei Cesco*

Normalização bibliográfica: *Maria Antonia M. de Ulhôa Cintra*

Capa: *Paulo Roberto Duarte Paes*

Foto de capa: *Arquivo Embrapa Gado de Corte*

Editoração eletrônica: *Ecila Carolina Nunes Zampieri Lima*

**1ª edição**

1ª impressão (2002): 500 exemplares

**Todos os direitos reservados.**

A reprodução não-autorizada desta publicação, no todo ou em parte, constitui violação dos direitos autorais (Lei nº 9.610).

CIP-Brasil. Catalogação-na-publicação.

Embrapa Gado de Corte.

---

Caracterização citogenética de acessos de *Brachiaria brizantha* (Gramineae) / Andréa Beatriz Mendes-Bonato ... [et al.]. – Campo Grande : Embrapa Gado de Corte, 2002.

31 p. ; 21 cm. – (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento / Embrapa Gado de Corte, ISSN 1679-0790 ; 15).

ISBN 85-297-0146-1

1. *Brachiaria brizantha*. 2. Citogenética vegetal. I. Mendes-Bonato, Andréa Beatriz. II. Valle, Cacilda Borges do. III. Pagliarini, Maria Suely. IV. Penteado, Maria Isabel de Oliveira. V. Embrapa Gado de Corte (Campo Grande, MS). VI. Título. VII. Série.

CDD 572.8 (21. ed.)

---

© Embrapa 2002

# Sumário

<b>Resumo</b> .....	<b>5</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>7</b>
<b>Introdução</b> .....	<b>8</b>
<b>Material e Métodos</b> .....	<b>10</b>
<b>Resultados e Discussão</b> .....	<b>10</b>
Número de cromossomos .....	10
Comportamento meiótico .....	11
Comportamento de micronúcleos .....	20
Outras anormalidades .....	22
Aderência cromossômica .....	22
Fusão celular .....	24
Formação de díades e tríades .....	25
<b>Conclusões</b> .....	<b>28</b>
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>28</b>



# Caracterização Citogenética de Acessos de *Brachiaria brizantha* (Gramineae)

---

*Andréa Beatriz Mendes-Bonato*<sup>1</sup>

*Cacilda Borges do Valle*<sup>2</sup>

*Maria Suely Pagliarini*<sup>3</sup>

*Maria Isabel de Oliveira Penteado*<sup>4</sup>

## Resumo

No gênero *Brachiaria*, muitas espécies e acessos são poliplóides e apomíticos, o que dificulta o melhoramento via hibridização. Uma ampla caracterização citogenética, incluindo determinação do número de cromossomos e avaliação detalhada do comportamento meiótico, vem sendo realizada na coleção de germoplasma deste gênero a fim de auxiliar na seleção de genitores e explicar problemas na fecundidade dos acessos e híbridos do programa de melhoramento desenvolvido pela Embrapa Gado de Corte. Neste estudo, 22 acessos de *Brachiaria brizantha* foram analisados. Destes, um é diplóide ( $2n = 2x = 18$ ), 18 são tetraplóides ( $2n = 4x = 36$ ) e três, hexaplóides ( $2n = 6x = 54$ ). Anormalidades meióticas variaram de 2,85% a 5,55% nas células em divisão no acesso diplóide e de 1,03% a 69,48% nos acessos tetraplóides, com alta concentração de anormalidades na anáfase I, enquanto nos hexaplóides, todos os três acessos avaliados tiveram elevado número de células (até 43%) com anormalidades meióticas em todas as fases de divisão. Nestes, houve predominância de anormalidades relacionadas à poliploidia, como formação de

---

<sup>1</sup> Enga.-Agra., M.Sc., Doutoranda em Ciências Biológicas (Área de concentração: Biologia Celular), Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá, CEP 87020-900 Maringá, PR.

<sup>2</sup> Enga.-Agra., Ph.D., CREA Nº 35.409/D-Visto 1542/MS, Embrapa Gado de Corte, Rodovia BR 262 Km 4, Caixa Postal 154, CEP 79002-970 Campo Grande, MS. Correio eletrônico: cacilda@cnpqc.embrapa.br

<sup>3</sup> Biól., D.Sc., Departamento de Biologia Celular e Genética, Universidade Estadual de Maringá.

<sup>4</sup> Enga.-Agra., Ph.D., CREA Nº 87.061/D-MS, Embrapa Propriedade Intelectual, Parque Estação Biológica, CEP 70070-901 Brasília, DF.

multivalentes na diacinese, ascensão precoce de cromossomos para os pólos, cromossomos retardatários, e separação irregular levando à formação de micrócitos e micronúcleos nas tétrades, com frequência variando de 6,98% a 44,24%. Alguns acessos como B 251 e B 214 apresentam outras anormalidades meióticas como aderências, fusões celulares, formação de poliades com micronúcleos, que também comprometem a viabilidade gamética. Considerando-se que, dentre os 22 acessos analisados de *B. brizantha*, somente um é diplóide e sexual, enquanto os demais apresentam diferentes níveis de anormalidades meióticas e são apomíticos, a seleção de genitores femininos é bastante limitada. Desta forma, estudos citogenéticos extensivos necessitam ser feitos na coleção e posteriormente nos híbridos de *Brachiaria* para que acessos com potencial para uso no melhoramento possam ser identificados.

Termos para indexação: apomixia, comportamento meiótico, número de cromossomos, poliploidia.

# Cytogenetical Characterization of *Brachiaria brizantha* (Gramineae) Accessions

## Abstract

*In the genus Brachiaria, many species and accessions are polyploid and apomictic, which complicates breeding through hybridization. Cytogenetic characterization, including chromosome counting and detailed evaluation of the meiotic behavior of accessions in the Brachiaria germplasm collection is underway, to assist in the selection of progenitors ant to help explain fertility problems in the accessions and hybrids produced by the breeding program at the Embrapa Beef Cattle Center. In this study, 22 accessions of B. brizantha were analyzed of which one was found to be diploid ( $2n = 2x = 18$ ), 18 are tetraploid ( $2n = 4x = 36$ ) and three are hexaploid ( $2n = 6x = 54$ ). Meiotic abnormalities varied from 2.85% to 5.55% in dividing cells of the diploid accession and from 1.03% to 69.48% in the tetraploids with a high frequency occurring in anaphase I, whereas in the hexaploids, all three accessions display up to 43% of cells with abnormalities in all phases of meiosis. Meiotic abnormalities detected were those common to polyploidy, i. e., laggards and multivalent chromosome association at diakinesis, early migration to poles, and irregular chromosome segregation leading to micronuclei or microcytes formation in the tetrad stage, with frequencies varying from 6.98% to 44.24%. Some accessions such as B 251 and B 214 display other meiotic abnormalities such as stickiness, cell fusion, formation of polyads with micronuclei, which can also impair gametic viability. Considering that among the 22 B. brizantha accessions analyzed only one is diploid and sexual with regular meiosis and that the polyploids exhibit various levels of meiotic abnormalities and reproduce by*

*apomixis, the selection of female genitors for hybridization is indeed limited. Thus, additional extensive cytogenetic screening needs to be done in the Brachiaria collection and afterwards, in the hybrids so that the accessions with breeding potential can be identified.*

***Index terms:*** *apomixis, chromosome number, meiotic behavior, polyploidy.*

## Introdução

O potencial forrageiro de gramíneas de origem africana, do gênero *Brachiaria*, tem sido reconhecido há cerca de cinco décadas tanto em regiões tropicais como subtropicais de ambos os hemisférios (Renvoize et al., 1996). Por apresentarem boa qualidade forrageira e adaptarem-se a solos pobres e ácidos, algumas poucas espécies deste gênero foram introduzidas no Brasil, nas décadas de 50 e 60. A utilização de algumas variedades, como *B. decumbens* cv. Basilisk e *B. brizantha* cv. Marandu, em escala comercial, viabilizou a atual pecuária no Brasil Central, permitindo aumentar consideravelmente a produção animal (Valle, 1990). A notoriedade que este gênero alcançou deve-se ao bom desempenho animal em pastagens de braquiárias e à sua plasticidade genética, que lhes permite adaptar-se a variadas condições de clima e solo, numa ampla faixa de latitudes. Estimativas do início da década de 90 indicavam uma área de 70 milhões de hectares na América Tropical (Fischer & Kerridge, 1996), ocupada por estas pastagens. Um levantamento mais recente mostra uma expansão dessas duas braquiárias que ocupam atualmente 85% da área de pastagens cultivadas no Brasil tropical (cerca de 100 milhões de hectares – Censo Agropecuário, 1998).

O gênero *Brachiaria* compreende cerca de 100 espécies (Renvoize et al., 1996). Dentre elas, destacam-se *B. brizantha*, *B. ruzizensis*, *B. decumbens*, e *B. humidicola*, as duas últimas de grande relevância para solos ácidos e pobres (Valle, 1990). Apesar da importância econômica de algumas espécies deste gênero, pouco se conhece sobre a biologia destas gramíneas. Segundo Basappa et al. (1987), apenas 35% das espécies de *Brachiaria* spp. eram conhecidas sob o ponto de vista citogenético, sendo que para a maioria delas, o conhecimento se restringia a contagens cromossômicas. Alguns estudos envolvendo contagens cromossômicas (Bernini, 1997) e determinação do nível de ploidia por citometria de fluxo (Penteado et al., 1996; 2000) foram, posteriormente, desenvolvidos.

Tais estudos revelaram que grande parte dos representantes do gênero são poliplóides, principalmente tetraplóides. A poliploidia no gênero *Brachiaria* tem graves conseqüências para a fertilidade e fecundidade e, por isso, está geralmente associada com a apomixia (Valle & Savidan, 1996), uma forma de reprodução assexuada em que o embrião se desenvolve diretamente de uma célula somática, impondo uma barreira à hibridação, mas assegurando a perpetuação do genótipo via semente clonal.

Considerando-se que poucas espécies do gênero *Brachiaria* reúnem qualidades para serem usadas na formação de pastagens, a produção de híbridos intra e interespecíficos, com novas combinações genéticas favoráveis, ganha extrema importância. Estas novas combinações podem ser obtidas através de cruzamentos entre genitores selecionados a partir da grande diversidade genética existente na coleção de germoplasma deste gênero. Todavia, para que a hibridação seja realizada com sucesso, são necessários conhecimentos prévios de características biológicas básicas como número e comportamento cromossômico, nível de ploidia e modo de reprodução dentro e entre espécies compatíveis. A coleção de germoplasma da Embrapa Gado de Corte conta com aproximadamente 460 acessos de 15 espécies diferentes, oriundos de coletas feitas na África pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical – CIAT, na Colômbia. Dentre este contingente, a espécie melhor representada é *B. brizantha*, com 234 acessos. A primeira, apesar de sua excelente qualidade nutricional como forrageira e resistência à cigarrinha-das-pastagens, principal inseto-praga nos trópicos, não se adapta a solos pobres e a segunda, mais adaptada a esses solos, não possui resistência ao inseto (Keller-Grein et al., 1996). Para solucionar estes problemas e mais aqueles relacionados à vulnerabilidade genética pelo extenso cultivo destas duas cultivares apomíticas, a Embrapa Gado de Corte busca novas cultivares através de hibridações. Com a finalidade de subsidiar tal programa, foi iniciado um extenso estudo que visa caracterizar citologicamente a coleção de *Brachiaria*, numa ação cooperativa entre a Universidade Estadual de Maringá e a Embrapa Gado de Corte. O trabalho teve início com acessos de *Brachiaria brizantha*, espécie de reconhecida importância para as pastagens nacionais, e tem os objetivos de estudar o comportamento meiótico, determinar o número de cromossomos, e caracterizar possíveis mutantes que afetem a viabilidade gamética e, conseqüentemente, o potencial de formação de híbridos e de sementes viáveis.

## Material e Métodos

Foram analisados 22 acessos de *Brachiaria brizantha*, da coleção de germoplasma da Embrapa Gado de Corte.

O material para análise meiótica foi colhido no ano agrícola de 1999, na área de conservação de germoplasma da Embrapa Gado de Corte, situada no município de Campo Grande (clima do tipo Aw: savana tropical úmida (precipitação média anual = 1.526mm; temperatura média = 22°C); altitude = 520 m; latitude = 20°28'S; longitude = 55°40'W; solo Latossolo Vermelho Escuro, álico (59% areia; 8% silte; 33% argila; pH = 4,2; 2,7% matéria orgânica; P = 1 ppm; 0,05, 0,1, 0,9 e 6,9 Meq/100cc de K, Ca + Mg, Al e CEC, respectivamente). Os acessos analisados encontram-se identificados por códigos na Tabela 1. Inflorescências jovens, ainda envolvidas pela folha bandeira, foram colhidas e fixadas em Carnoy (3 partes de álcool etílico: 1 parte de ácido acético) por 24 horas. Após este período, o material foi transferido para álcool 70% e, em seguida, acondicionado sob refrigeração, até o momento de se iniciarem as análises meióticas. Os microsporócitos foram preparados pela técnica de esmagamento e corados com carmim propiônico a 0,5%.

Para determinação do número de cromossomos foram analisadas, no mínimo, 20 células por acesso, nas fases de diacinese ou metáfase I. Durante a contagem dos cromossomos, estes foram cuidadosamente desenhados, levando-se em consideração a presença de cromossomos univalentes, bivalentes e associações cromossômicas multivalentes. Para o estudo do comportamento meiótico, foram analisadas, aproximadamente, 2.000 células por acesso, representando as diferentes fases da divisão. Todas as anormalidades meióticas foram consideradas e as mais representativas foram microfotografadas em filme preto e branco Kodak Imagelink – HQ ASA 25 e ampliadas em papel fotográfico Kodabrome RC F3.

## Resultados e Discussão

### Número de cromossomos

Entre os 22 acessos de *B. brizantha* analisados, 18 mostraram-se tetraplóides ( $2n = 4x = 36$ ); três, hexaplóides ( $2n = 6x = 54$ ) e um, diplóide ( $2n = 2x = 18$ ) (Tabela 1). Variações cromossômicas numéricas podem ser decorrentes de poliploidia ou da presença de mais de um número básico de cromossomos

para o gênero. No gênero *Brachiaria*, têm sido citados  $x = 7$  e  $x = 9$ , como números básicos de cromossomos para a maioria das espécies (Bernini, 1997). Neste gênero, tem-se verificado também uma elevada frequência de formas poliplóides. Uma lista compilada por Valle & Savidan (1996) mostra uma predominância de níveis tetraplóides enquanto a ocorrência de formas diplóides não é muito comum. Dentre os 22 acessos analisados, foi encontrado apenas um diplóide ( $2n = 18$ ), enquanto a grande maioria dos acessos apresentou  $2n = 36$  cromossomos, sendo, portanto, tetraplóides. Acessos diplóides de *B. brizantha* foram citados por Valle & Glienke (1991) e Valle & Miles (1994). No entanto, a maioria dos trabalhos refere-se a acessos tetraplóides (Sotomayor-Ríos et al., 1960; Bernini, 1997). Basappa et al. (1987) referem-se aos números cromossômicos  $2n = 36$  e  $2n = 54$  como comuns para o gênero *Brachiaria*. Acessos pentaplóides ( $2n = 45$ ) e hexaplóides ( $2n = 54$ ) também foram relatados em *B. brizantha* (Letteriello et al., 1999; Penteado et al., 2000). Nos acessos analisados (Tabela 1), as constituições cromossômicas  $2n = 2x = 18$ ,  $2n = 4x = 36$  e  $2n = 6x = 54$  observadas são derivadas do número cromossômico básico  $x = 9$ .

## Comportamento meiótico

Muitas espécies de *Brachiaria* são poliplóides e, entre os diferentes níveis de ploidia, são encontrados especialmente tetraplóides (Valle & Savidan, 1996). Os resultados aqui obtidos reforçam esta afirmativa. As análises realizadas revelaram que o acesso diplóide B 105 apresentou baixa porcentagem de células anormais na primeira divisão (Tabela 1), com os cromossomos pareando-se em nove bivalentes (Fig. 1a) durante a diacinese (Tabela 2), enquanto a segunda divisão foi totalmente regular. A Fig. 1 ilustra as anormalidades encontradas neste acesso. Foram observados cromossomos em ascensões precoces na metáfase I (Fig. 1b), cromossomos retardatários na anáfase I (Fig. 1c) e micronúcleos em telófase I (Fig. 1d). Acessos diplóides de *B. brizantha* com meiose regular são relatados por Valle (1990), Valle & Glienke (1991) e Valle & Savidan (1996). Espécies e acessos diplóides geralmente são sexuais. No presente estudo, não se determinou o modo de reprodução dos acessos, mas a B 105 já foi detalhadamente examinada e é comprovadamente sexual (Valle, 1990; Valle & Glienke, 1991; Pinheiro et al., 2000); a baixa frequência de anormalidades, encontrada apenas na meiose I do acesso diplóide B 105, não foi suficiente para comprometer o produto final da meiose. Na segunda divisão, nenhuma anormalidade foi encontrada entre as células analisadas.

**Tabela 1.** Códigos dos acessos de *Brachiaria brizantha*, número cromossômico, número de células-mãe de pólen analisadas (CMP) e porcentagem de anormalidades meióticas nas diferentes fases da meiose.

Código do acesso <sup>1</sup>	Ploidia/Nº cromossomos	Nº CMPs <sup>2</sup>	Porcentagem de anormalidades nas fases <sup>3</sup>							
			Met I	Ana I	Tel I	Pro II	Met II	Ana II	Tel II	Tetr
B 105	2n=18	2126	3,85	5,55	2,85	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
B 030	4n=36	2074	26,03	34,07	22,33	21,84	21,58	34,63	34,51	30,22
B 131	4n=36	2130	23,86	48,32	32,73	30,46	19,32	54,05	37,82	44,24
B 158	4n=36	2228	26,76	36,80	28,15	21,92	24,18	36,18	28,62	40,77
B 214	4n=36	2487	42,03	69,48	48,02	25,73	32,33	47,77	59,15	35,52
B 217	4n=36	2290	27,83	38,46	29,81	15,90	26,78	36,12	31,53	33,33
B 226	4n=36	1918	5,84	20,33	4,19	1,43	4,94	12,50	5,16	7,76
B 230	4n=36	1985	19,75	36,36	8,86	5,41	14,96	27,39	16,11	11,53
B 232	4n=36	1939	17,26	23,08	10,51	1,03	14,18	23,01	3,23	6,98
B 234	4n=36	2479	26,89	58,10	2,57	19,20	31,60	37,02	11,29	15,38
B 236	4n=36	1873	16,28	34,80	10,22	11,67	16,26	37,86	16,86	25,81

Continua...

Tabela 1. Continuação

Código do acesso <sup>1</sup>	Ploidia/Nº cromossomos	Nº CMPs <sup>2</sup>	Porcentagem de anormalidades nas fases <sup>3</sup>							
			Met I	Ana I	Tel I	Pro II	Met II	Ana II	Tel II	Tetr
B 237	4n=36	2253	6,79	30,07	10,17	5,94	30,30	16,94	9,92	10,45
B 256	4n=36	1860	24,90	7,72	10,93	1,80	17,58	14,16	2,81	9,24
B 259	4n=36	2078	18,97	34,80	17,29	10,93	21,94	32,72	20,57	28,75
B 262	4n=36	2342	27,01	41,86	30,75	25,16	23,74	43,78	30,63	37,05
B 264	4n=36	2138	31,67	38,57	24,91	15,60	25,76	40,61	28,28	30,45
B 290	4n=36	2693	49,51	56,96	31,96	25,29	27,69	54,21	30,45	26,55
B 291	4n=36	2074	27,55	43,08	25,81	20,53	25,49	38,28	31,18	32,19
B 295	4n=36	2780	10,03	28,03	1,93	1,57	13,04	14,00	1,06	11,89
B 221	6n=54	1992	18,04	25,55	19,13	15,61	18,52	25,38	16,06	12,86
B 250	6n=54	2030	15,54	42,67	23,34	15,91	22,60	14,79	16,06	12,86
B 251	6n=54	2211	12,80	14,28	7,04	13,65	27,18	31,52	34,66	30,93

<sup>1</sup> Códigos de campo da Embrapa Gado de Corte<sup>2</sup> Número de células-mãe de pólen analisadas<sup>3</sup> Met = metáfase; Ana = anáfase; Tel = telófase; Pro = prófase; Tetr = tétrades

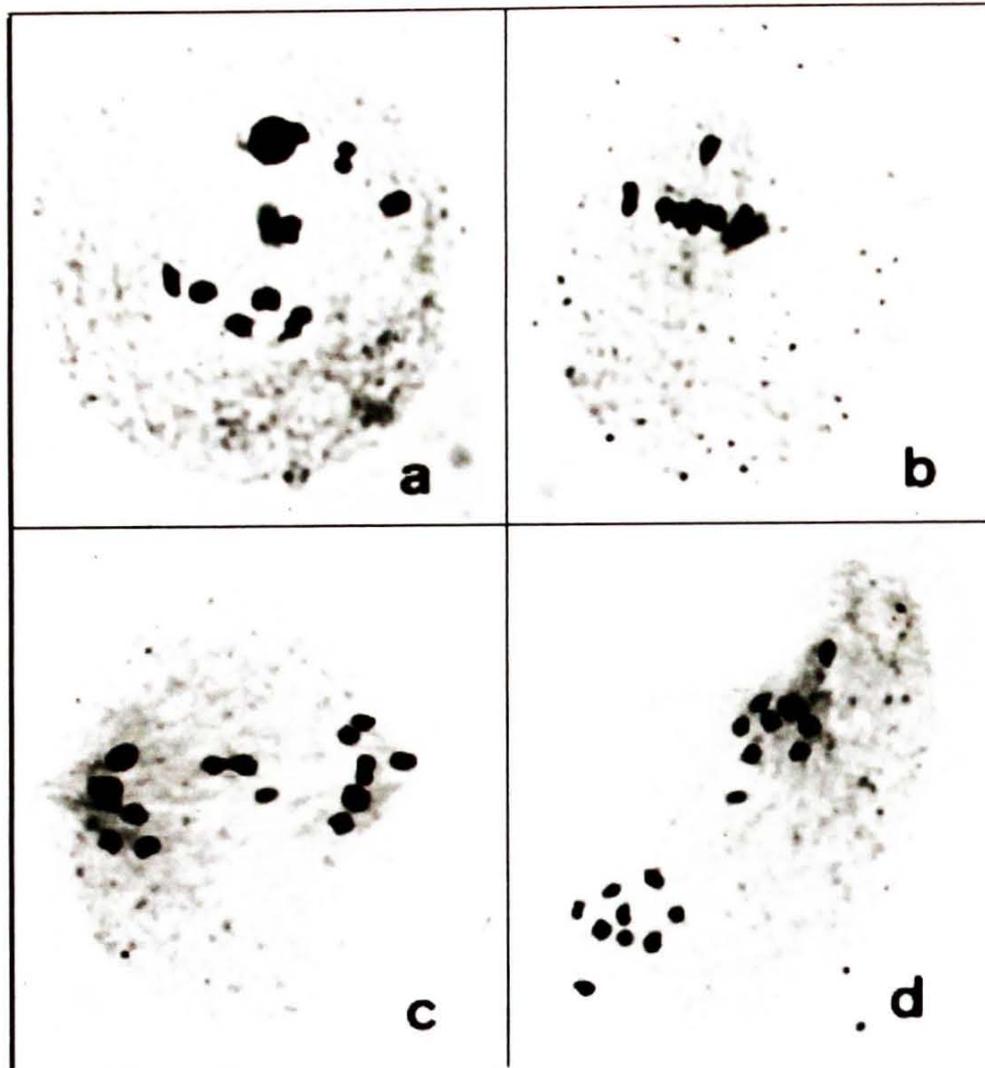
**Tabela 2.** Códigos dos acessos de *Brachiaria brizantha*, número cromossômico, número de células-mãe de pólen analisadas (CMP), variação das associações cromossômicas e média das associações por célula, no acesso diplóide e nos poliplóides.

Código do acesso	Ploidia/Nº cromossomos	Nº CMP	Associações cromossômicas														
			Variação						Média por célula								
			I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI			
B 105	2n=18	20	(0-0)	9								0,00	9,00				
B 030	4n=36	20	(0-3)	(10-14)	(0-1)	(1-4)						0,35	12,35	0,05	2,70		
B 131	4n=36	20	(0-0)	(14-18)	(0-1)	(0-2)						0,00	15,00	0,00	1,50		
B 158	4n=36	20	(0-2)	(10-18)	(0-1)	(0-4)						0,20	14,40	0,00	1,75		
B 214	4n=36	20	(0-0)	(12-18)	(0-0)	(0-3)						0,00	15,75	0,00	1,35		
B 217	4n=36	20	(0-2)	(10-16)	(0-1)	(1-4)						0,15	12,65	0,15	2,55		
B 226	4n=36	20	(0-0)	(12-18)	(0-0)	(0-3)						0,00	15,20	0,00	1,40		
B 230	4n=36	20	(0-4)	(10-16)	(0-1)	(1-4)						0,50	13,35	0,15	2,05		
B 232	4n=36	20	(0-3)	(12-18)	(0-2)	(0-2)						0,50	15,55	0,30	0,85		
B 234	4n=36	20	(0-3)	(09-18)	(0-1)	(0-3)						0,40	14,65	0,10	1,55		
B 236	4n=36	20	(0-0)	(10-18)	(0-0)	(0-4)						0,00	14,40	0,00	2,70		

Continua...

Tabela 2. Continuação

Código do acesso	Ploidia/Nº cromossomos	Nº CMP	Associações cromossômicas														
			Variação						Média por célula								
			I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI			
B 237	4n=36	20	(0-2)	(09-18)	(0-0)	(0-4)						0,30	13,75	0,00	2,05		
B 256	4n=36	20	(0-3)	(10-14)	(0-1)	(1-4)						0,60	12,05	0,20	2,65		
B 259	4n=36	20	(0-3)	(08-16)	(0-0)	(1-4)						0,10	12,95	0,00	2,50		
B 262	4n=36	20	(0-2)	(10-16)	(0-0)	(1-4)						0,10	12,65	0,00	2,65		
B 264	4n=36	20	(0-0)	(10-16)	(0-0)	(1-4)						0,00	13,20	0,00	2,40		
B 290	4n=36	20	(0-4)	(10-17)	(0-0)	(0-3)						1,00	15,25	0,00	1,35		
B 291	4n=36	20	(0-2)	(10-16)	(0-1)	(0-4)						0,40	12,55	0,10	2,55		
B 295	4n=36	20	(0-1)	(10-18)	(0-1)	(0-5)						0,20	12,55	0,10	2,80		
B 221	6n=54	20	(0-0)	(18-25)	(0-0)	(1-4)	(0-0)	(0-2)				0,00	20,80	0,00	2,65	0,00	0,30
B 250	6n=54	20	(0-0)	(17-25)	(0-0)	(1-5)	(0-0)	(0-1)				0,00	23,05	0,00	3,20	0,00	0,15
B 251	6n=54	20	(0-0)	(12-23)	(0-0)	(2-6)	(0-0)	(0-2)				0,00	18,55	0,00	4,35	0,00	0,45



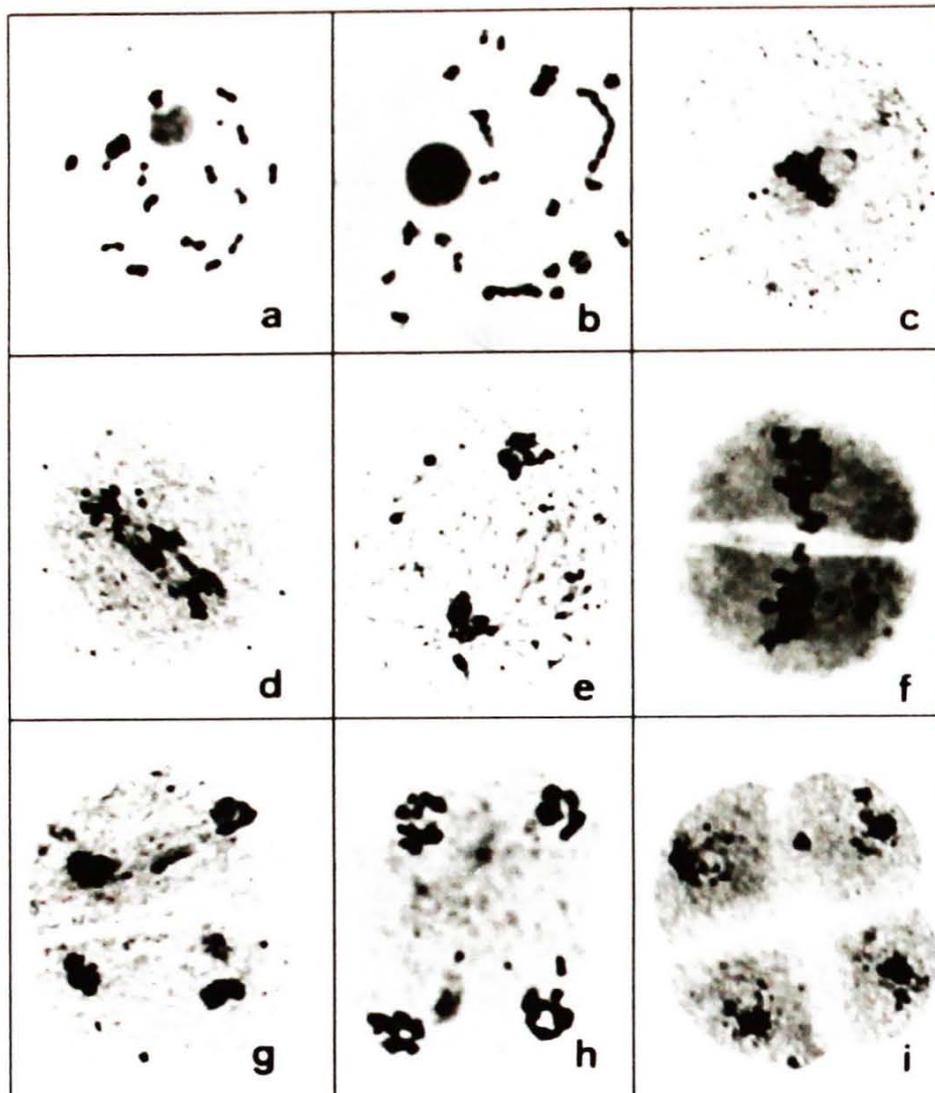
**Fig. 1.** Alguns aspectos do comportamento meiótico do acesso diplóide B 105 de *Brachiaria brizantha*: a) diacinese mostrando nove bivalentes; b) metáfase I com cromossomo em ascensão precoce; c) anáfase I com cromossomos retardatários; d) telófase I com micronúcleos em ambos os pólos.

Para os acessos tetraplóides ( $2n = 4x = 36$ ), as anormalidades mais encontradas na primeira divisão da meiose foram cromossomos univalentes e associações multivalentes nas diacineses (Fig. 2a e b), cromossomos univalentes em ascensão precoce nas metáfases (Fig. 2c), cromossomos retardatários nas anáfases (Fig. 2d) e micronúcleos nas telófases (Fig. 2e). Conforme consta na Tabela 2, na fase de diacinese, predominaram cromossomos bivalentes, enquanto associações cromossômicas tetravalentes foram observadas em menor frequência. A frequência de bivalentes variou de 12,05 a 15,75 por célula e os tetravalentes de 1,35 a 2,80 por célula, entre os dezoito acessos tetraplóides analisados. Cromossomos univalentes e associações trivalentes ocorreram em baixa frequência. Anormalidades foram observadas também na segunda divisão meiótica. Ascensões precoces foram observadas em metáfases (Fig. 2f), cromossomos

retardatários em anáfases (Fig. 2g) e micronúcleos em telófases (Fig. 2h) e em tétrades (Fig. 2i). Em alguns casos, no final da microsporogênese, foi observada a presença de políades, principalmente pênades. Todas estas irregularidades meióticas são características da tetraploidia e têm sido descritas em tetraplóides de diversas espécies de *Brachiaria* (Sotomayor-Ríos et al., 1960, 1970; Pritchard, 1967; Valle, 1986; Valle et al., 1987; Basappa et al., 1987; Valle et al., 1989). Cromossomos univalentes podem apresentar ascensão precoce na metáfase I ou ser retardatários na anáfase I e, por isso, não serem incluídos nos núcleos telofásicos, formando micronúcleos. Foi observada uma diferença entre a média de cromossomos univalentes encontrados por célula na diacinese e a porcentagem de cromossomos ascendendo precocemente em metáfase I. Esta diferença, ou seja, o aumento no número de univalentes em metáfase I, poderia ser explicada pela terminalização precoce de quiasmas. Quiasmas, em geral, são considerados como responsáveis pela manutenção dos bivalentes, para que a perfeita segregação possa ocorrer na anáfase I. Os cromossomos univalentes, em geral, migram, precocemente, para os pólos, formando micronúcleos ou podem, ainda, apresentar segregação irregular, migrando ambos os homólogos para o mesmo pólo, originando núcleos aneuplóides. Qualquer que seja o comportamento dos cromossomos univalentes, eles causarão desbalanço gênico, afetando a fertilidade do pólen.

Em alguns acessos, também foram encontradas pontes cromossômicas nas anáfases I e II. Sugere-se que estas pontes formam-se pela não terminalização dos quiasmas ou por aderência cromossômica. A não terminalização de quiasmas poderia estar acontecendo por presença de heterocromatina, a qual funciona como uma barreira à terminalização. Pontes cromossômicas resultantes de aderência cromossômica foram observadas em alta frequência no acesso B 214 e serão discutidas à parte.

A porcentagem de células apresentando ascensões precoces em metáfase I e cromossomos retardatários em anáfase I foi mais alta do que a porcentagem de células apresentando micronúcleos em telófase I, nos acessos B 230, B 234, B 256 e B 295, mostrando que a maioria dos cromossomos que haviam segregado irregularmente foram incluídos no núcleo principal. O mesmo fenômeno foi observado para os acessos B 232, B 234, B 237, B 256 e B 295 que apresentaram esta diferença durante a meiose II. Aqueles micronúcleos formados durante a meiose I, e que não se reintegraram ao núcleo principal, persistiram durante a meiose II até o estágio de tétrade.



**Fig. 2.** Anormalidades meióticas observadas nos acessos poliplóides de *Brachiaria brizantha*: a) diacinese mostrando uma associação tetraivalente, 15 bivalentes e duas univalentes em acesso tetraplóide; b) diacinese mostrando três associações hexavalentes, uma tetraivalente e 16 bivalentes em acesso hexaplóide; c) metáfase I com cromossomos em ascensão precoce em ambos os pólos; d) anáfase I com cromossomos retardatários; e) telófase I com vários micronúcleos; f) metáfase II com cromossomos em ascensão precoce; g) anáfase II com cromossomos retardatários; h) telófase II com micronúcleos; i) tétrade com micronúcleo em um micrósporo.

As anormalidades meióticas observadas nos acessos analisados podem comprometer a fertilidade do pólen. Embora não tenha sido possível avaliar a fertilidade do pólen nestes acessos, verificou-se considerável frequência de micrósporos com micronúcleos nas tétrades, variando de 6,98%, para o acesso B 232, até 44,24%, para o acesso B 131. As porcentagens de células com anormalidades

meióticas nos diferentes acessos analisados são mostradas na Tabela 1. De modo geral, o número de células afetadas foi alto. Todavia, alguns acessos, como B 226, B 230, B 232, B 237, B 256 e B 295, apresentaram frequência menor de irregularidades em diversas fases da meiose, culminando com a formação de baixa frequência de tétrades irregulares. Somente um dos acessos tetraplóides, o B 226, destacou-se por apresentar meiose com poucas irregularidades e, nas diacineses analisadas, somente uma associação tetravalente foi encontrada, sendo que os demais cromossomos parearam-se na forma de bivalentes. Somente um acesso tetraplóide sexual de *B. humidicola*, analisado por Valle & Glienke (1991), também apresentou meiose regular, formando 18 bivalentes na diacinese. Acessos tetraplóides apomíticos da coleção de *Brachiaria* da Embrapa Gado de Corte apresentaram irregularidades em graus variados numa primeira análise preliminar (Valle, 1986; Valle & Glienke, 1991).

Entre os acessos hexaplóides B 221, B 250 e B 251, foram encontradas todas aquelas anormalidades comuns aos acessos poliplóides e já descritas aqui para os acessos tetraplóides. Outro aspecto observado nos acessos hexaplóides foi a ausência de cromossomos univalentes e de associações cromossômicas trivalentes e pentavalentes (Tabela 2). A média de cromossomos bivalentes variou de 18,55 a 23,05 por célula e as associações tetravalentes variaram de 2,65 a 4,35. Hexavalentes, por sua vez, variaram de 0,15 a 0,45 por célula. A Fig. 2 ilustra as irregularidades meióticas observadas nos acessos hexaplóides de *B. brizantha*.

Uma anormalidade que apresentou alta frequência entre os acessos hexaplóides, e que não havia sido encontrada nos acessos tetraplóides, foi a presença de cromossomos bivalentes não orientados na placa equatorial. A ocorrência desta anormalidade variou de 2,08% no acesso B 250 a 8,41% no acesso B 251. A presença de bivalentes não orientados na placa equatorial pode ocorrer por falta de habilidade de congressão desses cromossomos para a placa equatorial. Esta falta de habilidade pode estar relacionada a algum problema no cinetócoro. Nicklas & Ward (1994) relatam alguns fatores que podem impedir a ligação do cinetócoro às fibras do fuso. Estes bivalentes podem ou não ser incluídos no núcleo telofásico. Se incluídos, um dos núcleos da telófase I terá um cromossomo a mais e, o outro, um cromossomo a menos, gerando dois micrósporos  $n + 1$  e dois  $n - 1$ , respectivamente. Se não forem incluídos, e formarem micronúcleos, os dois núcleos da telófase I terão um cromossomo a menos, gerando quatro micrósporos aneuplóides  $n - 1$ . Qualquer que seja o

comportamento dos bivalentes não orientados, o resultado será a formação de gametas aneuplóides, com importantes conseqüências no processo de cruzamento para fins de melhoramento genético.

A ocorrência natural de poliplóides em gramíneas forrageiras é da ordem de 60% a 70%, podendo exceder 80% em alguns gêneros (Stebbins, 1956). Segundo Basappa et al. (1987), no gênero *Brachiaria* a maioria dos representantes são poliplóides, fato também confirmado neste estudo, onde, dentre os 22 acessos analisados, apenas um mostrou-se diplóide. Dentre os diferentes níveis de ploidia observados em gramíneas, incluindo *Brachiaria*, o mais freqüente é o nível tetraplóide. Nesta avaliação, dentre os 22 acessos de *Brachiaria brizantha* estudados, 18 mostraram-se tetraplóides. A tetraploidia pode originar-se de duas maneiras, ou seja, por duplicação do próprio genoma ou por hibridização interespecífica. A presença de associações cromossômicas multivalentes na diacinese indica autotetraploidia com dois genomas homólogos, enquanto a ausência ou um pequeno número de tetravalentes sugere ocorrência de aloploidia. A baixa freqüência de associações multivalentes (III e IV), nos acessos tetraplóides de *B. brizantha* analisados (Tabela 2), sugere que os mesmos são alopólíides segmentais, isto é, os genomas das espécies parentais são apenas parcialmente homólogos.

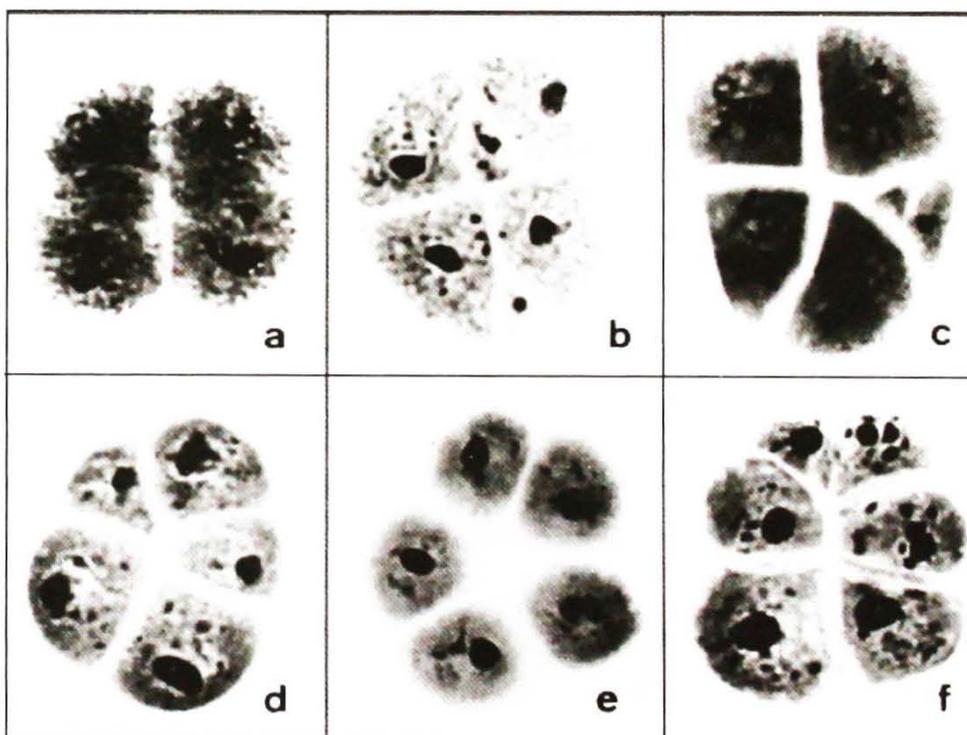
## Comportamento de Micronúcleos

A conseqüência mais comum da presença de segregação irregular de cromossomos durante o processo meiótico é a formação de micronúcleos nas tétrades. Estes micronúcleos podem ser formados por cromossomos com ascensão precoce ou retardatária que ocorrem nas metáfases e anáfases da primeira e/ou da segunda divisão da meiose. Cromossomos bivalentes não orientados também podem formar micronúcleos.

Quando os micronúcleos são formados nas telófases da primeira divisão, podem ter diferentes destinos. Podem persistir como micronúcleos durante a meiose II e chegar à tétrade como tal; podem reincorporar-se à placa equatorial da segunda divisão e não serem mais visualizados na tétrade; podem sofrer desintegração durante a segunda divisão; podem, ainda, excepcionalmente, sofrer citocinese ao final da meiose I e separar-se como micrócitos, já na díade. O comportamento dos micronúcleos analisados em muitas espécies de vegetais superiores parece ser espécie-específico ou, até mesmo, cromossomo-específico (Pagliarini, 2000).

Qualquer que seja o destino do micronúcleo, o resultado será perda de cromossomos e a conseqüente formação de grãos de pólen geneticamente desbalanceados e estéreis.

Os acessos poliplóides de *B. brizantha* analisados apresentaram freqüências elevadas, de tétrades anormais, variando de 6,98% a 44,24% (Tabela 1). Os cromossomos que sofreram segregação irregular durante a primeira e/ou segunda divisão meiótica apresentaram diferentes comportamentos. Na maioria dos casos, formaram micronúcleos em um ou mais micrósporos da tétrade; em outros casos, separaram-se da tétrade como micrócitos e, em casos raros, houve uma mistura de ambos os comportamentos, ou seja, micronúcleos e micrócitos podiam ser visualizados na mesma tétrade. A Fig. 3 ilustra estas irregularidades. Em diferentes espécies, tem sido relatada apenas a formação de micronúcleos, na primeira ou segunda divisão meiótica, que podem chegar até à tétrade na forma de micronúcleo ou micrócito (Pagliarini, 2000), mas nunca ambos simultaneamente, como observado nestes acessos de *B. brizantha*.



**Fig. 3.** Comportamento de micronúcleos em *Brachiaria brizantha*: a) tétrade com micronúcleos nos micrósporos; b) tétrade com micronúcleos em um dos micrósporos e dois micrócitos; c) tétrade com um micrócito; d) pêntade com micrósporos de diferentes tamanhos; e) pêntade com micrósporos de mesmo tamanho; f) hêxade com micrósporos de diferentes tamanhos.

No presente estudo, a ocorrência simultânea de micronúcleos e micrócitos, em uma mesma tétrade, foi baixa. Os micrócitos formados apresentaram diferença de tamanho, podendo ser pequenos ou de mesmo tamanho. Em geral, mostraram-se menores e deram origem a pequenos grãos de pólen. Quando do mesmo tamanho dos demais micrósporos, formaram pêntades ou hêxades.

## Outras anormalidades

Durante a análise citológica, outras anormalidades meióticas não tão características da poliploidia foram encontradas nos acessos de *Brachiaria brizantha* analisados. Destacaram-se as aderências cromossômicas, fusões celulares e formação de díades e tríades no final da microsporogênese.

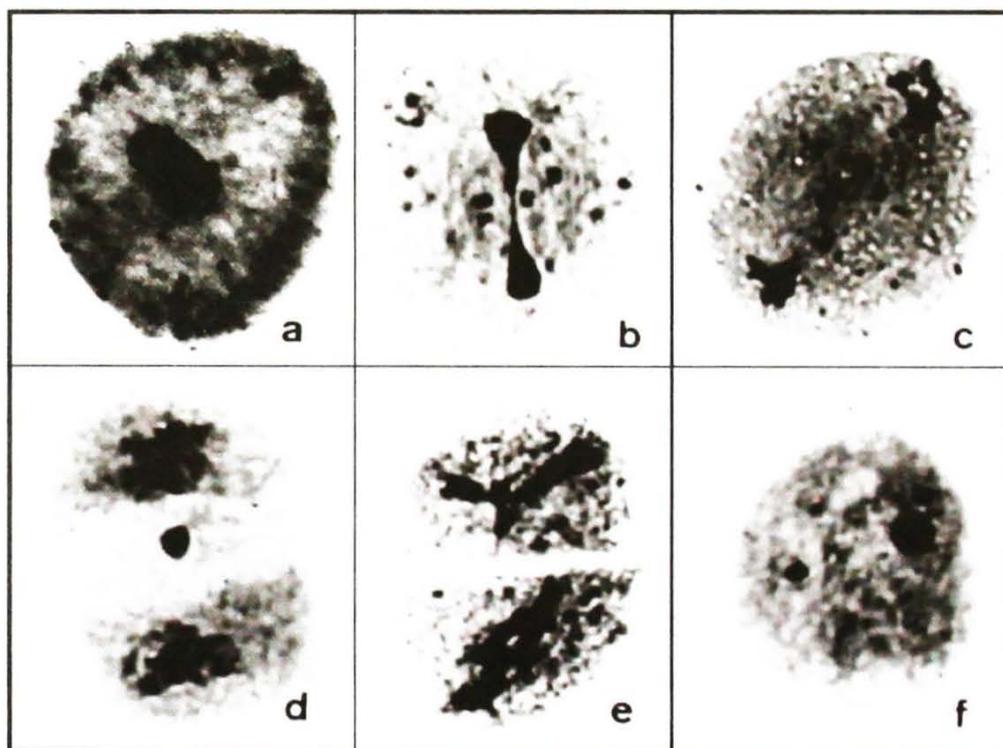
### ***Aderência cromossômica***

Embora aderências e pontes cromossômicas tenham sido encontradas esporadicamente em alguns acessos, o acesso tetraplóide B 214 apresentou alta incidência e caráter diferenciado destas anormalidades (Fig. 4).

O termo *stickiness* foi empregado pela primeira vez por Beadle (1932), ao descrever o aspecto pegajoso dos cromossomos de milho em células que haviam sofrido uma mutação provocada por um gene recessivo. As aderências compreendem intensa aglomeração cromatínica, a partir do estágio de paquíteno, seguindo esta configuração até a metáfase I. Em anáfase I, os cromossomos formam inúmeras pontes, as quais são rompidas por forças mecânicas, produzindo inúmeros fragmentos. A manifestação fenotípica da aderência pode apresentar diferentes graus de expressão, variando de leve a intensa. É considerada leve, quando poucos cromossomos estão envolvidos e, intensa, quando envolve todo o genoma, levando à formação de núcleos picnóticos, que podem ter como consequência a degeneração da cromatina.

Relatos de aderência para alguns acessos de *Brachiaria* foram previamente feitos por Valle (1986), sem no entanto especificação para as fases da meiose em que ocorreram. No material em estudo, os resultados mostraram-se similares aos descritos na literatura para a maioria das espécies que exibem aderência cromossômica durante a meiose. Porém, neste caso, as aderências começaram a se manifestar a partir da metáfase I. Em muitas células, não foi possível identificar as fases de metáfase I e anáfase I inicial (Fig. 4a). No decorrer da anáfase I, pontes cromossômicas de diferentes espessuras foram observadas (Fig. 4b).

Muitas vezes, as pontes persistiram até à telófase I ou romperam-se, formando micronúcleos (Fig. 4c). Na meiose II, grandes micronúcleos centrais podiam ser visualizados (Fig. 4d) ou vários micronúcleos espalhados pela célula e os cromossomos na placa equatorial apresentavam aspecto de aderência. Pontes voltaram a se formar em anáfase II (Fig. 4e). Núcleos picnóticos foram observados em micrósporos (Fig. 4f), todavia não foi observada degeneração cromática neste estágio. No acesso de *B. brizantha* aqui estudado, não se conhece o fator que levou à ocorrência desta anormalidade. Talvez fatores genéticos estejam envolvidos, pois todos os demais acessos estudados foram cultivados no mesmo local, sob as mesmas condições ambientais e não apresentaram a irregularidade. Embora muitos trabalhos relatem a ocorrência de aderências cromossômicas, a causa primária e a base bioquímica de sua origem são desconhecidas. Algumas hipóteses tentam explicar as possíveis causas. Gaulden (1987) postulou que as aderências cromossômicas resultariam do funcionamento defectivo de um ou dois tipos de proteínas não histônicas específicas envolvidas na organização dos cromossomos, sendo necessárias à separação das cromátides.

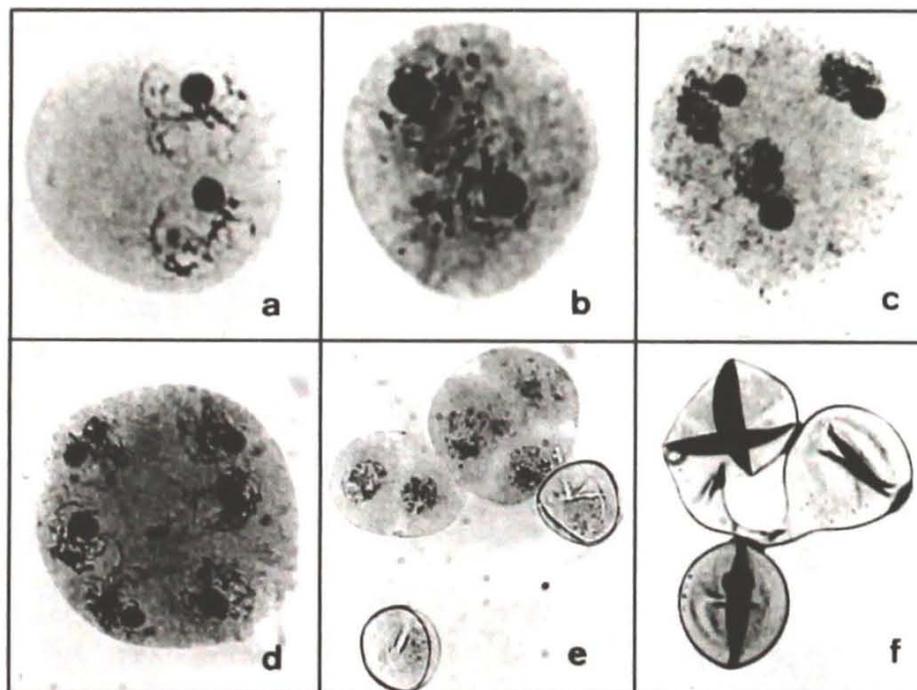


**Fig. 4.** Aderência cromossômica no acesso B 214 de *Brachiaria brizantha*: a) metáfase I/anáfase I com cromossomos aderidos; b) anáfase I tardia com ponte cromossômica; c) telófase I com micronúcleos centrais aderidos; d) prófase II com grande micronúcleo central; e) anáfase II com pontes cromossômicas; f) micrósporo com núcleo picnótico e micronúcleo.

Por interferir na segregação cromossômica e levar à formação de núcleos picnóticos, seguida de degeneração cromossômica, aderências têm sido consideradas causa de esterilidade de pólen em muitas espécies.

### **Fusão celular**

Fusão celular foi observada no acesso B 251 (Fig. 5). Esta anormalidade só foi encontrada nas anteras da espiguetta hermafrodita. As células meióticas fundidas não apresentavam fusão nuclear e foram observadas nas fases de prófase I, com maior frequência nas fases iniciais de zigóteno e paquíteno, e em metáfase I. Não foram encontradas fusões celulares nas fases subseqüentes da meiose I e tampouco na meiose II. O número de células envolvidas variou de duas a nove, o que levou à formação de sincícios. Nestes sincícios, todos os núcleos se encontravam na mesma fase de divisão, apresentavam número normal de cromossomos e os genomas mantinham-se individualizados. A Fig. 5 ilustra algumas das fusões celulares encontradas neste acesso.



**Fig. 5.** Fusões celulares no acesso B 251 de *Brachiaria brizantha*: a) fusão de duas células em estágio de paquíteno; b) fusão de duas células em diplóteno/diacinese; c) fusão de três células em estágio de zigóteno; d) fusão de seis células em estágio de paquíteno; e) micrósporos binucleados ao lado de grãos de pólen normais; f) grãos de pólen com conexão citoplasmática.

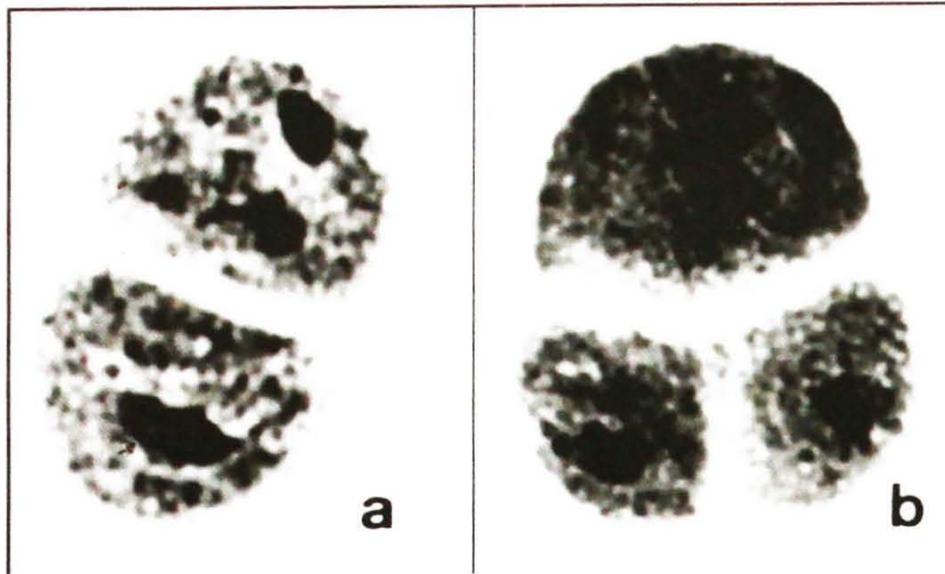
A fusão celular, com ou sem troca de cromatina entre microsporócitos, é um fenômeno descrito em várias espécies de plantas e, geralmente, ocorre em fases iniciais da meiose (Pagliarini, 1989). De acordo com Nirmala & Rao (1996), os sincícios podem ser resultantes da não formação da parede celular nas mitoses pré-meióticas (sincício arquesporial); da fusão de células-mãe de pólen, causada pela dissolução da parede celular durante a prófase I (sincício fusional), ou da migração da cromatina de uma célula-mãe de pólen para a outra (sincício migracional). Sincícios arquesporiais têm contorno regular e os outros dois tipos têm contornos irregulares. A ocorrência de sincícios com contornos regulares, contendo números pares ou ímpares de genomas fundidos, e a presença de fusão desde os estágios iniciais da meiose neste acesso de *Brachiaria brizantha*, sugerem origem arquesporial para os mesmos, ou seja, seriam resultantes da não formação de parede celular nas mitoses pré-meióticas.

Neste estudo, a ocorrência de fusão celular apenas em prófase e metáfase I não descartou a possibilidade desta anormalidade ter ocorrido nas demais fases da meiose I e II. A existência da continuidade deste fenômeno é sugerida pela presença de produtos finais de meiose totalmente anômalos. A literatura relata que as fusões celulares podem levar à degeneração da cromatina. A ocorrência de tais irregularidades contribuem, sem dúvida, para a esterilidade de pólen.

### **Formação de díades e tríades**

Uma outra anormalidade observada em alguns acessos de *B. brizantha* foi a formação de díades e tríades (Fig. 6) no final da meiose. As díades e tríades foram encontradas entre as tétrades, porém, em frequência bem menor que estas (Tabela 3). A porcentagem de díades e tríades foi variável; a de díades variou de zero a 3,44% e a de tríades, de zero a 8,26%.

A meiose caracteriza-se pela ocorrência de uma série de eventos mecânicos e bioquímicos que resultam na formação de quatro micrósporos haplóides. Diversas pesquisas têm demonstrado que estes eventos são geneticamente controlados (Golubovskaya, 1989). Entre os genes que controlam os diversos passos da meiose, estão aqueles que promovem a citocinese. Normalmente, na classe das monocotiledôneas, ocorrem duas citocineses na meiose. A primeira citocinese ocorre no final da telófase I, formando uma díade temporária. Esta díade sofrerá outra citocinese no final da telófase II e formará a tétrade de micrósporos. Falhas na primeira ou na segunda citocinese podem levar à formação de díades e tríades no final da meiose.



**Fig. 6.** Formação de gametas  $2n$  por ausência de citocinese em *Brachiaria brizantha*: a) díade; b) tríade.

Díades são formadas quando ocorrem falhas na primeira ou na segunda citocinese. As tríades, por sua vez, são formadas somente por falhas na segunda citocinese. Na verdade, as tríades são formadas quando a segunda citocinese ocorre apenas em uma das células da díade temporária. No presente estudo, sugere-se que as díades (Fig. 6a) e tríades (Fig. 6b) observadas foram originadas por falhas na segunda citocinese, pois não foram observados microsporócitos sem a primeira citocinese na meiose II. Pagliarini et al. (1999), estudando o comportamento meiótico de acessos brasileiros de *Paspalum*, concluíram que a falha de citocinese é mais comum na segunda divisão da meiose.

A ausência de citocinese pode levar à formação de gametas  $2n$ . Este fenômeno tem importante papel na evolução. A poliploidização pode ocorrer pela formação de gametas  $2n$  funcionais ou pela duplicação dos cromossomos somáticos. De acordo com Harlan & De Wet (1975), quase todos os poliplóides se originam através de poliploidização sexual via gametas  $2n$ . Neste caso, a ocorrência de gametas  $2n$  no gênero *Brachiaria* poderia também ser considerada como uma fonte de origem de poliploidia.

**Tabela 3.** Frequência de díades e tríades nos acessos de *Brachiaria brizantha* analisados.

B 105	2n = 18	458	0	0,00	0	0,00	458	100,00
B 030	4n = 36	321	7	2,18	1	0,32	313	97,50
B 131	4n = 36	382	0	0,00	1	0,27	381	99,73
B 158	4n = 36	363	0	0,00	7	1,92	356	98,08
B 214	4n = 36	397	0	0,00	3	0,76	394	99,24
B 217	4n = 36	300	0	0,00	0	0,00	300	100,00
B 226	4n = 36	232	0	0,00	2	0,86	230	99,14
B 230	4n = 36	347	3	0,87	0	0,00	344	99,13
B 232	4n = 36	258	0	0,00	0	0,00	258	100,00
B 234	4n = 36	351	0	0,00	0	0,00	351	100,00
B 236	4n = 36	275	0	0,00	0	0,00	275	100,00
B 237	4n = 36	258	0	0,00	0	0,00	258	100,00
B 256	4n = 36	260	0	0,00	0	0,00	260	100,00
B 259	4n = 36	327	11	3,36	2	0,62	314	96,02
B 262	4n = 36	305	0	0,00	0	0,00	305	100,00
B 264	4n = 36	312	0	0,00	0	0,00	312	100,00
B 290	4n = 36	290	0	0,00	0	0,00	290	100,00
B 291	4n = 36	320	0	0,00	0	0,00	320	100,00
B 295	4n = 36	387	0	0,00	0	0,00	387	100,00
B 221	6n = 54	241	0	0,00	0	0,00	241	100,00
B 250	6n = 54	263	0	0,00	0	0,00	263	100,00
B 251	6n = 54	278	0	0,00	2	0,72	241	99,28

## Conclusões

A análise citológica de 22 acessos de *B. brizantha* revelou predominância de nível tetraplóide, em relação ao hexaplóide e diplóide. Verificou-se que o comportamento meiótico no acesso diplóide é levemente irregular. Porém é altamente irregular nos hexaplóides e outros tetraplóides como B 251 e B 214. Além das anormalidades típicas da poliploidia, como associações cromossômicas múltiplas na diacinese e presença de univalentes, seguidas de segregações irregulares nas fases posteriores, observaram-se outras formas de irregularidades meióticas em alguns acessos poliplóides. Todas as anormalidades observadas podem comprometer a viabilidade gamética.

A análise detalhada do comportamento meiótico permitiu identificar acessos com maior frequência de anormalidades e que devem ser descartados como genitores no programa de melhoramento, como no caso de B 251.

## Referências Bibliográficas

BASAPPA, G. P.; MUNIYAMMA, M.; CHINNAPPA, C. C. An investigation of chromosome numbers in the genus *Brachiaria* (Poaceae:Paniceae) in relation to morphology and taxonomy. **Canadian Journal of Botany**, Ottawa, v. 65, n. 11, p. 2297-2309, 1987.

BEADLE, G. W. A gene for sticky chromosomes in *Zea mays*. **Induktive Abstammungs und Veherbungslehrer**, v. 63, p. 195-217, 1932.

BERNINI JUNIOR, C. **Análise citogenética e diferenciação cromossômica em espécies do gênero *Brachiaria* Grisebach**. 1997. 96 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Londrina, UEL, Londrina.

CENSO AGROPECUÁRIO 1995-1996, Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, n. 1, p. 1-366, 1998.

FISCHER, M. J.; KERRIDGE, P. C. The agronomy and physiology of *Brachiaria* species. In: MILES, J. W.; MAASS, B. L.; VALLE, C. B. do (Ed.). ***Brachiaria: biology, agronomy, and improvement***. Cali: CIAT / Brasília: EMBRAPA-CNPQC, 1996. p. 43-54.

GAULDEN, M. E. Hypothesis: some mutagens directly alter specific chromosomal proteins (DNA topoisomerase II and peripheral proteins) to produce chromosome stickiness, which causes chromosome aberrations. **Mutagenesis**, Oxford, v. 2, n. 5, p. 357-365, 1987.

GOLUBOVSKAYA, I. N. Meiosis in maize: *Mei* genes and conception of genetic control of meiosis. **Advances in Genetics**, New York, v. 26, p. 149-192, 1989.

HARLAN, J. R.; WET, J. M. J. de. On Ö Winge and a prayer: The origins of polyploidy. **Botanical Review**, Bronx, v. 41, n. 3, p. 361-390, 1975.

KELLER-GREIN, G.; MAASS, B. L.; HANSON, J. Natural variation in *Brachiaria* and existing germoplasma collections. In: MILES, J. W.; MAASS, B. L.; VALLE, C. B. do (Ed.). **Brachiaria: biology, agronomy, and improvement**. Cali: CIAT / Brasília: EMBRAPA- CNPQC, 1996. p. 16-42.

LETTERIELLO, G.; VALLE, C. B. do; CHRISTIANE, D.; PENTEADO, M. I. de O. Citologia e modo de reprodução de acessos pentaplóides de *B. brizantha*. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 36., 1999, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: SBZ, 1999. CD-ROM. Forragicultura, Avaliação de Forrageiras, FOR-140.

NICKLAS, R. B.; WARD, S. C. Elements of error correction in mitosis: microtubule capture, release and tension. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 126, n. 5, p. 1241-1253, 1994.

NIRMALA, E.; RAO, P. N. Genesis of chromosome numerical mosaicism in higher plants. **The Nucleus**, Calcutá, v. 39, n. 3, p. 151-175, 1996.

PAGLIARINI, M. S. **Avaliação da frequência de quiasmas em milho (*Zea mays* L.) e suas implicações com a capacidade de combinação para a produção de grãos**. 1989. 191 f. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

PAGLIARINI, M. S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 4, p. 997-1002, 2000.

PAGLIARINI, M. S.; TAKAYAMA, S. Y.; FREITAS, P. M. de.; CARRARO, L. R.; ADAMOWSKI, E. V.; SILVA, N.; BATISTA, L. A. R. Failure of cytokinesis and 2n gamete formation in Brazilian accessions of *Paspalum*. **Euphytica**, Wageningen, v. 108, n. 2, p. 129-135, 1999.

PENTEADO, M. I. de O.; HERNANDEZ, M.; SAVIDAN, Y. H.; SANTOS, A. S.; VALLE, C. B. do. Variation in DNA content in *Brachiaria* spp. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 19, n. 3, p. 291. 1996.

PENTEADO, M. I. de O.; SANTOS, A. C. M. dos; RODRIGUES, I. F.; VALLE, C. B. do; SEIXAS, M. A. C.; ESTEVES, A. **Determinação de ploidia e quantidade de DNA em diferentes espécies do gênero *Brachiaria***. Campo Grande: Embrapa Gado de Corte, 2000. 32 p. (Embrapa Gado de Corte. Boletim de Pesquisa, 11).

PINHEIRO, A. A.; POZZOBON, M. T.; VALLE, C. B.; PENTEADO, M. I. de O.; CARNEIRO, V. T. C. Duplication of the chromosome number of diploid *Brachiaria brizantha* plants using colchicine. **Plant Cell Reports**, New York, v. 19, n. 3, p. 274-278. 2000.

PRITCHARD, A. J. Apomixis in *Brachiaria decumbens* Stapf. **Journal of Australian Institute of Agricultural Sciences**, Sydney, v. 33, n. 2, p. 264-265, 1967.

RENVOIZE, S. A.; CLAYTON, W. D.; KABUYE, C. H. S. Morphology, taxonomy, and natural distribution of *Brachiaria* (Trin.) Griseb. In: MILES, J. W.; MAASS, B. L.; VALLE, C. B. do (Ed.). ***Brachiaria: biology, agronomy, and improvement***. Cali: CIAT / Brasília: EMBRAPA-CNPGC, 1996. p. 1-15.

SOTOMAYOR-RÍOS, A.; VELEZ-FORTUNO, J.; WOODBURY, R.; SCHERTZ, K. F.; SIERRA-BRACERO, A. Description and cytology of a form of Signalgrass (*Brachiaria brizantha* Stapf.) and its agronomic behavior compared to Guineagrass (*Panicum maximum* Jack.). **Journal of Agriculture of University of Puerto Rico**, Rio Piedras, v. 44, n. 4, p. 208-220, 1960.

SOTOMAYOR-RÍOS, A.; SCHANK, S. C.; WOODBURY, R. Cytology and taxonomic description of two *Brachiaria* (Congograss and Tannergrass). **Journal of Agriculture of University of Puerto Rico**, Rio Piedras, v. 54, n. 2, p. 390-400, 1970.

STEBBINS, G. L. Cytogenetics and evolution of the grass family. **American Journal of Botany**, Bronx, v. 43, p. 891-905, 1956.

VALLE, C. B. do. **Cytology, mode of reproduction, and forage quality of selected species of *Brachiaria* Griseb.** 1986. 89 f. Tese (Doutorado) - University of Illinois, Urbana.

VALLE, C. B. do. **Coleção de germoplasma de espécies de *Brachiaria* no CIAT. Estudos básicos visando ao melhoramento genético.** Campo Grande: EMBRAPA-CNPGC, 1990. 33 p. (EMBRAPA-CNPGC. Documentos, 46).

VALLE, C. B. do; GLIENKE, C. New sexual accessions in *Brachiaria*. **Apomixis Newsletter**, Paris, v. 3, p. 11-13, 1991.

VALLE, C. B. do; MILES, J. W. Melhoramento de gramíneas do gênero *Brachiaria*. In: SIMPÓSIO SOBRE MANEJO DA PASTAGEM, 11., 1994, Piracicaba. **Anais...** Piracicaba: FEALQ, 1994. p. 1-23.

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

VALLE, C. B. do; SINGH, R. J.; MILLER, D. A. Pachytene chromosomes of *Brachiaria ruziziensis* Germain et Evrard. **Plant Breeding**, Berlin, v. 78, p. 75-78, 1987.

VALLE, C. B. do; SAVIDAN, Y. H.; JANK, L. Apomixis and sexuality in *Brachiaria decumbens* Stapf. In: INTERNATIONAL GRASSLAND CONGRESS, 16., 1989, Nice. **Proceedings...** [S.l.]: Association Française pour le Production Fourragère, [1989]. v. 1, p. 407-408.

**Embrapa**

---

***Gado de Corte***

Ministério da Agricultura,  
Pecuária e Abastecimento

