

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA

JÉSSIKA PAULA SILVA VIEIRA

ANATOMIA DA LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE *Paspalum
stellatum* HUM. & BONPL. *ex* FLÜGGÉ (POACEAE), COM
DIFERENTES TIPOS DE PLOIDIA

Brasília

Abril, 2014

JÉSSIKA PAULA SILVA VIEIRA

ANATOMIA DA LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE *Paspalum
stellatum* HUMB. & BONPL. *ex* FLÜGGÉ (POACEAE) COM
DIFERENTES TIPOS DE PLOIDIA

Dissertação apresentada como requisito final à
obtenção do grau de Mestre em Botânica, Programa
de Pós-Graduação em Botânica, Instituto de
Ciências Biológicas, Universidade de Brasília
(UnB).

Aluna: Jéssika Paula Silva Vieira

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Dalva Graciano – Ribeiro

Brasília

Maio, 2014

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade de
Brasília. Acervo 1018470.

V658a Vieira, Jéssika Paula Silva.
Anatomia da lâmina foliar de acessos de *Paspalum stellatum*
Humb. & Bonpl. ex Flüggé (Poaceae) com diferentes
tipos de ploidia / Jéssika Paula Silva Vieira. -- 2014.
xi, 70 f.: il.; 30 cm.

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

Orientação: Dalva Graciano Ribeiro.
Inclui bibliografia.

1. Gramínea. 2. Anatomia vegetal. 3. *Paspalum*. 4.
Análise foliar. I. Ribeiro, Dalva Graciano. II. Título.

CDU 582.542.1

JÉSSIKA PAULA SILVA VIEIRA

ANATOMIA DA LÂMINA FOLIAR DE ACESSOS DE *Paspalum stellatum*
HUMB. & BONPL. *ex* FLÜGGÉ (POACEAE) COM DIFERENTES TIPOS DE
PLOIDIA

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de Mestre em Botânica e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Botânica da Universidade de Brasília.

Aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a. Dalva Graciano-Ribeiro
(Orientadora e presidente)

Prof. Dr. José Francisco Montenegro Valls
(Membro titular)

Prof.^a. Dr.^a. Kelly Regina Batista Leite
(Membro titular)

Prof.^a. Dr.^a. Cássia Beatriz Rodrigues Munhoz
(Membro suplente)

Dedicatória

Dedico á minha mãe, por todas as lutas diárias, por ser um exemplo de mulher e pessoa, por toda ajuda, por todo ensinamento, por todo amor e carinho e por sempre acreditar em meu futuro.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço à Deus por ter me confiado a dádiva da vida, saúde e bênçãos.

À minha mãe que tem lutado sozinha desde a minha infância para que eu e minha irmã tivéssemos uma boa educação, graças a ela pude realizar o sonho de ser Bióloga e conquistar vários outros, pois sempre me ajudou e incentivou com o seu exemplo.

Ao meu filho Ryan Vieira Costa, que é a pessoa mais importante da minha vida, e minha maior motivação: filho te amo! Ao meu marido Fábio Gomes Costa, pelo incentivo, carinho, companherismo e paciência.

À minha orientadora Dalva Graciano-Ribeiro, por ter me dado grandes oportunidades desde a graduação, pelo carinho amizade, confiança, ajuda e ensinamentos.

Aos meus amigos: Tatiane Monteiro; Willam Carmo; Daiane Veras; Elínea Oliveira; Fernanda Barbosa; Isa; Silvia Fernandes; Raissa; José Geraldo; Bruno Edson; Izabelly Sant'ana; Nádia Somavilla; Chesterton; Isis; Renata Cristina; Duda; Reneida; Natacha; Alyson; André; Thaís(irmã), obrigada pela amizade, pelos momentos de alegria e descontração, pela ajuda, pelos ensinamentos e trocas, pelo companherismo.

Aos professores do Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade de Brasília – UnB pelo acolhimento, confiança, carinho e ensinamentos.

Aos professores que contribuíram com sua participação em minhas bancas de defesa de projeto e resultados parciais, em especial a Prof. Cássia Beatriz Munhoz, que além de contribuir com suas correções, me incentivou e me fez acreditar com suas palavras de encorajamento, que eu sou capaz!

À professora Regina Célia de Oliveira pela parceria no meu trabalho de conclusão de curso (monografia), e ensinamentos no mestrado.

À Marisa Bonasora e seu orientador Prof. Dr. Gabriel Hugo Rua pela oportunidade de fazer parte deste trabalho.

Ao Prof. Dr. José Francisco Montenegro Valls por sua simpatia, atenção e por ter disponibilizado as mudas para coletas dos acessos estudados pertencentes ao telado da Embrapa/Cenargen.

Aos professores da Fisiologia Vegetal: Augusto e Cristiane e em especial à Prof. Lourdes Isabel Velho do Amaral (*in memoriam*).

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudo, que foi importantíssima para a realização deste trabalho.

Epígrafe

“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem vitória, nem derrota.”

Theodore Roosevelt

Sumário

Lista de Figuras.....	viii
Lista de Tabelas.....	x
Lista de Siglas e Abreviações.....	xi
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	13
1.INTRODUÇÃO	14
2.REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1.Taxonomia, Morfologia e Citogenética.....	15
2.2.Anatomia.....	17
3. OBJETIVO	19
3.1.Objetivo Geral.....	19
3.2.Objetivo Específico.....	19
4. METODOLOGIA.....	19
4.1. Material Biológico.....	19
4.2. Procedimentos anatômicos e citogenética.....	20
4.3. Microscopia Eletrônica de Varredura.....	20
4.4. Análise estatística.....	21
5.RESULTADOS.....	22
5.1. Descrição da lâmina foliar.....	22
5.1.2. Secção transversal.....	22
5.1.2.1.Superfície face adaxial.....	22
5.1.2.2. Superfície face abaxial.....	23
5.1.3. Vista Frontal.....	23
5.1.3.1. Superfície adaxial.....	24
5.1.3.1.1. Zona Costal.....	24
5.1.3.1.2. Zona Intercostal.....	24
5.1.3.2. Superfície abaxial.....	25
5.1.3. Análise de dados quantitativos.....	26
6. DISCUSSÃO.....	28
7. CONCLUSÃO.....	33
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	64

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Formato da lâmina foliar dos acessos de <i>P. stellatum</i>	36
Figura 2. Secção transversal dos acessos diplóides (2n= 20).....	37
Figura 3. Secção transversal e Vista frontal do acesso (2n=30).....	38
Figura 4. Secção transversal dos acessos (2n= 32).....	39
Figura 5. Secção transversal dos acessos (2n=44).....	40
Figura 6. Secção transversal e Vista frontal do acesso (2n=48)	41
Figura 7. Secção transversal dos acessos (2n=52)	42
Figura 8. Secção transversal e Vista frontal do acesso (2n=60)	43
Figura 9. Secção transversal dos bordos dos acessos (2n= 32)	44
Figura 10. Secção transversal dos bordos dos acessos (2n= 44)	45
Figura 11. Secção transversal dos bordos dos acessos (2n= 52)	46
Figura 12. Vista frontal dos acessos (2n=32).....	47
Figura 13. Vista frontal dos acessos (2n=44)	48
Figura 14. Vista frontal dos acessos (2n=52).	49
Figura 15. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme dos acessos de <i>P. stellatum</i> I	50
Figura 16. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme dos acessos de <i>P. stellatum</i> II.....	51
Figura 17. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme dos acessos de <i>P. stellatum</i> III.....	52
Figura 18. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme dos acessos de <i>P. stellatum</i> IV.....	53
Figura 19. Dendograma de similaridade gerado a partir da análise de agrupamento dos diferentes citótipos, através da matriz de ausência e presença de variáveis anatômicas.....	57
Figura 20. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente em <i>P. stellatum</i> . I.....	58
Figura 21. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente em <i>P. stellatum</i> . II.....	59
Figura 22. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente em <i>P. stellatum</i> . III.....	60
Figura 23. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente em <i>P.</i>	

<i>stellatum</i> . IV.....	61
Figura 24. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente em <i>P.</i>	
<i>stellatum</i> . V.....	62
Figura 25. Análise de componentes principais (PCA) com nove variáveis.....	63
Figura 26. Representação gráfica da PCA com nove variáveis.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Lista de acessos estudados de <i>Paspalum stellatum</i>	35
Tabela 2. Matriz de dados anatômicos quantitativos quanto à presença e ausência em <i>P. stellatum</i>	55

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

Bd – bordo
BA – bainha do feixe vascular
Cb – célula buliforme
Cut- cutícula
CL – célula longa
CSi – célula silicificada
CSu- célula suberosa
CSiAE – célula silicificada de formato alto e estreito
CSiH – célula silicificada de formato halteriforme
CSiN – célula silicificada de formato nodular
CSiCr – célula silicificada de formato crescente meia lua
Esc- Esclerênquima
Ep ab – epiderme abaxial
Ep ad – epiderme adaxial
Esp – espinho
Est – estômato
Fb – fibra
FV1 – feixe vascular de 1ª ordem
FV2 – feixe vascular de 2ª ordem
FV3 – feixe vascular de 3ª ordem
Gc – gancho
ICN-Herbário do Instituto de Ciências Naturais da Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Lat- latitude
Long- longitude
Mact – macrotricoma
Mict – microtricoma
NP – nervura principal
P. – *Paspalum* L.
Pap – papila
PI – parênquima incolor
S – sulcos
UB- Herbário da Universidade de Brasília
UnB – Universidade de Brasília
ZC – zona costal
ZI – zona intercostal

RESUMO

Paspalum L. é considerado um dos gêneros mais importantes do ponto de vista forrageiro dentro da tribo Paspaleae, com cerca de 400 espécies que apresentam variação morfológica e ocorrem em vários ambientes, para o Brasil são citadas aproximadamente 220 espécies. É comum encontrar em *Paspalum*, indivíduos diplóides e poliplóides, onde os diplóides sexuais são alógamos e os poliplóides em sua grande maioria apomíticos. O número cromossômico da maioria das espécies é múltiplo de dez, porém podemos encontrar variações em uma mesma espécie, como visto em *Paspalum stellatum* Hum. & Bonpl. ex Flügge com $2n=20$, $2n=30$, $2n=32$, $2n=44$, $2n=48$, $2n=52$ e $2n=60$, mostrando variabilidade. Levando em conta os diferentes números cromossômicos de *P. stellatum*, este trabalho teve o objetivo de descrever características anatômicas da lâmina foliar em treze acessos, comparando-os e analisando-os, através de dados qualitativos e quantitativos. Os acessos estudados apresentaram caracteres anatômicos comuns ao gênero e consideramos os seguintes caracteres comuns a espécie: células buliformes com papilas, células buliformes abundantes e em leque, macrotrichomas do tipo “cushion-hair”, estômatos entre as células buliformes, presença de câmara subestomática, parênquima incolor na nervura principal, espinhos na região do bordo, célula silicificada crescente em forma de meia lua na zona intercostal da face abaxial. Em relação aos citótipos observou-se que alguns acessos com o mesmo número cromossômico foram semelhantes, como por exemplo, os de $2n=20$, porém outros diferiram entre si, como os de $2n=44$ e $2n=52$. O acesso de número $2n=60$ se mostrou estatisticamente diferente dos demais na maioria das variáveis analisadas tanto nos dados qualitativos quanto nos dados quantitativos, este exibiu as menores medidas de células e tecidos. Em geral, os acessos poliplóides se diferenciaram nos dados quantitativos, muitas vezes com maior espessura, comprimento e largura das células e tecidos, destacando os acessos de $2n=48$ e $2n=52$.

Palavras-chave: anatomia, lâmina foliar, citótipos, ploidia, *Paspalum*.

ABSTRACT

Paspalum L. is considered one of the most important genus within Paspaleae tribe, this genus have about 400 species that show morphological variation and occur in various environments, and there are approximately 220 species in Brazil. It is very common diploid and polyploid individuals in *Paspalum* genus, which the sexual diploids are allogamous and the polyploids are mainly apomictics. The chromosome numbers of most species is a multiple of ten, but we can find variations within species, as seen in *Paspalum stellatum* Bonpl & Hum . ex Flüggé with $2n = 20$, $2n = 30$, $2n = 32$, $2n = 44$, $2n = 48$, $2n = 52$ and $2n = 60$, showing great variability. The plant anatomy is a useful tool to describe characters that group or separate species in a genus, considering taxonomic, structural and environmental characters. Observing the different chromosome numbers of *P. stellatum*, the aim of this study is describe the anatomical features of the leaf lamina in thirteen accesses, comparing and analyzing qualitative and quantitative data. We found anatomical characters that are common to the genus and the following characters we considered common to the species: bulliform cells with papillae, abundant bulliform cells and range, "cushion-hair" macrotrichomes, presence of stomata between bulliform cells, presence of substomatal chamber, presence of colorless parenchyma in the midrib, spines on the edge region, cells silicified cell shaped like a half moon in the intercostal zone of the abaxial face. We observed that some cytotypes that had the same chromosome number were similar, for example, $2n = 20$, though other accesses differ, such as $2n = 44$ to $2n = 52$. Accesses with chromosome number $2n = 60$ was statistically different from the others in most of the variables analyzed, which has lower cells and tissues measurements. In general, polyploid accessions stood on quantitative data, often with greater depth, length and width of cells and tissues, highlighting the accesses of $2n = 48$ and $2n = 52$.

Palavras-chave: anatomy, leaf , cytotypes, ploidy, *Paspalum*.

1-INTRODUÇÃO¹

A família Poaceae tem grande importância dentro do grupo das angiospermas e possui uma ampla distribuição (cosmopolita). São aproximadamente 800 gêneros e 10.000 espécies – cerca de 210 gêneros e mais de 1.400 espécies podem ser identificadas no Brasil (Boldrini *et al.* 2008; Filgueiras *et al.* 2012). Habitam diferentes regiões: quentes – como, por exemplo, os desertos; regiões tropicais; e, regiões frias (Aliscioni 2000; Boldrini *et al.* 2008).

O gênero *Paspalum* L. contém cerca de 400 espécies, e aproximadamente 220 delas ocorrem no território brasileiro (Cidade *et al.* 2013; Valls & Oliveira 2013). As espécies deste gênero têm potencial forrageiro e apresentam adaptações ecológicas; ocorrem em uma ampla diversidade de habitats, como, por exemplo, em savanas e ambientes de solo úmido, e algumas crescem em ambientes frequentemente inundados (Morrone *et al.* 1995; Aliscioni 2002; Oliveira & Valls 2002).

Em algumas regiões, a pastagem é o alimento mais importante para o gado. Portanto, a agricultura possui um grande interesse no desenvolvimento de estudos e pesquisas sobre plantas forrageiras. Neste sentido, a biotecnologia busca selecionar as melhores e mais resistentes espécies; contudo, existem cultivares que podem carregar vulnerabilidade genética e, assim, gerar uma expansão de um único genótipo, como, por exemplo, gramíneas apomíticas ou propagadas vegetativamente (Batista & Godoy 2000).

A análise da estrutura da lâmina foliar das espécies de *Paspalum* é uma ferramenta importante no auxílio junto à classificação taxonômica, e também pode ser utilizada com o objetivo de descrever características que podem estar relacionadas ao tipo de ambiente em que estas se encontram (Aliscioni, 2000). Tal fato se dá porque a folha é um dos órgãos que melhor reflete as variações estruturais e ambientais. Muitos caracteres são considerados constantes e diagnósticos, auxiliando na separação de grupos e subfamílias (Oliveira *et al.* 2008).

Diversos autores estudaram a anatomia foliar das espécies do gênero; alguns com o intuito de descrever caracteres anatômicos peculiares que possam auxiliar na taxonomia e filogenia; outros, a fim de descrever características anatômicas voltadas ao tipo de via fotossintética e metabolismo, através da observação da bainha ao redor dos feixes vasculares (Brown 1977; Ellis 1977, Aliscioni 2000). A tribo Paniceae, por exemplo, contém cerca de 100 gêneros, e mais da metade são C₄, incluindo *Paspalum* (Aliscioni 2000; Aliscioni & Denham 2008).

¹ Na presente Dissertação, seguiram-se as normas da Revista *Acta Botanica Brasilica*.

É comum encontrar em *Paspalum*, indivíduos diplóides e poliplóides, sendo que os diplóides sexuais são alógamos, e os tetraplóides, em sua maioria, apomíticos (Pozzobon *et al.* 2000; Ferreira & Souza-Chies 2005; e Peñaloza *et al.* 2008).

Para compreender como a poliploidia afeta o crescimento da folha através da divisão celular e os processos de expansão, e avaliar a sua importância relativa, faz-se importante a quantificação de divisão e de expansão (Sugiyama 2005). Echarte *et al.* (1992) realizaram um estudo com clones tetraplóides de *Paspalum distichum* L., e encontraram diferenças quanto ao tamanho e comprimento da lâmina foliar.

Guma *et al.* (1995) descreveram a anatomia foliar de *Paspalum distichum* e *vaginatatum* Swartz, que apresentaram vários citótipos, afim de observar a anatomia da epiderme foliar e relacionar com algumas características com o número cromossômico das mesmas.

Diante do exposto, o presente estudo visa acrescentar informações da anatomia descritiva da lâmina foliar de vários acessos de *Paspalum stellatum* Hum. & Bonpl. ex Flüggé, que apresentam variações cromossômicas, além de observar a similaridade e as diferenças anatômicas entre os diferentes citótipos, e complementar posteriormente o trabalho citogenético realizado com as mesmas, desenvolvido por pesquisadores da Universidade de Buenos Aires, Argentina.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Taxonomia, Morfologia e Citogenética

Aproximadamente 2.000 espécies de *Paspalum* estão distribuídas em regiões tropicais temperadas e frias; estão incluídas na tribo Paniceae – considerada uma das maiores dentro da subfamília Panicoideae (Morrone *et al.* 1995; Cidade *et al.* 2013). Utilizando dados filogenéticos, aquela tribo foi dividida em Paniceae *sensu stricto* e Paspaleae (Morrone *et al.* 2012).

Paspalum L. pertence à família Poaceae, subfamília Panicoideae, tribo Paspaleae, e apresenta uma ampla distribuição geográfica (Boldrini *et al.* 2008). Ocorre em todos os países da América do Sul (Aliscioni 2000; Denham *et al.* 2002; Aliscioni & Denham 2008; Giussani *et al.* 2009; Cidade *et al.* 2013). No Brasil, encontra-se nos biomas: Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal, com cerca de 400 espécies. É considerado o gênero mais importante dentro das gramíneas com valor forrageiro (Boldrini *et al.* 2008; Cidade *et al.* 2013).

Por apresentar grande variabilidade citogenética, morfológica e adaptativa, propôs-se uma divisão do gênero e, atualmente, são reconhecidos quatro subgêneros, a saber: *Anachyris*

Chase, *Ceresia* (Pers.) Rchb.; *Harpostachys* (Trin). S. Denham e *Paspalum* (Cidade et al. 2013).

As espécies podem ser perenes, anuais, cespitosas, decumbentes, estoloníferas, e apresentam filotaxia alterna dística. Suas folhas possuem bainhas glabras a pilosas e lígula membranácea. A lâmina foliar pode ser estreita, larga ou filiforme (Oliveira & Valls 2002; Maciel et al. 2010).

Paspalum é caracterizado pelas inflorescências parciais racemiformes, espiguetas solitárias ou em pares, plano-convexas, dispostas unilateralmente sobre a ráquis – que pode ser estreita, larga e até alada. Em alguns casos, não possuem gluma inferior. O antécio, em geral, é obtuso, formado por lema fértil, cujas margens envolvem a pálea. O fruto é do tipo cariopse elíptica à hemisférica (Baeza et al. 2007; Oliveira & Valls 2008; Aliscioni & Denham 2008; Maciel et al. 2010).

Paspalum stelattum Humb & Bonpl. ex Flüggé cresce em solos arenosos e rochosos, com distribuição em alguns países da América do Sul, a saber: Colômbia, Venezuela, Brasil, Bolívia, Paraguai e Argentina (Zanotti et al. 2010). São plantas perenes, cespitosas, rizomatozas, catáfilos densamente pilosos, folha de bainhas pilosas, lígula ciliada e membranácea, lâmina foliar ereta, filiforme ou linear; involuta. A lâmina foliar tem superfície pilosa; muitas vezes, apenas na face adaxial. Possui em sua inflorescência um a dois racemos desiguais emparelhados, ráquis alada, de cor castanho escuro na região mediana, e amarelada, nas margens; os tricomas estão dispostos perpendicularmente ao redor do seu eixo, ofertando, assim, o aspecto estrelado em vista frontal perceptível com auxílio da lupa. Os pelos, em formato de “estrela”, deram origem ao nome “*stellatum*” (Sulekic 2006; Zanotti et al. 2010).

Denomina-se poliploidia as variações naturais ou induzidas relacionadas ao número cromossômico de um determinado indivíduo (Bueno et al. 2006). Em *Paspalum*, muitas espécies apresentam poliploidias, seja por duplicação do próprio genoma ou por hibridização interespecífica. Em geral, os diplóides são sexuais alógamos e, em sua maioria, são apomíticos (Carraro et al. 1997; Pagliarini et al. 2001; Urbani et al. 2002).

O tipo de apomixia gametofítica, onde há formação de um saco embrionário não reduzido (diplóide), ocorre em *Paspalum* e em várias gramíneas forrageiras e de grande valor econômico, como, por exemplo, *Brachiaria* (Trin.) Griseb. e *Panicum* L., onde dar-se-á o desenvolvimento do embrião a partir da oosfera (partenogênese) ou das sinérgidas ou antípodas (apogametia). O endosperma pode desenvolver-se ainda autonomamente, somente a partir dos núcleos polares, ou pela união de um núcleo masculino com os núcleos polares (pseudogamia). Em apomíticos pseudogâmicos, tem-se a necessidade de polinização, mas

apenas para a formação do endosperma (Dall'Agno & Schifino-Wittmann 2005). A apomixia gametofítica também pode ocorrer em poliplóides, mais frequentemente na fase de tetraplóides ou níveis mais elevados (Podio *et al.* 2012).

Os números cromossômicos da maioria das espécies do gênero são múltiplos de 10, porém, existem algumas espécies que apresentam grandes variações numéricas, como, por exemplo, em *Paspalum convexum* Humb. & Bonpl. ex Flügge com $2n=20$, $2n=32$, $2n=40$, $2n=60$, comprovando uma grande variabilidade quanto ao número cromossômico em uma mesma espécie (Pozzobon *et al.* 2000; Peñaloza *et al.* 2008).

As espécies diplóides apresentam pareamento cromossômico regular e formação de gametas normais (sexuais alógamos), enquanto os poliploides, em geral, apresentam irregularidades na divisão meiótica, em diferentes graus, comprometendo, assim, a viabilidade dos grãos de pólen (Pozzobon *et al.* 2000; Pagliarini *et al.* 2001; Araujo *et al.* 2008).

Pozzobon *et al.* (2000), realizaram contagens cromossômicas para 126 acessos de 50 espécies de *Paspalum* no Brasil, encontrando acessos tetraplóides ($2n=40$) em 43%, e acessos diploides ($2n=20$) em 35% destas. Tal estudo ressalta a importância de outras pesquisas do gênero visando o auxílio de programas de melhoramento genético, estudos filogenéticos e controle da apomixia.

Peñaloza *et al.* (2008) realizaram estudos citogenéticos e determinaram o número cromossômico somático para 20 novos acessos do germoplasma de *Paspalum*, pertencentes a 17 espécies coletadas no Brasil. Aqueles autores encontraram variabilidade em relação ao número cromossômico nas referidas espécies, porém, enfatizaram a importância da realização de outros estudos desta natureza com espécies do gênero.

Em *P. stellatum* coletados na Bolívia, alguns acessos apresentaram $2n=20$ e $2n=32$, enquanto que na região central e sul do Brasil, o número de acessos encontrados foram de $2n=32$ e $2n=52$ (Honfi *et al.* 1990; Pozzobon *et al.* 2000). Honfi *et al.* (1990) relacionaram tal variação a diferentes níveis de aneuploidias na mesma espécie, frisando que é mais comum encontrar variações cromossômicas com números múltiplos de 10 em *Paspalum*.

2.2 Anatomia

Paspalum apresenta ampla variedade morfológica. Neste sentido, vários autores tentaram dividir o gênero em subgêneros, seções e grupos informais. Contudo, há uma dificuldade para a ocorrência de tal aspecto, uma vez que os fatores ambientais influenciam em algumas características morfológicas (Aliscioni 2000).

Alguns caracteres morfológicos, tais como: pilosidade da espiguetta, morfologia da gluma superior, textura e coloração do antécio, têm sido utilizados para a classificação das

espécies. Porém, a anatomia da lâmina foliar também vem sendo considerada importante para os estudos que buscam auxiliar os trabalhos taxonômicos do grupo (Türpe 1966; Morrone *et al.* 2000; Aliscioni 2002).

As diferenças do metabolismo em plantas tem chamado a atenção. Morrone *et al.* (2012), ao realizarem um estudo filogenético com a tribo Paniceae, encontraram alguns representantes que possuíam via fotossintética do tipo C₃, C₄, bem como intermediárias denominadas C₃-C₄. A maioria das plantas de metabolismo C₄ é do tipo Kranz, onde o feixe vascular encontra-se circundado por uma bainha de células ricas em cloroplastos, e o mesofilo apresenta células parenquimáticas dispostas radialmente (Ellis 1977; Jiang *et al.* 2011; Morrone *et al.* 2012).

Em relação à seleção de gramíneas forrageiras, algumas características estruturais são herdáveis e podem ajudar a separar genótipos de grande valor agrônomo. Neste sentido, por exemplo, entre as principais características anatômicas foliares, é possível apontar a ocorrência de tecidos digestíveis para o gado – as células do mesofilo –, e indigestíveis – fibras e tecidos vasculares (Lempp *et al.* 2009). Alguns produtores utilizam cultivares de *Lolium multiflorum* L. (Azevem) tetraplóides, por apresentarem rápida produção inicial e alta produção de massa total, bem como um ciclo mais longo, quando comparadas as cultivares diplóides (Farinatti 2006).

Em secções paradérmicas, a lâmina foliar divide-se em: zona costal (região sobre as nervuras), onde ocorrem vários tipos celulares – células silicificadas, suberosas, células epidérmicas longas, entre outras; e, zona intercostal (região entre as nervuras), onde é possível observar células buliformes, estômatos com células guarda em formato halteriforme e células subsidiárias em cúpula ou triangulares, além de macrotricomas, espinhos e ganchos (Metcalf, 1960; Ellis 1979; Santos *et al.* 2010). As células epidérmicas estão organizadas em fileiras (tipicamente Panicoideae), células longas e células curtas – células silicificadas e suberosas (Türpe 1966; Aliscioni 2000).

Em secção transversal, a lâmina foliar de *Paspalum* apresenta, células buliformes em forma de leque – para face adaxial, além de ganchos, papilas e microtricomas bicelulares. A região do mesofilo é formada por células dispostas radialmente em volta da bainha dos feixes vasculares. A bainha do feixe é parenquimática e única, constituída por células de paredes espessas e com conteúdo celular (cloroplastos), que podem ser completas ou interrompidas pela extensão de bainha esclerênquimática ou parênquimática (Türpe 1966; Aliscioni 2000).

Ao relacionar a anatomia com a poliploidia, faz-se importante observar as alterações anatômicas em indivíduos poliplóides, que vão desde o formato ao aumento do tamanho

celular, o que proporciona, muitas vezes, uma maior resistência e vigor destas plantas quando comparadas às diplóides (Echarte *et al.* 1992; Guma 1995; Graciano-Ribeiro *et al.* 2010).

Echarte *et al.* (1992) estudaram 51 clones de *P. distichum*, oriundos de Buenos Aires, Argentina, e encontraram em sua maioria (75%), com número cromossômico igual a 60, em 8% com $2n=50$ e 8% com $2n=40$. Em sua grande maioria, os caracteres morfológicos analisados que permitiram separar os clones foram comprimento das lâminas foliares e área total da bainha ao redor dos feixes primários e secundários.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Descrever e comparar a anatomia da lâmina foliar de 13 acessos de *Paspalum stellatum* que apresentam diferentes citótipos.

3.2 Objetivos Específicos

- Descrever as características anatômicas da lâmina foliar de *P. stellatum*;
- Realizar comparações quantitativas e qualitativas da anatomia das células e tecidos existentes na lâmina foliar dos acessos de *P. stellatum*;
- Descrever as características anatômicas comuns aos acessos com o mesmo citótipo;
- Comparar, discutir e relacionar os caracteres anatômicos encontrados nos diferentes acessos, com o número cromossômico e ambiente.

4.METODOLOGIA

4.1 Material Biológico

Os acessos de *Paspalum stellatum* foram coletados em várias regiões, conforme expresso na Tabela 1 vide Anexo. As exsicatas foram depositadas no Herbário da Universidade de Brasília (UnB) e também da Universidade de Buenos Aires, Argentina como material testemunho.

Após as coletas, fizeram-se mudas – que estão no telado da Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária – Recursos Genéticos e Biotecnologia (EMBRAPA - CENARGEN) – com o objetivo de cultivar tais materiais em condições ambientais homogêneas.

4.2 Procedimentos anatômicos e citogenética

Foram realizadas coletas das amostras foliares das mudas que estão no telado localizado na EMBRAPA CENARGEN. As amostras foliares foram conservadas em álcool 70°(Jensen 1962), até a preparação para secção à mão livre.

Fizeram-se cortes transversais do terço médio da lâmina foliar de três folhas diferentes de cada acesso, em micrótomo de mesa R. Jungag Heidelberg, localizado no Laboratório de Anatomia Vegetal da UnB.

As melhores secções foram clarificadas em hipoclorito de sódio a 20% e, posteriormente, a 50%, por aproximadamente cinco minutos ou até que se conseguisse a despigmentação total do material (Kraus & Arduin 1997).

O material foi corado com safranina 1% e azul de alcião a 1% aquoso, na proporção (4:1). Foram desidratadas em série alcoólica crescente (50%, 70%, 92,6% e 100%) para a fixação do corante em acetato de butila. As lâminas permanentes foram montadas em verniz vitral incolor, seguindo o protocolo de Paiva *et al.* (2006).

As melhores secções foram fotografadas em fotomicroscópio Olympus CX 31, com câmera digital modelo Olympus C-7070 acoplada, do Laboratório de Fisiologia Vegetal da UnB. A avaliação quantitativa das células e dos tecidos foliares fez-se com o auxílio do programa de análise de imagens IMAGE-PRO-PLUS.

Para a descrição anatômica, a terminologia utilizada seguiu os trabalhos de Ellis (1977; 1979) e Graciano-Ribeiro *et al.* (2006).

Cerca de trinta exemplares de lâminas permanentes confeccionadas serão depositadas no laminário do Laboratório de Anatomia Vegetal da UnB.

O trabalho de citogenética está sendo realizado pela doutoranda Marisa Graciela Bonasora, da Universidade de Buenos Aires (Argentina), e seu orientador, o professor Dr. Gabriel Hugo Rua. Faz-se importante destacar que devido ao andamento em fase de conclusão do presente estudo, as contagens ainda não foram publicadas.

4.3 Microscopia Eletrônica de Varredura

Para complementar a análise anatômica, foram estudados caracteres micromorfológicos via Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).

As amostras foram fixadas em acetona 70% e álcool 70% (1:1), levadas ao sonicador a 37°C por cerca de uma hora, a fim de retirar o excesso de cera presente nas lâminas foliares. O material foi desidratado em série acetônica crescente até a saturação, seco ao ponto crítico com CO₂ líquido, identificado e colado com fita dupla face de carbono em porta espécimen (Stubs) para a cobertura em ouro por dois minutos (Bozzola & Russel 1992); e ainda, foi

examinado em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-7001F do Laboratório de Microscopia Eletrônica do Departamento de Biologia Celular da UnB.

4.4. Análise Estatística

Para cada amostra (acesso), foram escolhidas três lâminas histológicas. Nestas, três cortes (em ótimo estado) foram selecionados, realizando-se três medidas para cada variável.

Para as secções transversais, foram mensurados os seguintes aspectos: espessura total da lâmina foliar; altura e largura das células buliformes; área total do feixe vascular de primeira ordem; altura de esclerênquima próximo a face abaxial; e, espessura do mesofilo. Na região da nervura central, mediram-se a espessura total e altura do parênquima incolor. Em secções paradérmicas, mediu-se a altura/largura dos estômatos. Tais variáveis foram escolhidas com o objetivo de identificar as possíveis variações entre os acessos de diferentes números cromossômicos.

Os valores das medidas das células e tecidos foram obtidos em μm (micrometros) através do *software* IMAGE-PRO-PLUS.

Foram calculados as médias e os desvios padrões através do *software* STATISTICA 8 (STATSOFT). Para evitar uma possível pseudoreplicação – incapacidade da análise estatística para incorporar adequadamente a verdadeira estrutura de aleatoriedade presente nos dados –, foram sorteados aleatoriamente através do *software* R, três valores para cada variável em cada acesso (Millar & Anderson 2004).

Para fins de comparação entre os acessos e o número cromossômico, foram realizadas, para cada variável, a análise de variância (ANOVA de um fator) seguida pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). Os dados foram ainda testados quanto à homogeneidade e normalidade.

Com os dados quantitativos, fez-se a Análise de Componentes Principais (PCA), confeccionando-se um gráfico de dispersão via *software* PAST (Hammer *et al.* 2001).

As espécies foram ainda testadas quanto ao seu ambiente de origem (seco e úmido). Para tanto, utilizou-se teste T ($p < 0,05$) para cada uma das variáveis quantitativas mensuradas. Em tais análises, não foi incluído o acesso 1010, pois, o mesmo difere do padrão das demais, representando um *outlier*.

Os acessos também foram comparados entre si, de acordo com as características estruturais analisadas (análise qualitativa), mediante uma matriz de ausência/presença composta pelos caracteres anatômicos. Os dados qualitativos foram utilizados para análise de *Cluster*. Fez-se uso ainda de uma matriz de dados com 36 estados de caracteres anatômicos agrupados pela técnica de ligação de média de grupos (*Unweighted Pair-Group Method using Arithmetic Averages* – UPGMA) e “*linkage distance*” para a distância de similaridade.

Posteriormente, foi gerado um dendrograma. Para tanto, fez-se uso do programa STATISTICA 8 (STATSOFT).

5.RESULTADOS

5.1.Descrição da lâmina foliar

5.1.2. Secção transversal: as lâminas foliares apresentaram diferentes formatos. Observou-se o formato linear aberto (Fig.1 A, B, C, D, E e F); convoluto (Fig. 1G-H); em “U”(Fig. 1 I, J, K e L) e em “V” aberto (Fig 1M).

5.1.2.1 Superfície face adaxial: nota-se sulcos em quatro acessos (Fig. 3 B, 4A-B; 7F), os demais apresentam leves ondulações.

Cutícula: delgada nas duas faces ou espessa apenas na face abaxial (Fig. 2B, 6D, 7F, 10C, 11F).

Células epidérmicas comuns: formato arredondado e são mais frequentes na região intercostal (Fig. 2, 4, 6 e 7).

Papilas: encontram-se próximas às células buliformes e possuem parede periclinal externa espessada (Fig. 3C-D, 5D-F, 6B-C e 7F).

Células buliformes: podem ocupar cerca de 50% do mesofilo e ocorrem em grupos definidos de 3-6 células, em forma de leque (Fig. 2C- F, 3C-D, 4E, 6C, 7B e 8D), são infladas e entre elas notam-se estômatos, com exceção do acesso 1010 ($2n=60$) (Fig. 8C-D) e macrotricomas unicelulares médios e grandes do tipo almofada “cushion-hair” (Fig. 3D, 4B, 7D, 8A, 10A e 11C-D).

Estômatos: são frequentes em ambas as faces (anfiestomáticas), porém o acesso 1010 ($2n=60$) apresenta estômatos somente na região terminal dos bordos. Estes estão nivelados com as demais células epidérmicas (Fig. 2B-F, 6C e 8B), ou acima das demais células (Fig. 3D, 5D e 9C-D). Todas os acessos apresentam câmara subestomática.

Macrotricomas: ocorrem em abundância em oito acessos (Fig. 3, 5, 7, 8 e 9), são longos, médios e unicelulares; a maioria é do tipo “cushion hair”.

Células silicificadas: estão presentes na região costal e são menores em comparação às demais células epidérmicas comuns.

Espinhas e microtricomas: são observados com maior frequência na região da nervura principal e próximo aos bordos (Fig. 2E, 10C e 11D).

5.1.2.2. Superfície abaxial - semelhante à face adaxial, exceto por ondulações presentes nos acessos 1012, 1031, 1019 e 14306 e células epidérmicas comuns que apresentam formato arredondado e tabular, são maiores em comparação à face adaxial, com paredes espessadas (Fig. 4B, 9A, 10B-C e 11D) e no acesso 1010 a maioria das células epidérmicas são papilosas.

Mesofilo: homogêneo, formado por parênquima clorofiliano do tipo raquimorfo e parênquima incolor na região da nervura central (Fig. 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8).

Parênquima clorofiliano: possui uma camada de células, disposta radialmente aos feixes vasculares (Fig. 2C, 3C, 4C), são alongadas radialmente com paredes delgadas. No acesso 1010 ($2n=60$) as células são mais estreitas em comparação com as demais.

Fibras: ocorrem nas duas faces ou apenas na face adaxial; formam calotas ou cordões contínuos ou descontínuos (Fig. 2B), são isodiamétricas, de paredes densamente espessadas; próximo a região das nervuras primárias e secundárias, observa-se 1-2 camadas na face adaxial e 2-3 na face abaxial.

Sistema vascular: ocorrem feixes vasculares de 1ª a 3ª ordens colaterais (Fig. 3B-D). Os feixes vasculares de 1ª ordens estão equidistantes (Fig. 2B, 3D, 4B, 4D e 8D) ou próximos a face adaxial e possuem formato elíptico, circular ou oval (Fig. 5D, 6D e 7D). Os feixes vasculares de 2ª ordem estão equidistantes (Fig. 2B, 7B, D e F, 8D). Os feixes vasculares de 3ª ordem estão mais próximos da face abaxial e são circulares (Fig 2B).

Feixes vasculares de 1ª ordem: ocorrem entre 7-9 em toda a lâmina foliar e possuem de 2-3 elementos de metaxilema (Fig. 2C).

Feixes vasculares de 2ª ordem: variam de 4-6 (Fig 1) e os *de 3ª ordem* variam de 15 - 33, e estes são caracterizados pelo xilema e floema indistinguíveis (Fig. 4A-B e 5A-B).

Bainha do feixe: única, completa e composta por 15-20 células parenquimáticas, de formato irregular e parede espessada nos feixes de 1ª ordem; os feixes de 2ª ordem apresentam de 9-12, e os de 3ª ordem entre 4-6. No intervalo entre dois feixes de 1ª ordem ocorre de 1-2 feixes vasculares de 2ª ordem e 4-7 de 3ª ordem (Fig. 2B, 3C, 4B-E).

Extensão da bainha de feixe: parenquimática somente nos feixes de 1ª ordem, em ambas às faces ou só para face abaxial (Fig. 2C-F).

Distância intervenal: a distância intervenal é de 2 células de parênquima radial (Fig. 2B).

Nervura principal: é evidente, apresenta formato plano-convexo (Fig. 1F, H, J e M) e côncavo-convexo com presença de parênquima incolor mais desenvolvido voltado para face adaxial (Fig. 1A, B, C, D, E, G, I, K e L). Sistema vascular simples, com 1 feixe vascular de

1ª ordem, 2 feixes de 2ª ordem e 6-12 feixes de 3ª ordem. O feixe vascular de 1ª ordem está localizado próximo a face abaxial, possui formato arredondado e elíptico, 2 elementos de metaxilema e 2-3 de protoxilema (Fig. 5B-D); a bainha é única, completa, composta por células parenquimáticas com espessamento em “U” (Fig. 5B) ou interrompida por células esclerenquimáticas, com extensão de bainha com 2-3 camadas de células esclerenquimáticas para face abaxial. Os feixes vasculares de 3ª ordem tem formato circular, a bainha é completa, parenquimática e composta por 4-8 células sem extensão de bainha.

Bordos: podem ser iguais (Fig. 1A, I e J) ou diferentes em seu formato (Fig. 1B, C, D, E, F, G, H, K, L e M), ambos ou somente um (Fig. 1B-D) voltados para face adaxial (involutos). Ambos são constituídos por um feixe vascular de 2ª ordem e 4-5 feixes de 3ª ordens. Ocorrem fibras que formam calotas, cordões contínuos (Fig. 3D, 4B, 9D e 10F) ou descontínuos (Fig. 2B).

5.1.3. Vista frontal

5.1.3.1. Superfície adaxial : apresentam zona costal e intercostal distintas (Fig. 12A)

Na zona costal observam-se células longas, células silicificadas, células suberosas, macrotricomas e espinhos. Na zona intercostal notam-se células longas, células buliformes, macrotricomas, ganchos e espinhos.

5.1.3.1.1. Zona costal:

Células longas: são tabulares e podem apresentar sinuosidades (Fig. 13C-E), em alguns acessos essas células são longas e papilosas (Fig. 6E, 13E, 17A, 15D-F, 16F) No acesso 1010 observa-se uma papila em cada extremidade da célula (Fig. 18A).

Células silicificadas: são do tipo nodulares e halteriformes geralmente em longas fileiras (Fig. 8E e 12C), e cruciformes (Fig. 15C).

Células suberosas: são curtas e estreitas e podem estar em pares com as células silicificadas (Fig. 3F).

Macrotricomas: são unicelulares (Fig. 12A), com base larga e paredes espessas, em sua maioria são do tipo almofada ”cushion- hair” (Fig. 8E)

Espinhos: ocorrem entre as células longas e também podem ocorrer entre as células buliformes (Fig. 6E, 12A e 13C) possuem base larga e extremidade pontiaguda.

5.1.3.1.2. Zona Intercostal:

Células longas: são pouco frequentes pois ocorrem em sua maioria células buliformes (Fig. 12D e 13A).

Células buliformes: são abundantes e papilosas. Observa-se macrotricomas do tipo “cushion- hair” entre elas (Fig. 6E, 8E, 13C, 13E, 14C).

Estômatos: ocorrem entre as células buliformes (Fig. 12A). As células guarda são em forma de halter e as subsidiárias possuem formato triangular ou em cúpula (Fig. 12A-D, 13C). No acesso 1012 e 985 observam-se papilas, uma em cada extremidade das células subsidiárias, detalhe que pode ser visto melhor em microscopia eletrônica de varredura (MEV) (Fig. 15F e 17A).

Macrotricomas: são unicelulares longos (Fig.12A) podem estar entre duas células longas (Fig. 13C) ou entre as células buliformes (Fig.14A-E).

Células silicificadas: são do tipo selim ou altas e estreitas (Fig.13C-D).

Células suberosas: possuem o mesmo formato das células silicificadas estreitas (Fig. 12C).

5.1.3.2. Superfície abaxial: semelhante à superfície adaxial, exceto por:

Células silicificadas: formato halteriforme (Fig. 8F e 12C) e nodulares em longas fileiras (Fig. 14A-C) e crescente em forma de meia lua (Fig.13F).

Macrotricomas: bicelulares com ápice pontiagudo e estão entre as células longas (Fig. 13D).

Macrotricomas: são unicelulares longos e médios, de base larga e apice estreito (Fig. 8F, 12D, 13B e 18C), abundantes (Fig. 8F, 12D, 13B e 14D) ou raros (Fig. 3F, 6F, 12F, 13D e 14F). Podem ser também do tipo “cushion hair” (Fig. 6F e 14F).

Ganchos: estão próximos aos espinhos e possuem base larga (Fig. 18B)

Espinhos: estão presentes entre as células longas costais em todos os acessos, diferenciando somente em quantidade: abundantes (Fig. 6F, 8F, 13B) ou raros (Fig. 12E-F).

Zona intercostal: apresentam células longas, células curtas, silicificadas, células suberosas aos pares estômatos, tricomas, ganchos e espinhos (Fig. 6F).

Estômatos: ocorrem em maior ou em menor frequência (Fig. 14B-D)

(Fig. 3F e 6F). O formato das células subsidiárias variam em triangular (Fig. 12E- F, 13D-F e 14B) ou em cúpula (Fig. 3F, 6F, 8F e 12E).

Células silicificadas: formato alto e estreito (Fig. 12F), halteriforme e crescente em meia lua (Fig. 14).

Células suberosas: são altas e estreitas (Fig. 12F) possuem formato arredondado (Fig. 3F) ou crescente em meia lua (Fig. 12F).

Macrotricomas: são longos e estão entre as células longas (Fig. 6F, 8F, 13B 14D e 18C) e também podem ser do tipo “Cushion hair” (Fig.14F)

Ganchos: são compridos, pouco frequentes e possuem base larga (Fig. 8F).

Espinhos: ocorrem com maior frequência e tem base larga e ápice estreito e agudo (Fig. 6F, 8F, 12F e 18D).

5.1.3 Análise de dados quantitativos

De acordo com a análise de dados quantitativos das 10 variáveis anatômicas da lâmina foliar nos 13 acessos de *P. stellatum* todas apresentaram diferenças significativas. Essas variáveis foram também comparadas quanto ao citótipo e ambiente.

Em relação a variável espessura total da lâmina foliar o acesso 1012 apresentou maior espessura e o acesso 1010 a menor, em relação aos citótipos $2n=48$ possui a maior espessura e $2n=60$ a menor; os citótipos $2n=20$ só foram semelhantes ao de $2n=32$ (Fig. 20A -B). Quanto ao ambiente, houve diferença significativa, os acessos de ambiente seco exibiram maior espessura em comparação aos de ambiente úmido (Fig. 20C).

Observou-se diferenças na variável espessura do mesofilo. Os acesso 259 e 1010 se destacaram com maior e menor espessura, respectivamente. Quando comparados os diferentes citótipos destacaram-se os de $2n=48$ e $2n=60$ com maior e menor espessura, respectivamente (Fig. 20D-E). Para esta variável o ambiente seco teve maior espessura do que o ambiente úmido (Fig. 20F).

Na variável altura do parênquima incolor na nervura principal o acesso 985 apresentou a maior altura e o 255 menor. Em relação aos citótipos observou-se que o de $2n=48$ e $2n=32$ exibiram maior altura e $2n=44$ a menor. Quanto ao ambiente, foi observado que os acessos de ambiente úmido mostraram maior espessura em comparação aos de ambiente seco.

Em relação a variável espessura total da nervura principal o acesso 985 foi o que apresentou maior diferença em comparação aos demais. Ao observarmos os citótipos vimos que $2n=48$ foi o que se destacou em relação aos demais com maior espessura e $2n=44$ com menor espessura (Fig. 21D-E). Não houveram diferenças significativas em relação ao ambiente (Fig. 21F).

Houve diferenças em relação a variável altura das células buliformes, destacando o acesso 1012 e 1010, que apresentaram maior e menor altura, respectivamente. Quanto ao citótipo, destacaram-se o de $2n=48$ com maior altura e o de $2n=60$ com menor. Em relação ao ambiente houve diferença significativa, acessos de ambiente úmido possuem células buliformes menores em comparação aos de ambiente seco (Fig. 22A, B e C).

Em relação a variável largura das células buliformes, observou-se que os acessos 255, 259 e 933 se destacaram com maior largura e 1010 menor. Os citótipos $2n=44$ e $2n=48$

expressaram maior largura e $2n=60$ menor. Quanto ao ambiente não houve diferenças significativas.

Quanto a variável altura de esclerênquima próximo à face abaxial, o acesso 259 apresentou-se maior e o acesso 1010 menor. Quanto ao número cromossômico, o citótipo que se destacou foi o de $2n=44$ e $2n=48$ com maior altura e $2n=60$ com menor (Fig. 23A-B). Já em relação ao ambiente houve diferenças significativas, nota-se que as plantas de ambiente seco possuem maior altura de esclerênquima em relação às de ambiente úmido (Fig.23C).

Em relação à variável área total do feixe vascular de primeira ordem se destaca o acesso 1012 com maior área e 1010 com menor. Quanto aos citótipos também mostraram diferenças significativas, destacando-se $2n=48$ com maior área e $2n=60$ com menor. Em relação ao ambiente, os acessos de ambiente úmido apresentaram menor área (Fig. 23D-F).

O complexo estomático mostrou-se diferente em relação à altura entre os acessos. Os acessos 255, 973 e 1019 apresentaram estômatos mais altos e o acesso 1010 menor altura. Entre os citótipos destacaram-se com maior altura $2n=20$, $2n=44$ e $2n=52$; e o citótipo $2n=60$ com menor altura (Fig.24A-B). Não houve diferenças em relação ao ambiente (Fig. 24C).

A variável largura do complexo estomático também mostrou diferenças entre os acessos, 937 e 973 são mais largos e o acesso 1010 o mais estreito. Os citótipos $2n=48$ e $2n=52$ apresentaram maior largura e o $2n=60$ menor largura (Fig. 24D-E). Em relação ao ambiente, as plantas de ambiente seco apresentaram maior largura em relação às de ambiente úmido (Fig. 24F).

Através da análise de agrupamento (UPGMA) de similaridade, observamos que alguns acessos com o mesmo número cromossômico ficaram bem próximos, por exemplo $2n=20$, os dois acessos de $2n=44$ e $2n=32$. O acesso de número cromossômico $2n=60$ apresentou-se distante de todas as demais.

Esta análise demonstrou também que o acesso 255 ficou distantes das outras duas de mesmo citótipo ($2n=44$); e que os acessos $2n=52$ ficaram em grupos separados.

Através da análise de componentes principais (PCA-Fig.25) dos dados quantitativos das variáveis podemos concluir que o Eixo 1 da PCA explicou 82,61% , enquanto que o eixo 2 apenas 10,05%. No eixo 1 as variáveis de maior influência foram: espessura do mesofilo e largura do complexo estomático. No eixo 2 as variáveis de maior influência foram: espessura total da lâmina foliar e altura das células buliformes.

6. DISCUSSÃO

O formato da lâmina foliar em secção transversal variou entre os acessos, predominando o formato linear em seis acessos, o formato em U em quatro acessos, convoluto em dois acessos e V aberto apenas em um acesso. Ocorreram também diferenças entre os acessos com o mesmo citótipo, como, por exemplo, 2n=20, onde se tem o formato linear e em U; 2n=44, com formato em V e convoluto; e, 2n=52, linear e em U.

Assim, foi possível verificar algumas diferenças quando da comparação do formato com o local de ocorrência. Os acessos que apresentaram lâminas abertas e expandidas foram: 973, 985, 1012 e 14306, que ocorrem em ambiente seco; e, 933 e 990, de ambiente úmido. Tal variação também se deu no trabalho de Aliscioni (2000), onde algumas plantas, apesar de estarem em ambiente secos e pedregosos, continuaram com sua lâmina expandida, e outras, apesar de estarem em ambiente úmido, apresentaram a lamina foliar em formato convoluto ou em “U” – uma proteção para evitar possíveis danos ocasionados pelas gotas de água em sua lâmina foliar – conforme observado nos acessos 1010, 1019 e 1031, todos de ambiente úmido e formato em U.

Aliscioni (2000) observou que as espécies de *Paspalum* que ocorriam em ambientes secos apresentaram redução e enrolamento da lâmina foliar – estratégia esta utilizada para evitar perda de água. Neste sentido, é possível relacionar com os acessos 255, 259, 1023 e 937, todos ocorrentes em ambiente seco, apresentando formato em “V” amplamente aberto, convoluto e em U. O formato em “V” amplamente aberto no acesso 255, também foi observado em *P. ellipticum* Döll, *P. proximum* Mez, e *P. procurrens* Quarín (Türpe 1966; Morrone *et al.* 2000).

Os acessos 937, 1010, 1019 e 1031, apresentaram formato em “U”, bem como em *P. bertonii* Hackel (Türpe 1966; Ellis 1976; Aliscioni 2000).

Alguns acessos (973, 985 e 14306) apresentaram sulcos na face adaxial – todos de ambientes secos. Tal detalhe foi observado por alguns autores, que relacionaram com condições ecológicas, considerando a situação um caracter xeromórfico (Ellis 1976; Aliscioni 2000). No acesso 985, ocorrem estômatos, algumas vezes protegidos por papilas. O mesmo se dá nas ondulações presentes na face abaxial do acesso 1012. A presença de estômatos naquelas regiões foi relatada por Aliscioni (2000) em *Paspalum*.

As plantas de ambientes secos e que estão submetidas a um estresse hídrico apresentam maior espessura da lâmina foliar (Dickison 2000). Sobre tal questão, no presente estudo, o ambiente também influenciou, onde foi possível observar que os acessos de

ambiente seco apresentaram maior espessura em sete das dez variáveis, quando comparados com os de ambiente úmido.

Algumas gramíneas submetidas ao déficit hídrico tem respostas morfoanatômicas nas folhas. Estas apresentam na epiderme da lâmina foliar células epidérmicas especializadas (células buliformes) que ajudam a promover o enrolamento da folha, auxiliando na diminuição da transpiração foliar. Neste sentido, a parte superior forma uma barreira de proteção para limitar a perda de água (Dickison 2000). A maioria dos acessos apontados no presente estudo, apresentaram células grandes, em grupos definidos em quase toda a extensão da epiderme adaxial, com exceção do acesso 1010, que estatisticamente difere dos demais apresentando a menor altura e largura das células buliformes.

Ellis (1976) destaca que o formato e distribuição das células buliformes são importantes para a taxonomia em Poaceae, pois podem auxiliar na separação de alguns grupos, principalmente em bambos. Nos acessos estudados, este tipo celular destaca-se pela quantidade ocupada no mesofilo – acima de 50% –, bem como pela presença de papilas, podendo ser considerada uma característica da espécie.

Em *Paspalum*, a maioria das espécies são anfiestomáticas – os estômatos são mais frequentes na face abaxial nas espécies que apresentam lâminas expandidas, corroborando as observações de Aliscioni (2000). Salienta-se que no acesso 1010 com formato em U, os estômatos na face adaxial somente se dão nos bordos, que exibem as menores medidas quanto a largura e altura do complexo estomático. Provavelmente, a ocorrência somente nos bordos seja devido ao formato da lâmina foliar e o ambiente úmido, além de diferir estatisticamente dos demais quanto à espessura total da lâmina e espessura do mesofilo.

Echarte *et al.* (1992), estudando 51 clones de *P. distichum*, oriundos de Buenos Aires, Argentina, encontraram em sua maioria (75%), com número cromossômico igual a 60, 8% com $2n=40$ e $2n=50$; e ainda, os caracteres morfológicos analisados que permitiram separar os clones, foram comprimento das lâminas foliares e área total da bainha ao redor dos feixes primários e secundários. Já Guma *et al.* (1995) compararam a anatomia foliar entre os diferentes citótipos de *P. distichum*; determinaram quatorze caracteres (qualitativos e quantitativos) para a construção de uma matriz de similaridade, e as características mais marcantes foram: a presença de papilas, o comprimento das células longas, os números de células curtas na zona intercostal, a disposição das células curtas intercostais e a largura do complexo estomático. Em *P. stellatum*, entre as dez variáveis analisadas, aquelas que permitiram separar os diferentes citótipos foram: a espessura do mesofilo, a largura do complexo estomático, a espessura total da lamina foliar e a altura das células buliformes.

Aliscioni (2000) relaciona o tamanho e a ocorrência dos estômatos com o ambiente – plantas que ocorrem em ambientes úmidos e com bastante sombra tem estômatos maiores. Entretanto, no presente estudo, o ambiente não teve influência na altura do complexo estomático, mas teve influência em relação à largura, onde as plantas de ambiente seco apresentaram-se maiores. Na comparação entre os citótipos de *P. stellatum*, destacou-se $2n=60$ (ambiente úmido), onde grande parte da epiderme abaxial é composta por papilas e estômatos, mas o tamanho do complexo estomático é inferior quando comparado aos demais citótipos. Entretanto, a densidade é maior.

Por outro lado, Türpe (1966) aponta a existência de uma relação importante entre o número cromossômico e o comprimento dos estômatos em ambas as faces. Portanto, não foi possível apontar a mesma relação, tendo em vista a ampla variação entre os diferentes citótipos.

Sugiyama (2005), ao realizar um estudo com *Lolium multiflorum* diplóides e tetraplóides, observou que o comprimento de células da epiderme e no mesofilo era maior nas cultivares tetraplóides – fato que se deu devido aos efeitos de poliploidia sobre os mecanismos de alongamento celular. No entanto, a epiderme mostrou ser mais variável que o mesofilo. Neste sentido, segundo aquele autor, a poliploidia aumenta a espessura da folha através do aumento da taxa de alongamento das células, mas, para melhor entendimento, é preciso um estudo mais detalhado sobre os processos celulares do crescimento do órgão. No presente estudo, com *P. stellatum*, as plantas poliploides $2n=44$ e $2n=48$, apresentaram maior espessura no mesofilo e maior largura do complexo estomático – características separadas de acordo com a PCA, com 82,63%.

A presença e quantidade de macrotricomas estão relacionadas com o ambiente, tendo em vista que tais estruturas tem grande importância em ambientes com alta incidência solar e com ventos fortes – detalhe observado nos acessos 259, 1023, 973, 1012 e 14306, de ambiente seco; porém, algumas plantas hidrófitas também podem apresentar grandes quantidades por proteção mecânica – o que também se observou em 990, 1010 e 1031, de ambiente úmido, corroborando Ellis (1979) e Aliscioni (2000).

Portanto, em *P. stellatum*, a ocorrência de macrotricomas abundantes nos dois tipos de ambiente pode estar relacionada à variação que se dá entre os indivíduos de uma mesma espécie, conforme Aliscioni (2000), ao relatar que tais caracteres não podem ser utilizados como diagnósticos para separar as espécies, pois foi observado algumas variações em indivíduos de uma mesma espécie sendo assim considerado como caracter polimorfo.

Em todos os acessos, as células silicificadas encontram-se em ambas as faces; entretanto, diferem quanto ao formato e distribuição nas zonas.

Na face adaxial na zona costal predominou o formato nodular em longas fileiras, em dez acessos; exceto para 1019, 933 e 973 (todos de ambiente úmido), onde não foram observadas. O formato halteriforme se deu nos acessos 985, 14306, 255 e 1012 (ambiente seco) e 990 e 1010 (ambiente úmido); já o formato cruciforme ocorreu apenas em 985, 255 e 1023 (ambiente seco) e 1010 (ambiente úmido). Na zona intercostal, somente o acesso 1010 exibiu células silicificadas, sendo estas halteriformes e nodulares em longas fileiras.

Na zona costal da face abaxial, todos exibem o formato crescente em meia lua, e na zona intercostal, além deste, tem-se o formato alto e estreito em longas fileiras nos acessos 255, 259 e 1012 (ambiente seco) e 990 e 1010 (ambiente úmido). Vale ressaltar que no acesso 1010, além dos formatos supramencionados, ocorre o halteriforme. Assim, o único acesso que apresenta células silicificadas em ambas as faces, em ambas as zonas e em todos os formatos, foi o acesso 1010 (ambiente úmido). Segundo Türpe (1966), em *Paspalum*, as células silicificadas de formatos halteriforme, nodular e cruciforme são comuns. Entretanto, outros formatos foram observados no presente estudo. Devido às diferenças observadas nos acessos, não foi possível correlacionar o formato das células silicificadas com os diferentes citótipos e o ambiente.

Em *P. distichum*, foi encontrado variabilidade morfológica atribuída por heteroploidia e diferenças fenotípicas entre os clones com o mesmo número cromossômico, apontando que as diferenças no tamanho e forma das plantas não são somente determinadas pelo ambiente, mas também por causas genéticas (Echarte *et al.* 1992). Tal fato foi observado no presente estudo, onde o acesso 255 ($2n=44$), por exemplo, mostrou-se diferente em relação aos outros dois de mesmo citótipo, além de exibirem diferenças entre os acessos poliploides em relação aos acessos diplóides. O mesmo foi observado em *Paspalum simplex*, onde se verificou que os acessos diplóides tem maior diversidade morfológica quando comparado com tetraplóides (Brugnoli *et al.* 2013).

O mesofilo em todos os acessos é homogêneo, composto por parênquima radial do tipo raquimorfo. Circundando os feixes vasculares, tem-se uma única bainha parenquimática contendo cloroplastos, caracterizando anatomia Kranz (C_4) – característica comum ao gênero, conforme descrito por Türpe (1966), Aliscioni & Denham (2009) e Morrone *et al.* (2000). As fibras voltadas para a face abaxial na região do mesofilo são separadas por algumas células de parênquima incolor, bem como em *P. ellipticum* Döll. e *P. vaginatum* Sw., descritas no trabalho de Türpe (1966).

Os feixes vasculares de 1^a, 2^a e 3^a ordens são encontrados em várias espécies de gramíneas, podendo variar o número de bainha que os envolve (Ellis 1976). Graciano-Ribeiro *et al.* (2010), ao estudarem algumas espécies de *Olyra* L. (Bambusoideae), encontraram feixes de 1^a a 3^a ordens, porém, todas as bainhas eram duplas, sendo a interna composta por células esclerenquimáticas e, a externa, por célula parenquimática. Em *Paspalum*, a bainha dos feixes é composta por uma única camada de células parenquimáticas (Aliscioni 2000) – fato confirmado nos acessos de *P. stellatum*.

Guglieri *et al.* (2008) realizaram estudos anatômicos com a lâmina foliar de *Panicum mucronulatum* Mez, e observaram a nervura central evidente preenchida por parênquima incolor, associando tais células como promotoras do deslocamento do feixe vascular central para a face abaxial. Oliveira *et al.* (2008) classificaram a disposição celular na nervura central como em maior ou menor grau – fato também observado no presente estudo, com destaque para os citótipos 2n=48 e 60, que exibiram maior porcentagem de células de parênquima incolor na NP (o citótipo 2n=48 apresentou diferenças significativas na maioria das variáveis quantitativas).

A variação encontrada nos treze acessos de *P. stellatum* quanto ao formato dos bordos também foi relatada nas lâminas foliares de *P. arundinellum* Mez e *P. cerasia* (Kuntze) Chase (Türpe 1966), onde os bordos variam em agudos e elíptico com ápice curto.

Rosito & Marchezan (2003) descreveram a anatomia da epiderme foliar em espécies de gramíneas forrageiras, entre as quais, a *Paspalum urvillei* Steud. Os caracteres utilizados para análise das espécies se deram em relação à ocorrência e densidade de estômatos, formato das células guarda, células subsidiárias paralelas, células silicificadas, presença ou ausência de papilas, microtricomas e macrotricomas, células intercostais curtas e células intercostais longas. Tais características foram adotadas por aqueles autores, por serem estruturas de fácil observação e ocorrência.

Em *P. stellatum*, há de se destacar: o formato das células epidérmicas, as células buliformes abundantes e em leque, os macrotricomas do tipo “cushion-hair”, os estômatos presentes entre as células buliformes, a presença de câmara subestomática, parênquima incolor na nervura principal, os espinhos na região do bordo, e célula silicificada crescente em forma de meia lua na zona intercostal da face abaxial. Entretanto, apenas os dados quantitativos permitiram separar os citótipos e, dos dez analisados, apenas quatro foram mais discriminantes.

7. CONCLUSÃO

Os treze acessos estudados de *P. stellatum* apresentam características anatômicas comuns ao gênero, tais como: ocorrência de estômatos em ambas as faces (anfiestomática), parênquima radial circundando os feixes vasculares, bainha do feixe única e composta por células parênquimáticas, e feixes vasculares de primeira, segunda e terceira ordem.

Como características comuns à espécie, têm-se: células buliformes com papilas, células buliformes abundantes e em leque, macrotricomas do tipo “*cushion-hair*”, estômatos entre as células buliformes, presença de câmara subestomática, parênquima incolor na nervura principal, espinhos na região do bordo, célula silicificada crescente em forma de meia lua na zona intercostal da face abaxial.

Os acessos também variaram de acordo com o citótipo, sendo que o de $2n=60$ foi o que apresentou maior diferença em relação aos demais, mostrando-se menor em relação às medidas de células e tecidos, e também o único com uma fileira de estômatos na região do bordo na face adaxial. Os citótipos poliploides, em geral, exibiram maior espessura, tamanho e altura nas diferentes variáveis.

Todas as características supramencionadas apontam que a espécie tem diferenças significativas entre os diferentes níveis de ploidia, e que algumas características são influenciadas pelo ambiente em que estas ocorrem, como, por exemplo, a variação no formato da lâmina foliar, e a ocorrência e frequência de estômatos e macrotricomas. Em relação às variáveis quantitativas, os acessos de ambientes secos apresentaram maiores valores na espessura da lâmina foliar; na espessura do mesofilo; na altura das células buliformes; altura de esclerênquima; área total do feixe vascular de primeira ordem; e, maior largura do complexo estomático, enquanto que o ambiente úmido influenciou apenas na altura do parênquima incolor na nervura principal.

Tabela 1. Lista de acessos estudados de *Paspalum stellatum*

Número cromossômico	Localidade	Coordenadas Lat/Long	Coletor	Número	Ambiente
		15.463778			
2n= 20	Chapada dos Guimarães Cuiabá, Mato Grosso, Brasil	56.050528 WGS84	Rua, G.H.; Bonasora, M.G.; Silva, A.S. & Mendes, V.C	990	úmido
		14.411917			
2n= 20	Nova Xavantina e Água Boa Mato Grosso, Brasil	52.227778 WGS84	Rua, G.H.; Bonasora, M.G.; Silva, A.S.; Mendes, V.C.	1019	úmido
		15.543722			
2n= 30	Distrito Federal, Brasil	47.834556 WGS84	Rua, G.H.; Oliveira, R.C. & Bonasora, M.G	1031	úmido
		15.454889			
2n= 32	Cuiabá, Mato Grosso, Brasil	56.167361 WGS84	Rua, G.H.; Bonasora, M.G.; Silva, A.S. & Mendes, V.C	985	seco
		30.239722			
2n= 32	Rosário do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil	54.794722 WGS84	J. F. M. Valls; S. T. S. Miotto; B. E. Irgang, L. R. M. Baptista; A. M. Carneiro	14306	seco
		14.062056			
2n= 44	Alto Paraíso-Goiás, Brasil	47.503778 WGS84	Silva, A.S.; Oliveira, R.C. & Bonasora, M.G	255	seco

Tabela 1 (cont). Lista de acessos estudados de *Paspalum stellatum*

Número cromossômico	Localidade	Coordenadas Lat/Long	Coletor	Número	Ambiente
2n= 44	Alto Paraíso-Goiás, Brasil	14.141056 47.662472 WGS84	Silva, A.S.; Oliveira, R.C.; Bonasora, M.G.	259	seco
2n= 44	Distrito Federal, Brasil	15.544222 47.834722 WGS84	Rua, G.H.; Bonasora, M.G.; Silva, A.S.; Mendes, V.C	1023	seco
2n= 48	Araguaia, Mato Grosso, Brasil	16.043389 52.374806 WGS84	Rua, G.H.; Bonasora, M.G.; Silva, A.S.; Mendes, V.C.	1012	seco
2n= 52	Acreúna, Goiás, Brasil	17.406833 50.402889 WGS84	Rua, G.H.; Bonasora, M.G.; Silva, A.S.; Mendes, V.C.	933	úmido
2n= 52	Acreúna, Goiás, Brasil	17.407111 50.403639 WGS84	Rua, G.H.; Bonasora, M.G.; Silva, A.S.; Mendes, V.C	937	seco
2n= 52	Cáceres, Porto Estrela, Mato Grosso, Brasil	15.666056 57.272833 WGS84	Rua, G.H.; Bonasora, M.G.; Silva, A.S.; Mendes, V.C	973	seco
2n= 60	Araguaia, Mato Grosso, Brasil	16.042806 52.374333 WGS84	Rua, G.H.; Bonasora, M.G.; Silva, A.S.; Mendes, V.C.	1010	úmido

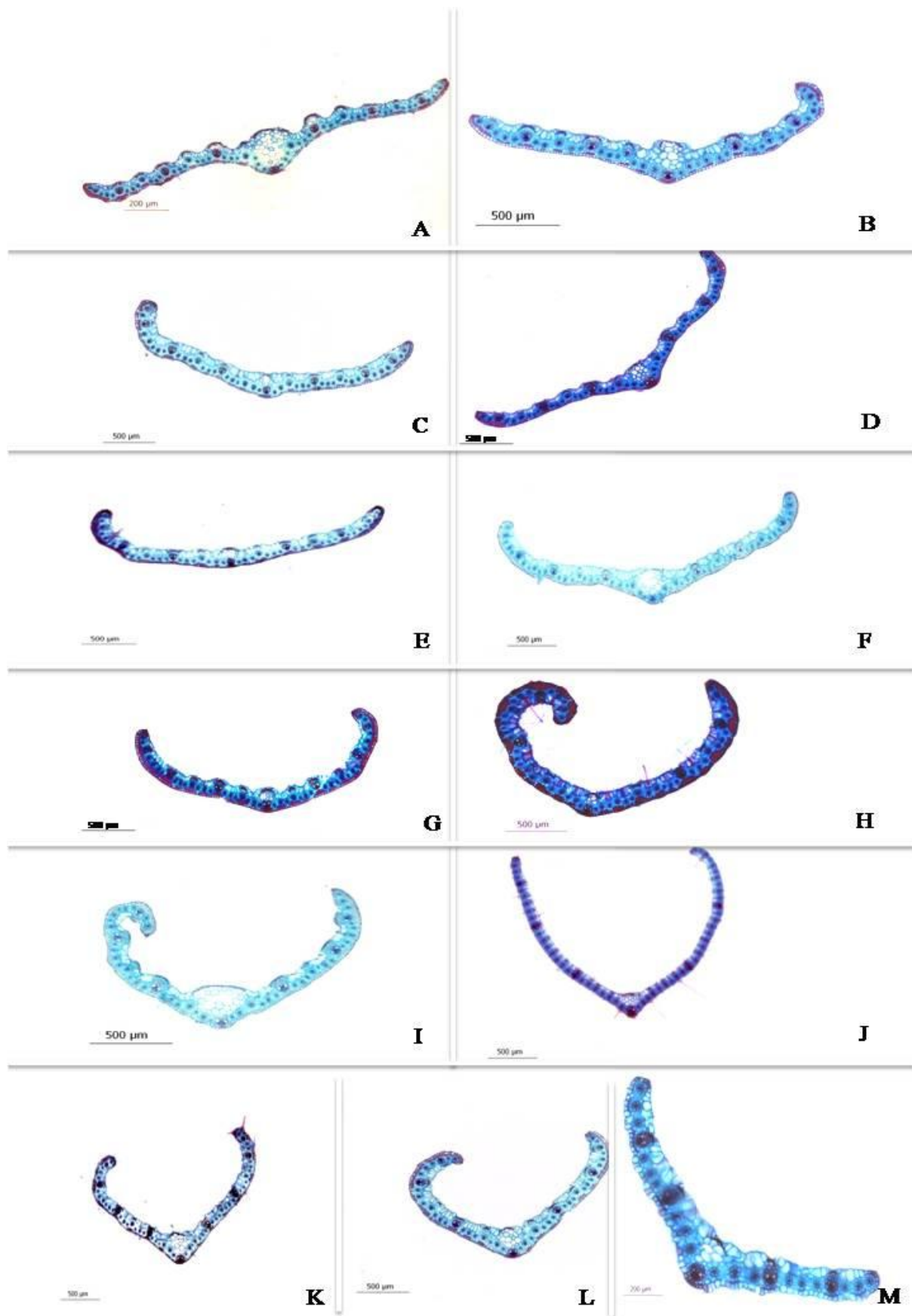


Figura 1. Formato da lâmina foliar dos acessos de *P. stellatum*. Linear aberto nos acessos 985, 990, 933, 14306, 1012 e 973 (A, B, C, D, E e F); Formato convoluto 1023 e 259 (G e H); Formato em “U” 1019, 1010, 937 e 1031 (I, J, K e L); Formato em “V” aberto no acesso 255 (M).

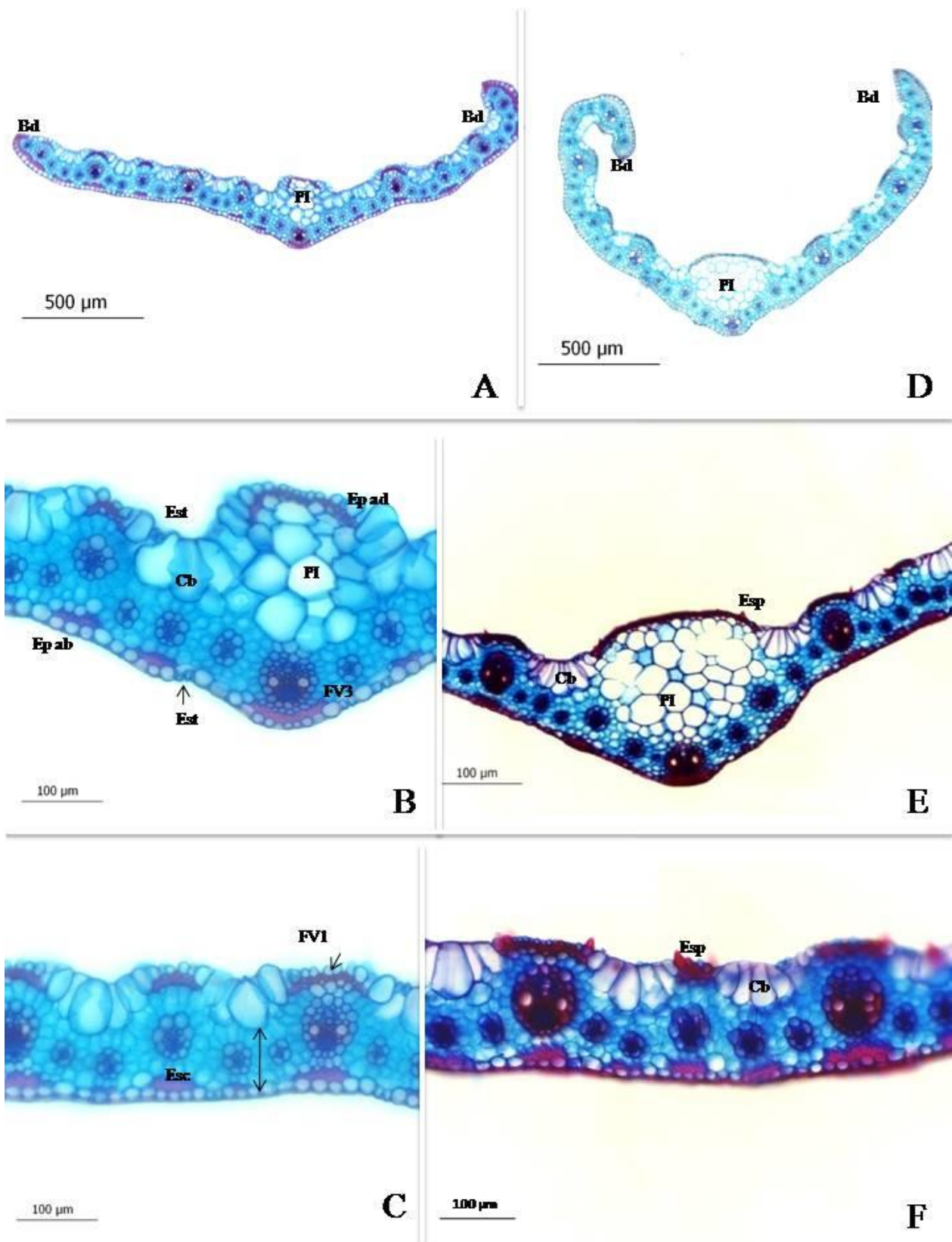


Figura 2. Aspecto geral em secção transversal e detalhe da nervura principal e ala dos acessos diplóides ($2n=20$). 990 (A, B e C) e 1019 (D, E e F). Bordo (Bd); Células buliformes (Cb); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Espinho (Esp); Estômato (Est); Feixe vascular de primeira ordem (FV1); Feixe vascular de terceira ordem (FV3); Mesofilo (↕) e Parênquima incolor (PI).

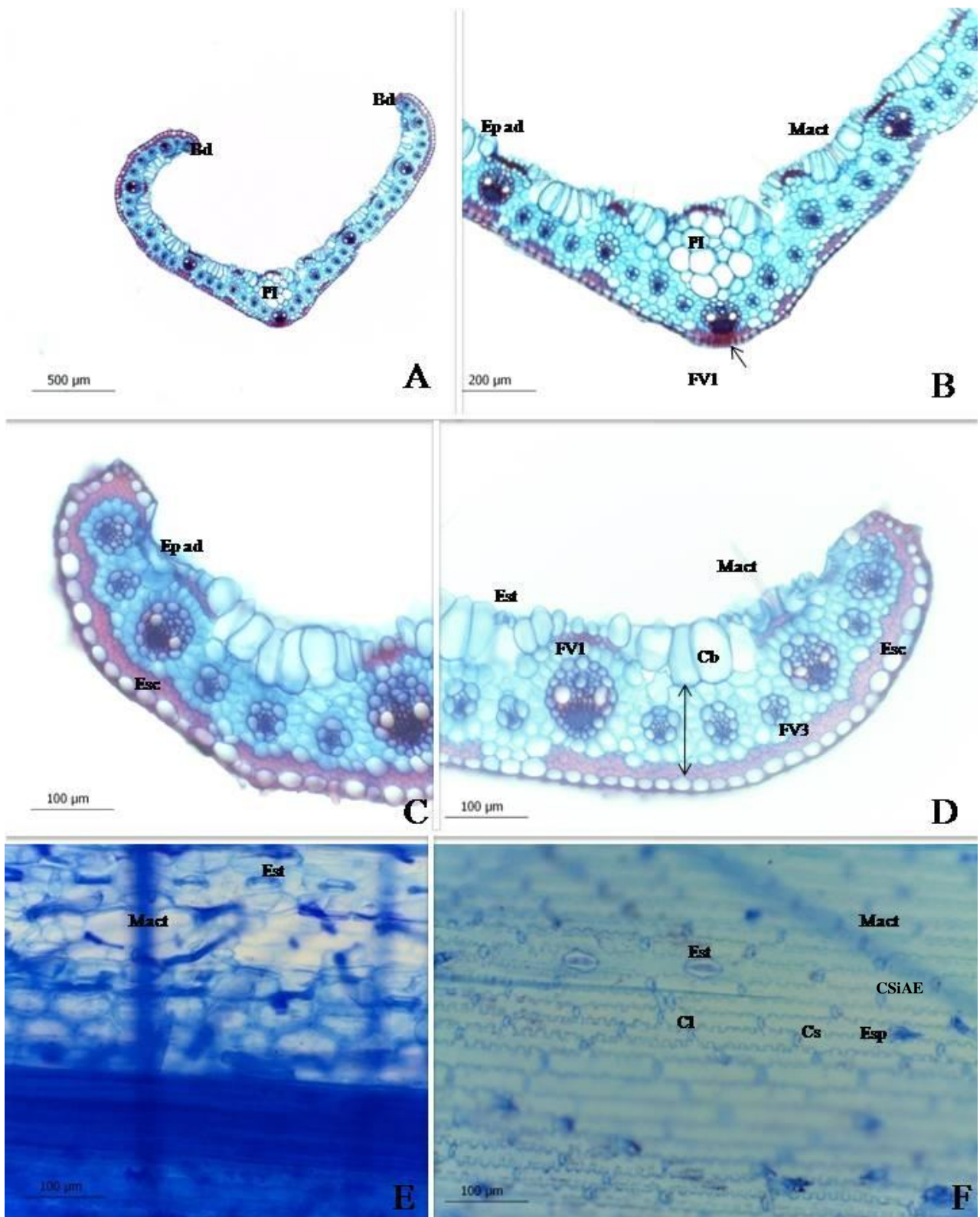


Figura 3. Acesso 1031 ($2n=30$). Secção transversal (A-D) - Aspecto geral (A), detalhe da nervura principal e bordo (B-D). Vista frontal (E e F) - Face adaxial (E) e face abaxial (F). Bordo (Bd); Células buliformes (Cb); Célula longa (CL); Célula Silicificada Alta e estreita (CSiAE); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Espinho (Esp); Estômato (Est); Feixe vascular de primeira ordem (FV1); Feixe vascular de segunda ordem (FV2); Feixe vascular de terceira ordem (FV3); Macrotricoma (Mact); Mesofilo (↕); Parênquima incolor (PI).

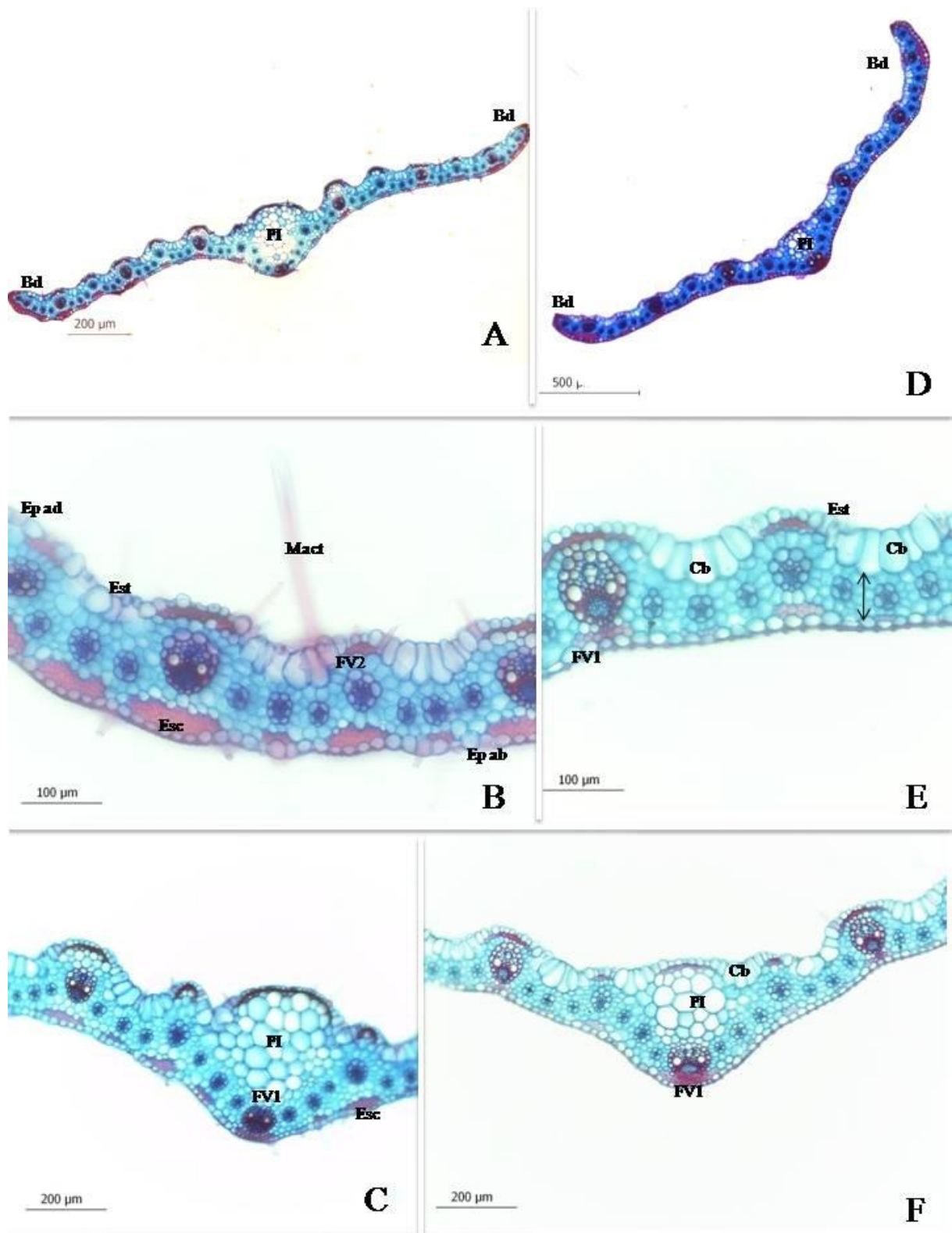


Figura 4. Aspecto geral, detalhe da nervura principal e região da ala dos acessos 985 (A, B, C) e 14306 (D, E e F) ($2n=32$) em secção transversal. Células buliformes (Cb); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Espinho (Esp); Estômato (Est); Feixe vascular de primeira ordem (Fv 1ª ord); Feixe vascular de terceira ordem (Fv 3ª ord); Macrotricoma (Mact); Mesófilo (↕); Parênquima incolor (PI).

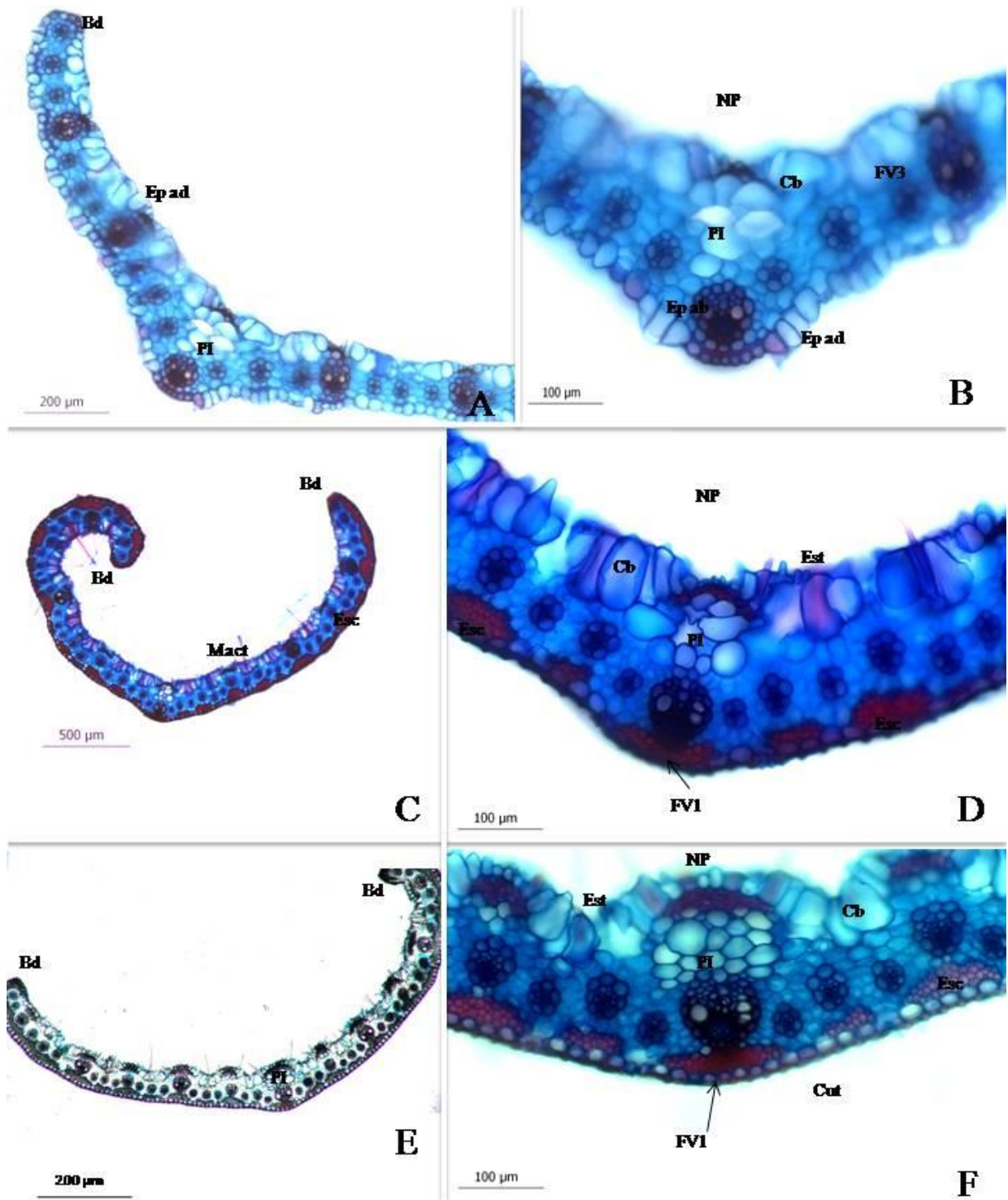


Figura 5. Aspecto geral e detalhe da nervura principal dos acessos 255 (A e B); 259(C e D) e 1023 (E e F) em secção transversal ($2n=44$). Células buliformes (Cb); Cutícula (Cut); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Estômato (Est); Feixe vascular de terceira ordem (Fv 3^a ord); Macrotricoma (Mact); Parênquima incolor (PI).

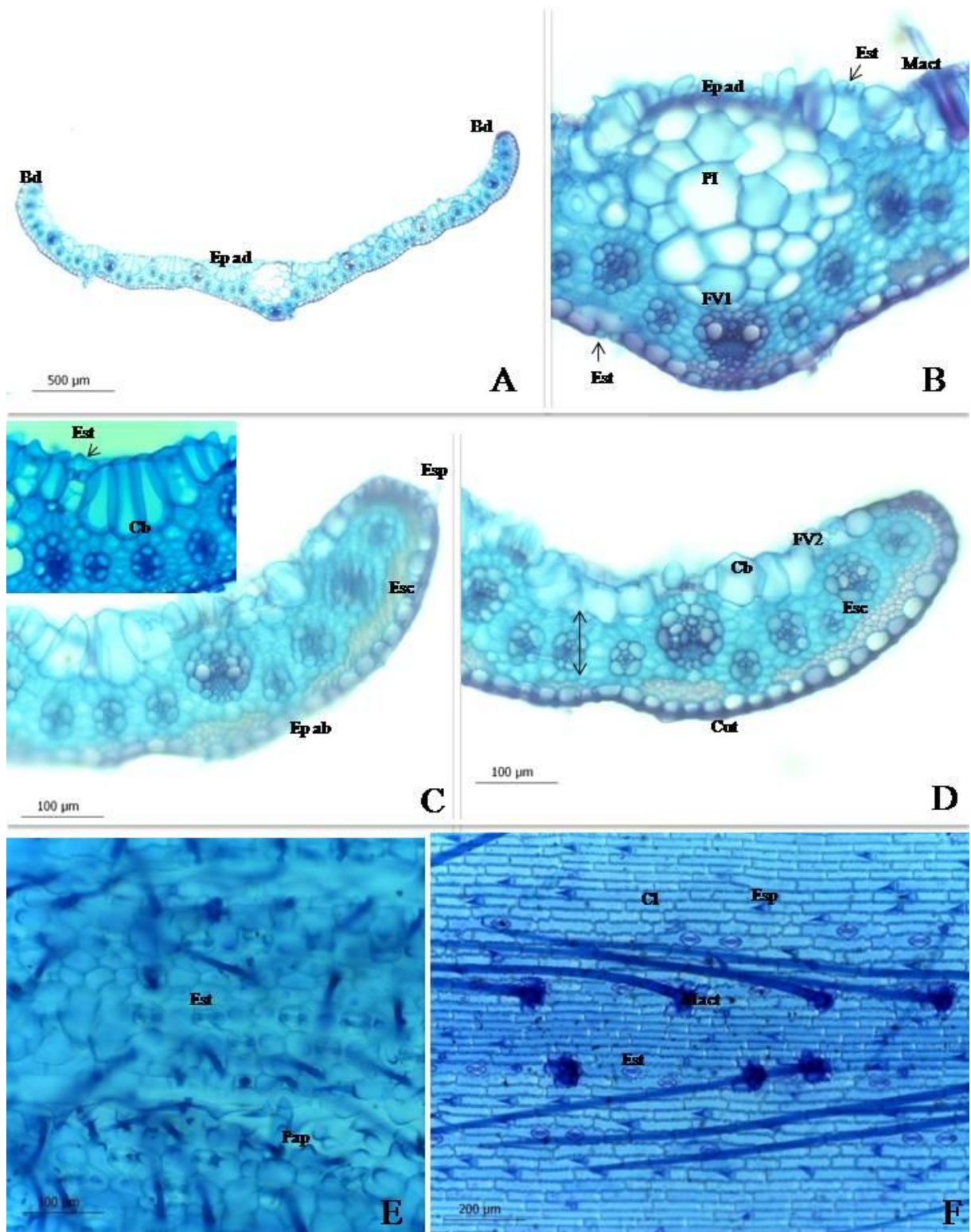


Figura 6. Acesso 1012 ($2n=48$). Secção transversal (A, B, C e D). Aspecto geral (A), detalhe da nervura principal e bordo (A-D) ; Vista frontal (E-F) – Face adaxial (E) e face abaxial (F). Bordo (Bd); Células buliformes (Cb); Célula longa (CL); Cutícula (Cut); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Espinho (Esp); Estômato (Est); Feixe vascular de primeira ordem (Fv 1^{ord}); Feixe vascular de segunda ordem (Fv 2^a ord); Feixe vascular de terceira ordem (Fv 3^a ord); Macrotricoma (Mact); Mesófilo (◊); Parênquima incolor (PI).

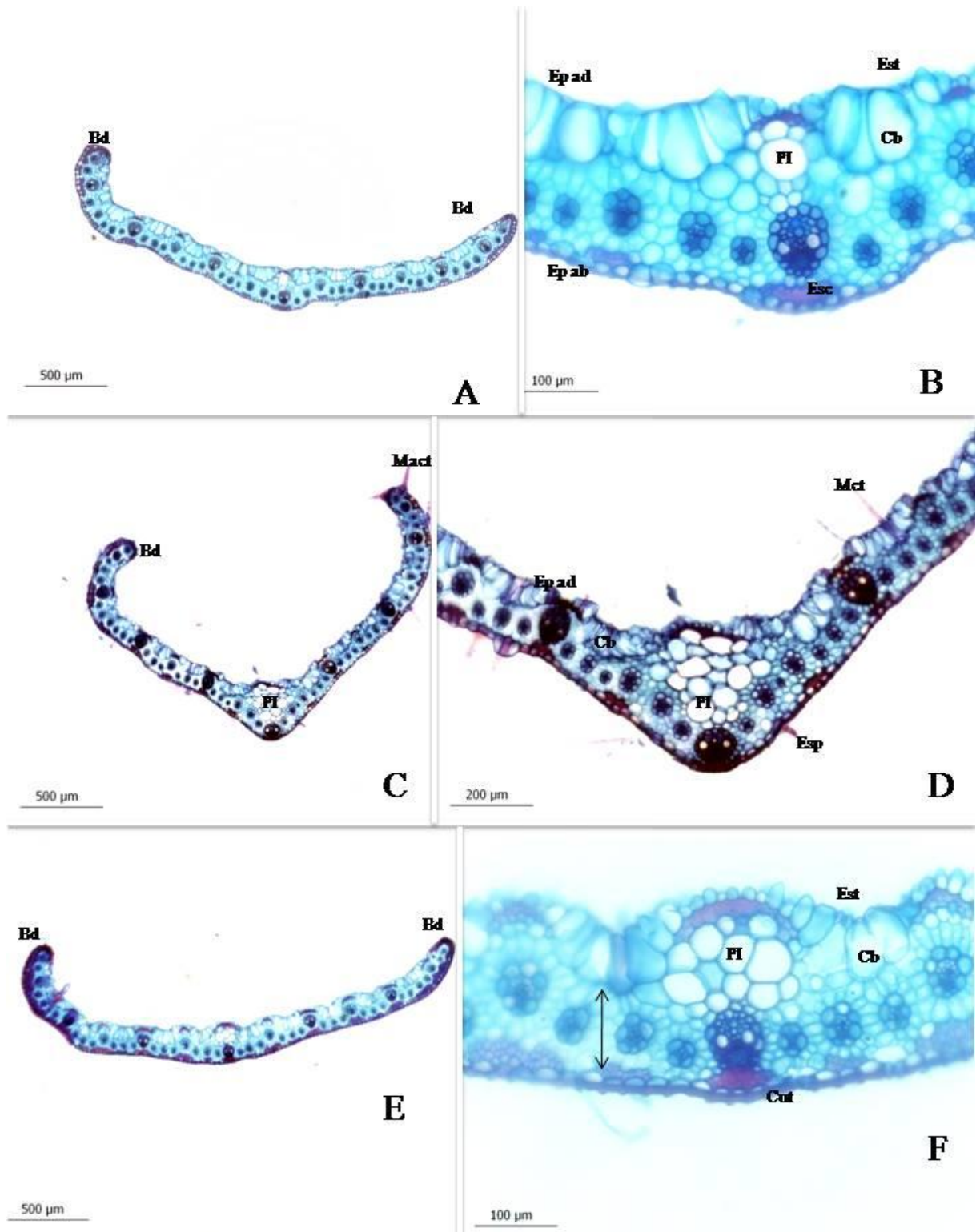


Figura 7. Aspecto geral e detalhe da nervura principal dos acessos 933 (A e B); 937(C e D) e 973 (E e F) em secção transversal ($2n=52$). Células buliformes (Cb); Cutícula (Cut); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Estômato (Est); Feixe vascular de terceira ordem (Fv 3ª ord); Mesofilo (\blacklozenge); Macrotricoma (Mact); Parênquima incolor (PI).

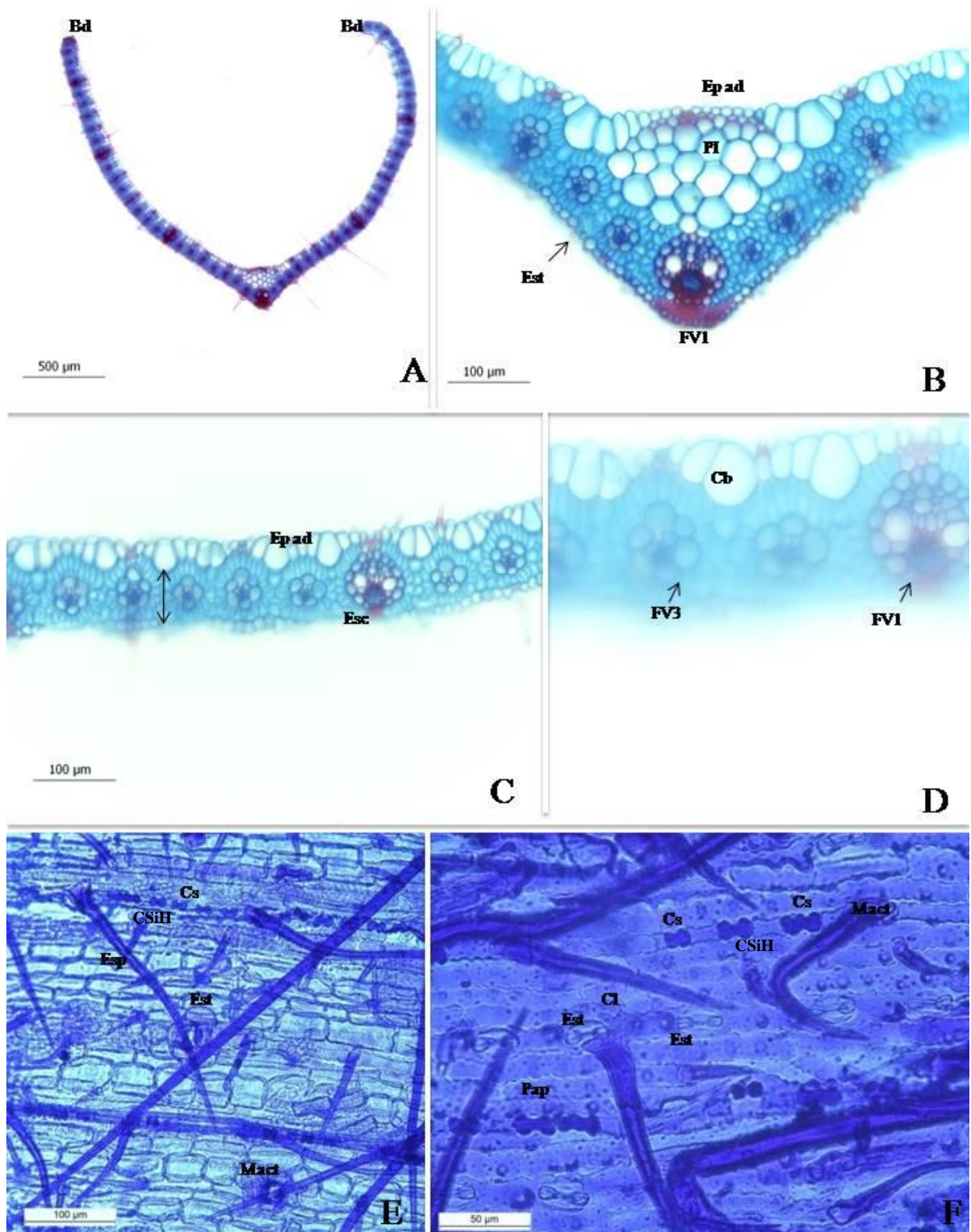


Figura 8. Seção transversal do acesso 1010 ($2n=60$) - Aspecto geral (A), detalhe da nervura principal e bordo (B). Vista frontal - Face adaxial (E); Face abaxial (F). Bordo (Bd); Células buliformes (Cb); Célula longa (CL); Cutícula (Cut); Célula silicificada de formato halteriforme(CSiH); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Espinho (Esp); Estômato (Est); Feixe vascular de primeira ordem (Fv 1ª ord); Feixe vascular de segunda ordem (Fv 2ª ord); Feixe vascular de terceira ordem (Fv 3ª ord); Macrotricoma (Mact); Mesofilo (◆ Parênquima incolor (PI); Papilas (Pap).

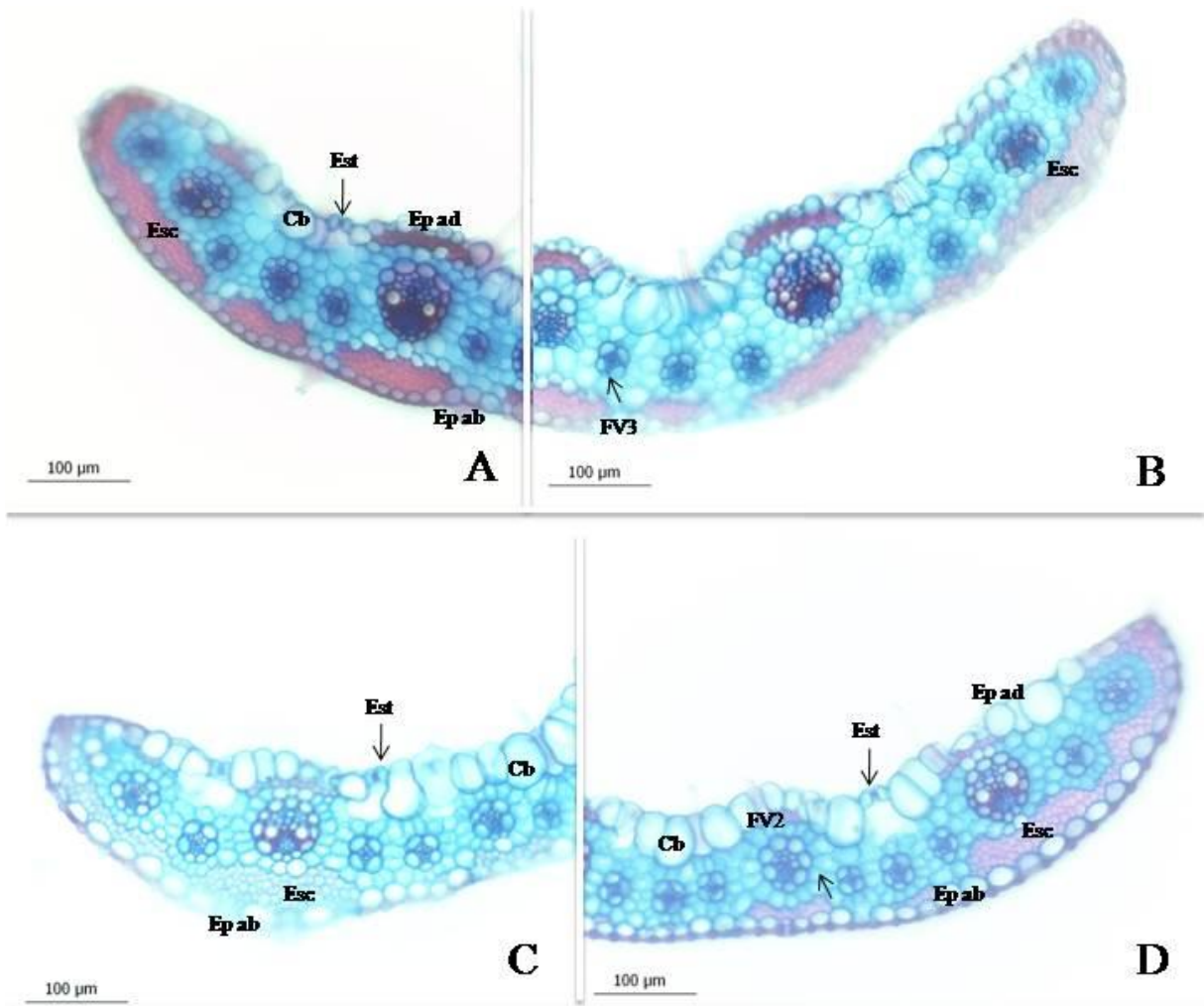


Figura 9. Bordos nos acessos 985(A e B) e 14306 (C e D) ($2n= 32$) em secção transversal. Células buliformes (Cb); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Estômato (Est); Feixe vascular de primeira ordem (Fv 1ª ord); Feixe vascular de segunda ordem (Fv 2ª ord); Feixe vascular de terceira ordem (Fv 3ª ord); Macrotricoma (Mact); Mesofilo (\updownarrow).

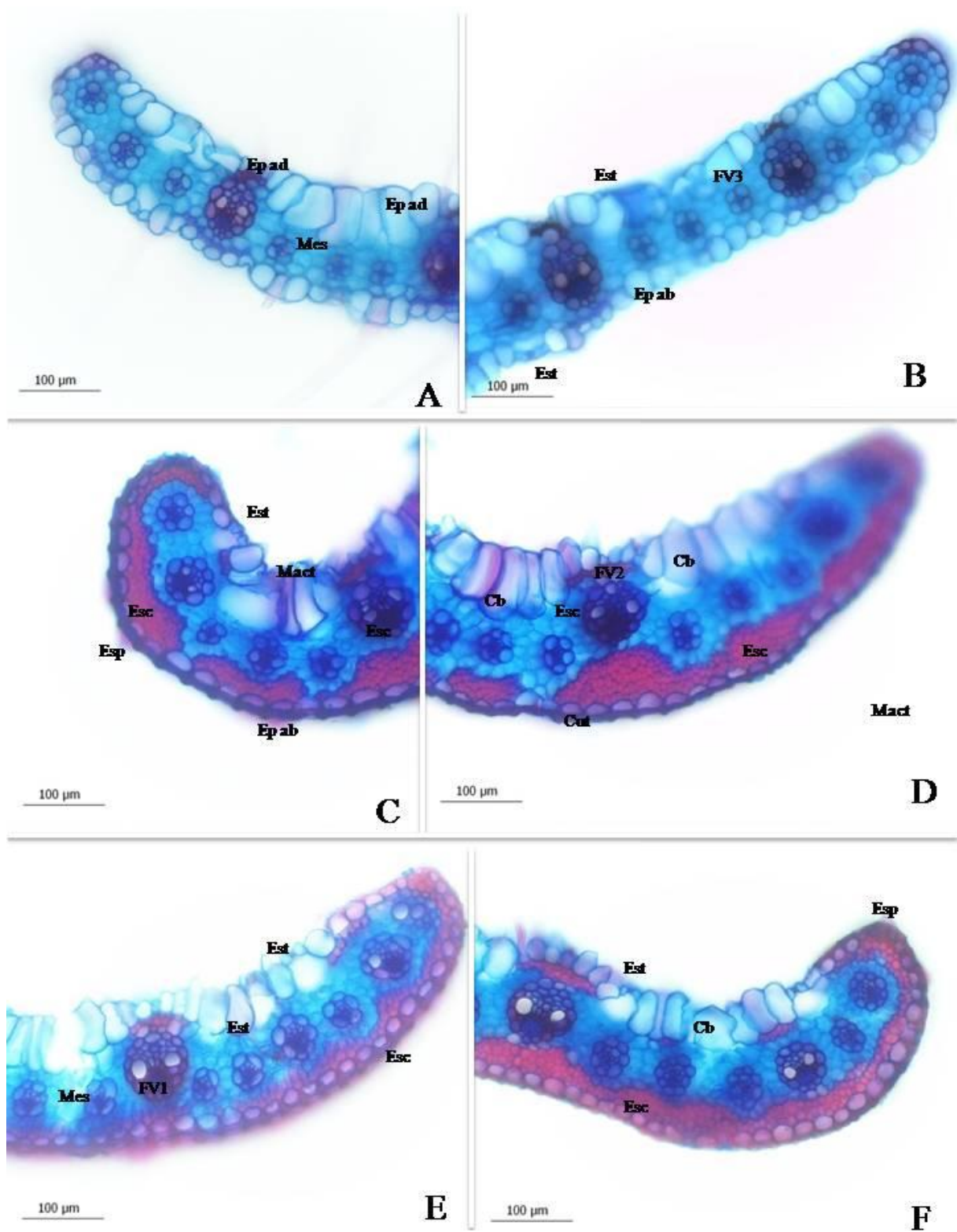


Figura 10. Bordos nos acessos 255 (A e B), 259 (C e D) e 1023 (E e F), ($2n=44$) em secção transversal. Células buliformes (Cb); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Estômato (Est); Espinhos (Esp); Feixe vascular de primeira ordem (Fv 1ª ord); Feixe vascular de segunda ordem (Fv 2ª ord); Feixe vascular de terceira ordem (Fv 3ª ord); Mesofilo (↓).

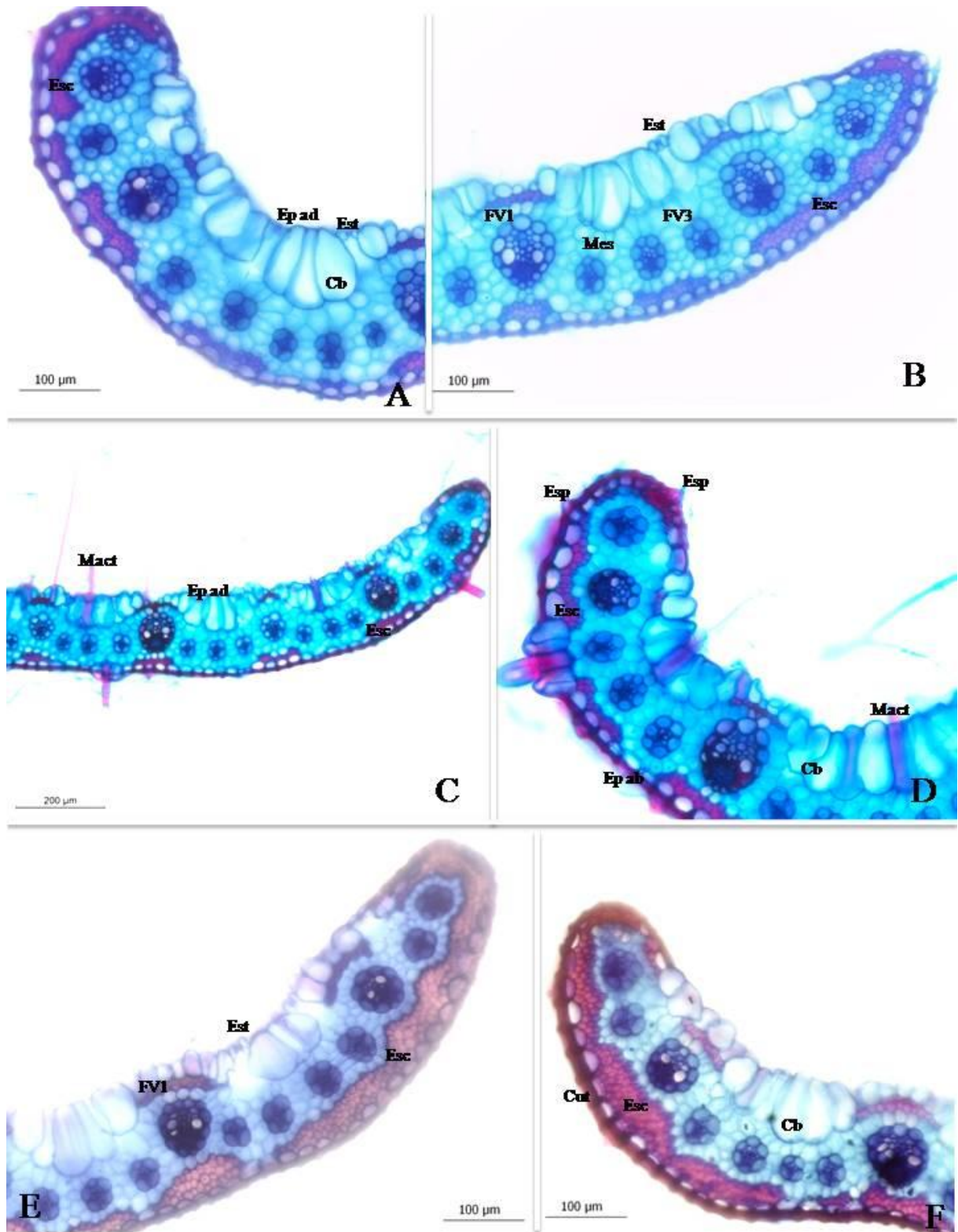


Figura 11. Secção transversal. Detalhe dos bordos nos acessos 933(A e B), (C e D) e 1023(E e F), (2n= 52) . Células buliformes (Cb); Epiderme adaxial (Ep ad); Epiderme abaxial (Ep ab); Esclerênquima (Esc); Estômato (Est); Espinhos (Esp); Feixe vascular de primeira ordem (Fv 1ªord); Feixe vascular de segunda ordem (Fv 2ª ord); Feixe vascular de terceira ordem (Fv 3ª ord); Mesofilo (↓).

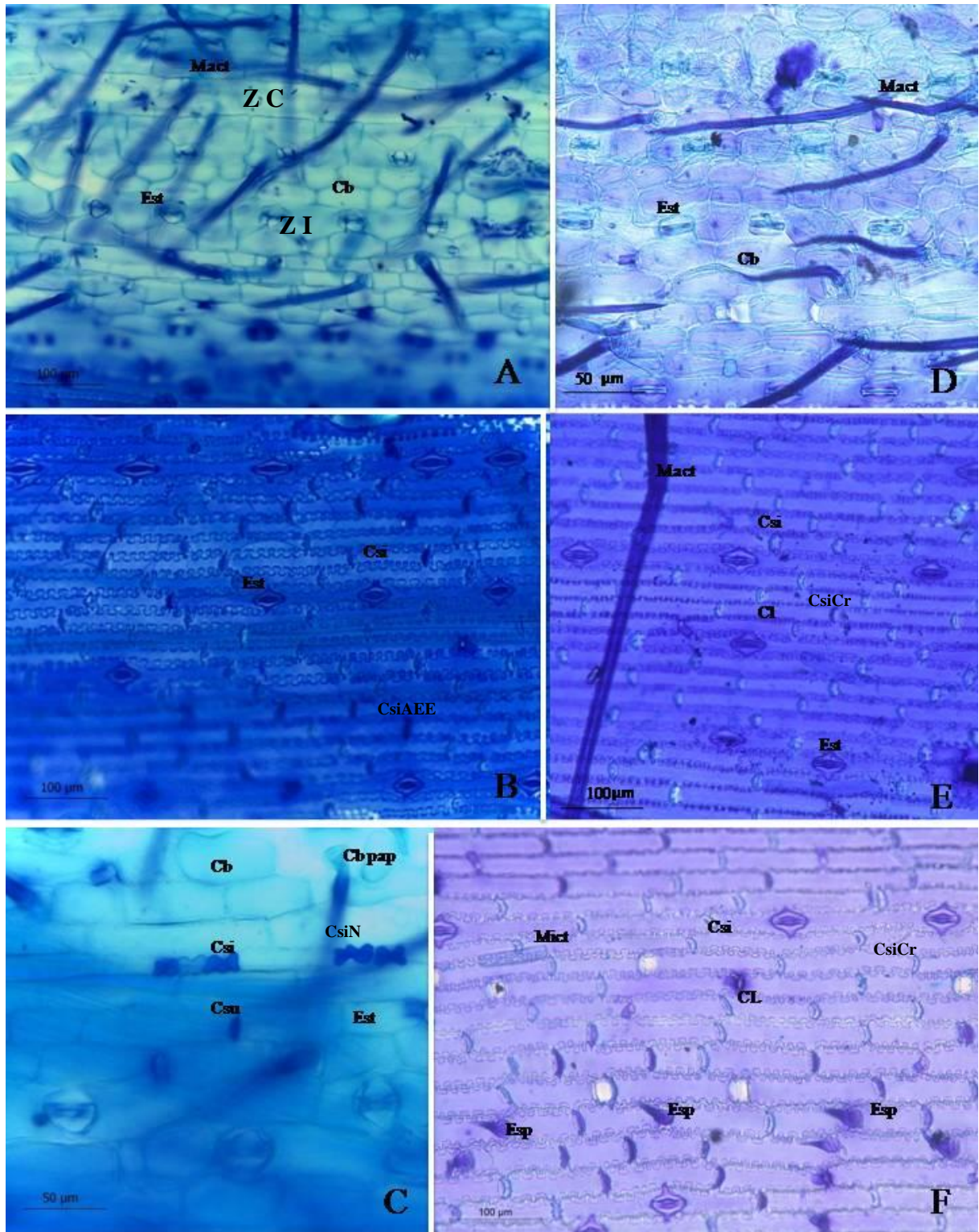


Figura 12. Vista frontal nos acessos 985 (A, B e C) e 14306 (D, E e F), ($2n=32$). Face (A, C e D); Face abaxial (B, E e F). Células buliformes (Cb); Célula longa (CL); Célula silicificada (Csi); Célula Silicificada de formato Alto e Estreito (CsiAE); Célula Silicificada de formato Nodular (CsiN); Célula silicificada de formato Crescente em meia lua (CsiCr) Célula suberosa (Csu); Espinho (Esp); Estômato (Est); Macrotricoma (Mact); Microtricomos (Mict); Papilas (Pap), Zona costal (ZC), Zona intercostal (ZI).

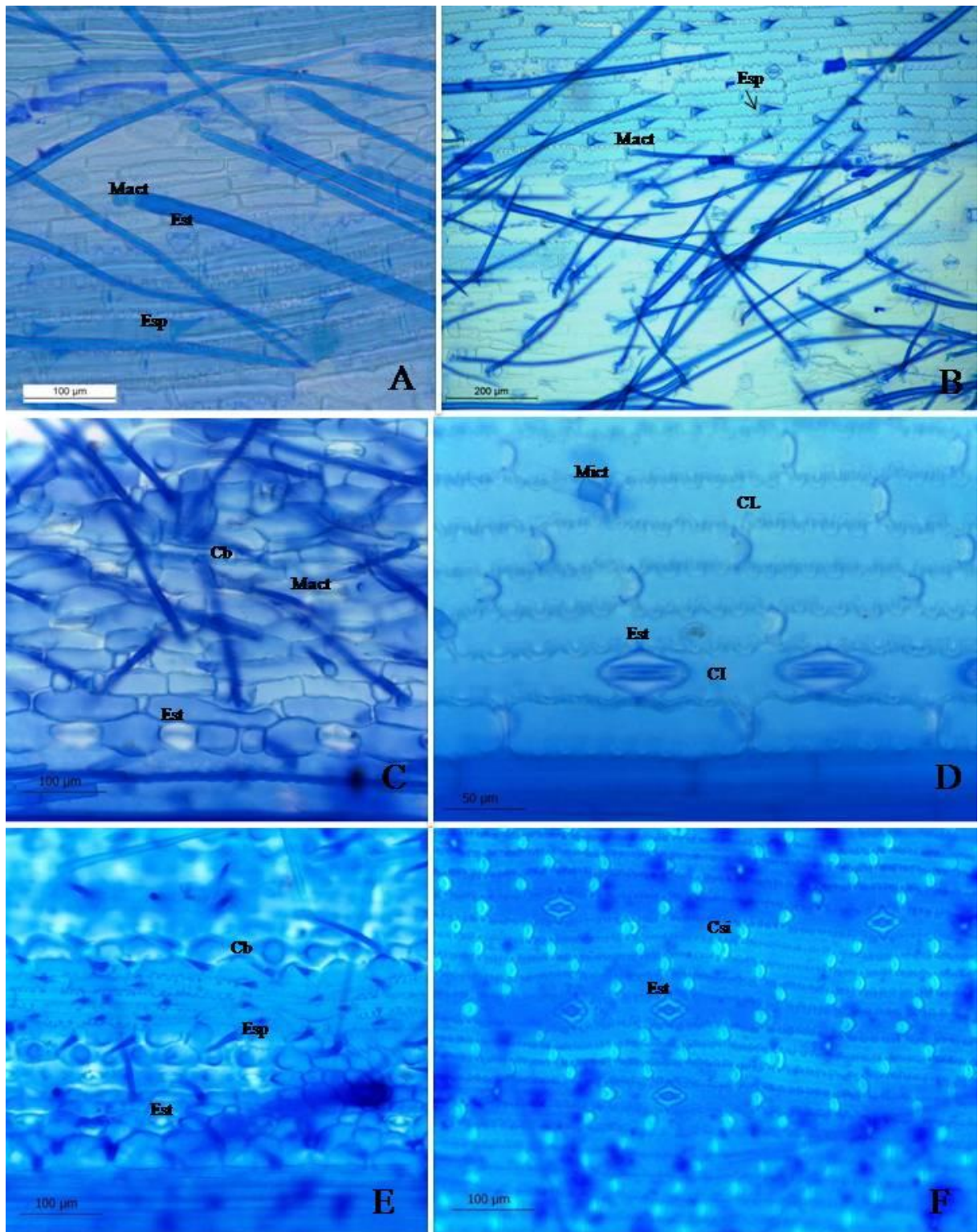


Figura 13. Vista frontal nos acessos 255 (A e B); 259 (C e D), 1023(E e F), ($2n=44$). Face (A, C e E); Face abaxial (B, D e F). Células buliformes (Cb); Célula longa (CL); Célula silicificada (Csi); Célula suberosa (Csu); Espinho (Esp); Estômato (Est); Macrotricoma (Mact); Microtricomas (Mict); Papilas (Pap).

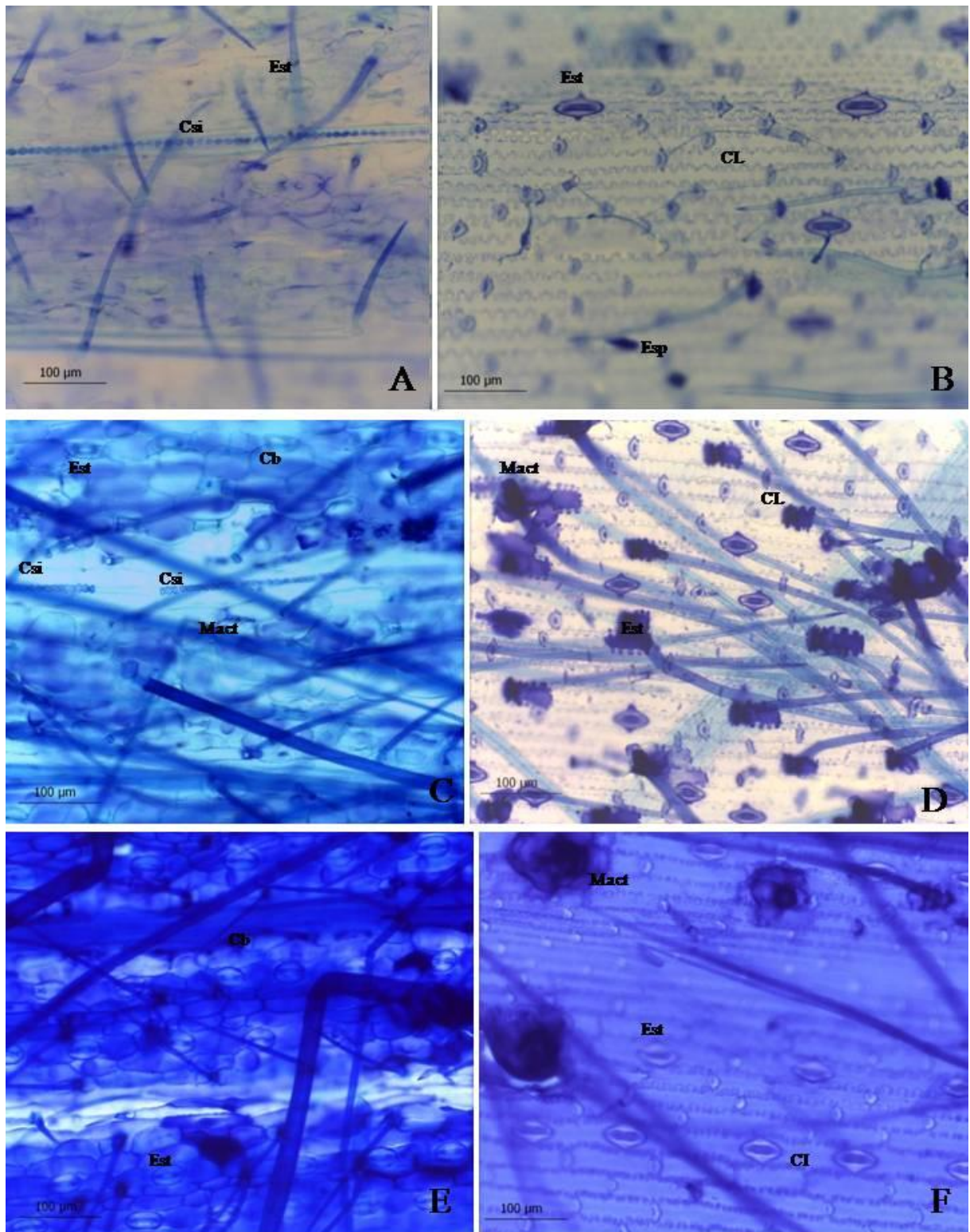


Figura 14. Vista frontal nos acessos 933 (A e B); 937 (C e D), 973 (E e F), ($2n=52$). Face adaxial (A, C e E), Face abaxial (B, D e F). Células buliformes (Cb); Célula longa (CL); Célula silicificada (Csi); Célula suberosa (Csu); Espinho (Esp); Estômato (Est); Macrotricoma (Mact); Microtricomos (Mict); Papilas (Pap).

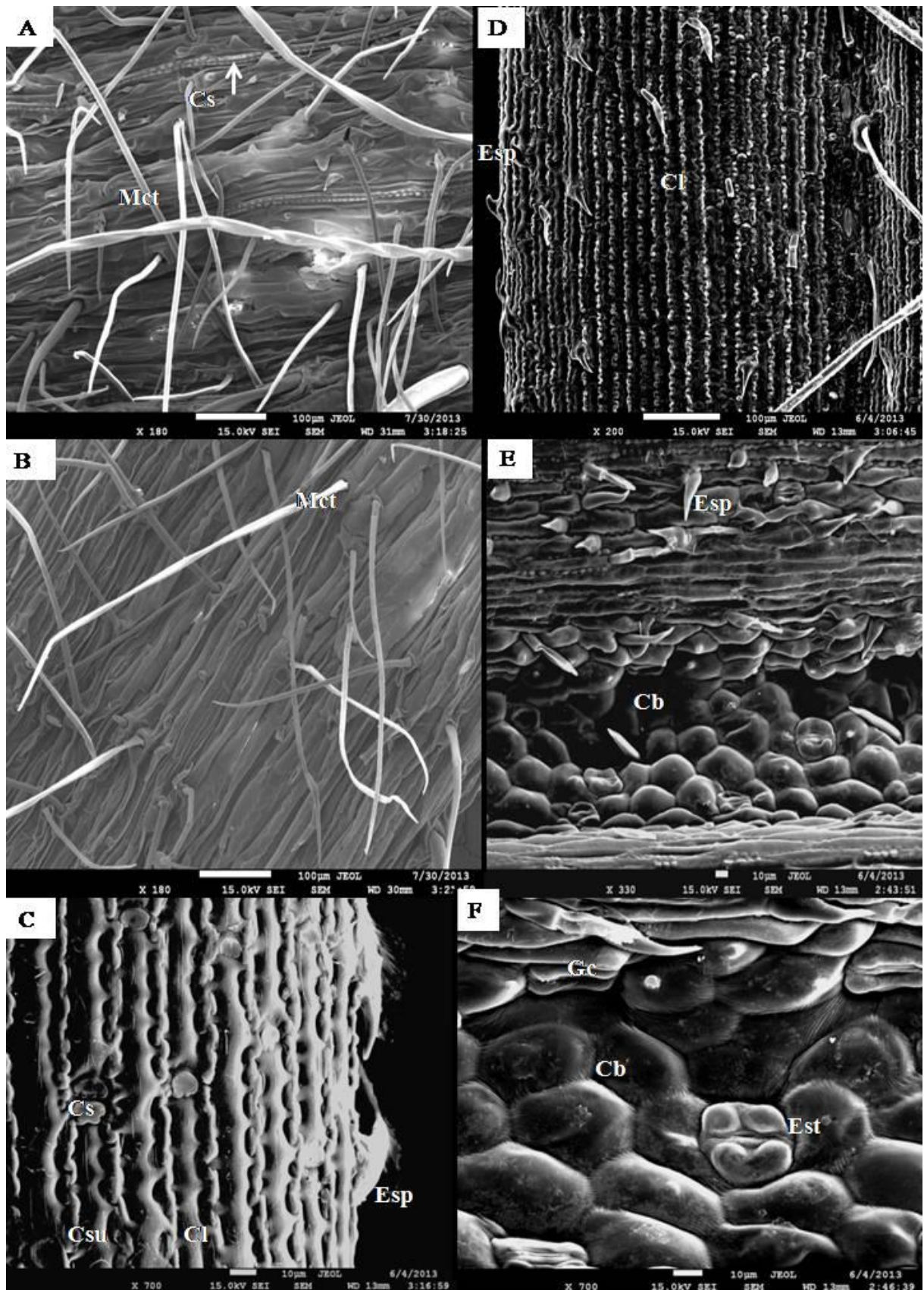


Figura 15. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme dos acessos de *P. stellatum* I. 255 (A, B e C), 1012 (D, E e F). Células buliformes (Cb); Célula longa (CL); Célula silicificada (Cs); Célula suberosa (Csu); Espinho (Esp); Estômato (Est); Gancho (Gc); Macrotricoma (Mact); Macrotricomas “Cushion- Hair” (Mact Ch); Papilas (Pap).

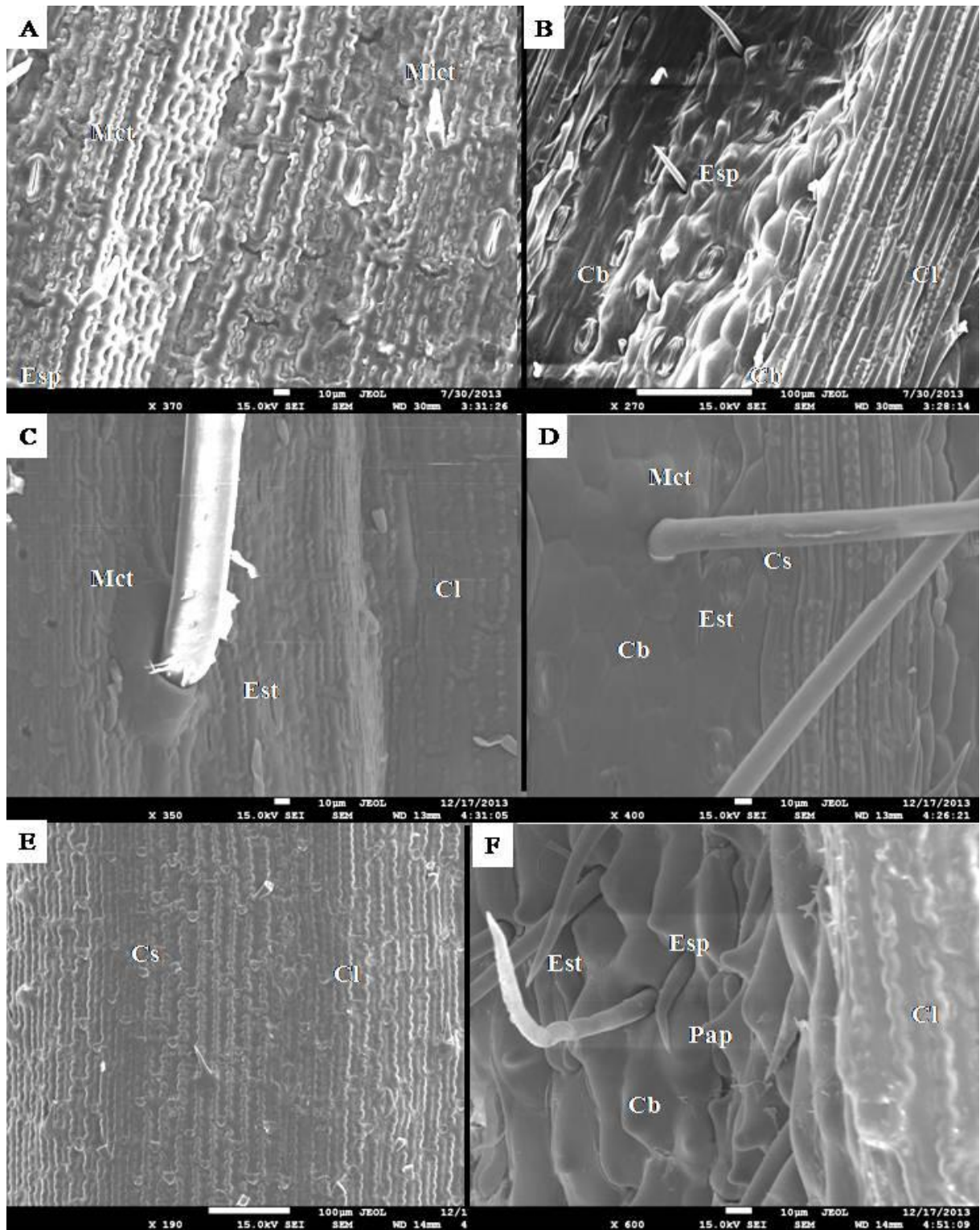


Figura 16. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme dos acessos de *P. stellatum* II. 990 (A e B), 1019 (C e D), 1023 (E e F). Células buliformes (Cb); Célula longa (CL); Célula silicificada (Cs); Célula suberosa (Csu); Espinho (Esp); Estômato (Est); Macrotricoma (Mact); Microtricoma (Mict); Papilas (Pap).

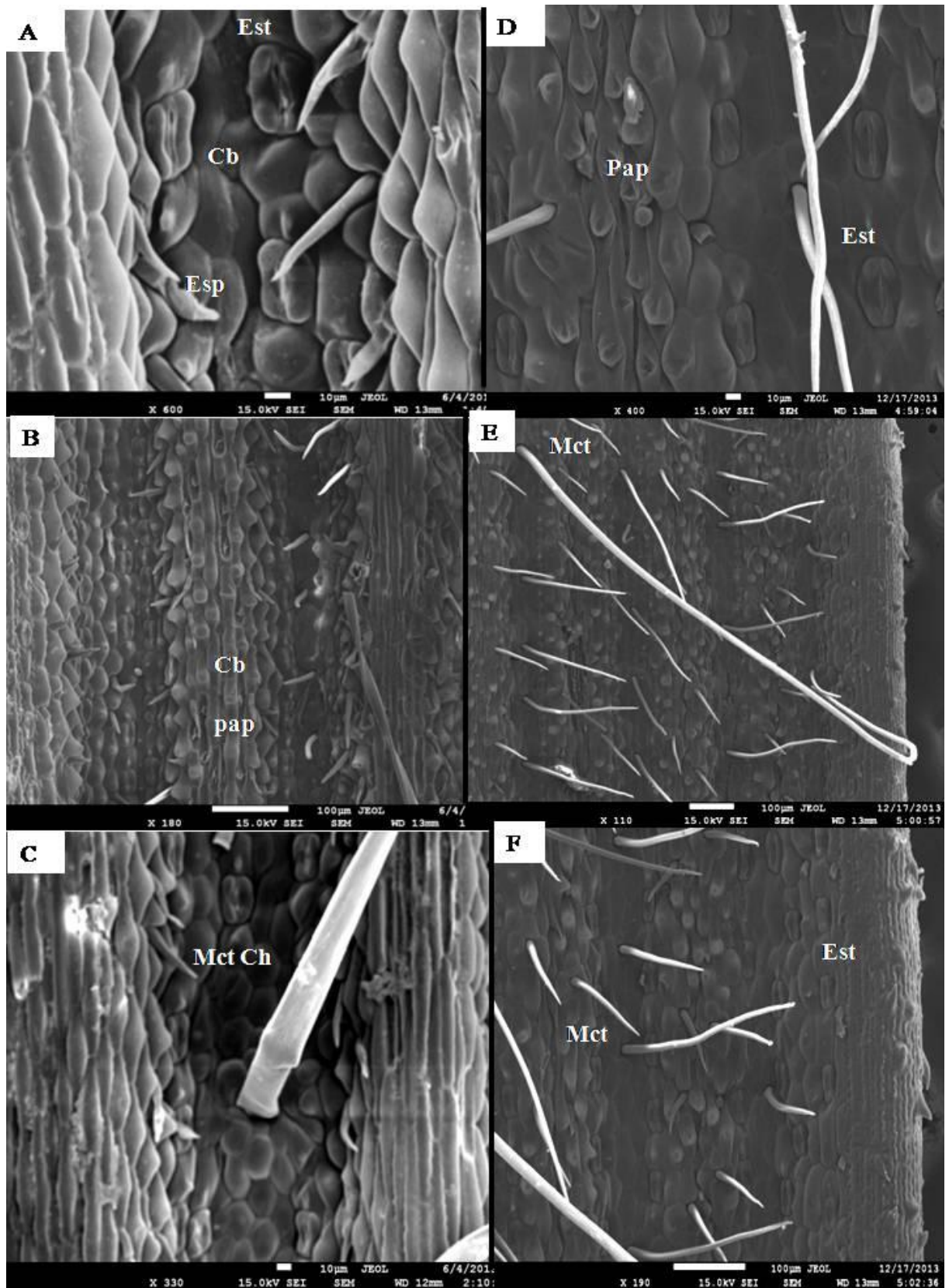


Figura 17. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme dos acessos de *P. stellatum* III. 985 (A, B e C) e 1031(D, E e F). Células buliformes (Cb); Célula longa (CL); Célula silicificada (Cs); Célula suberosa (Csu); Espinho (Esp); Estômato (Est); Gancho (Gc); Macrotricoma (Mact); Macrotricomas “Cushion- Hair” (Mact Ch); Papilas (Pap).

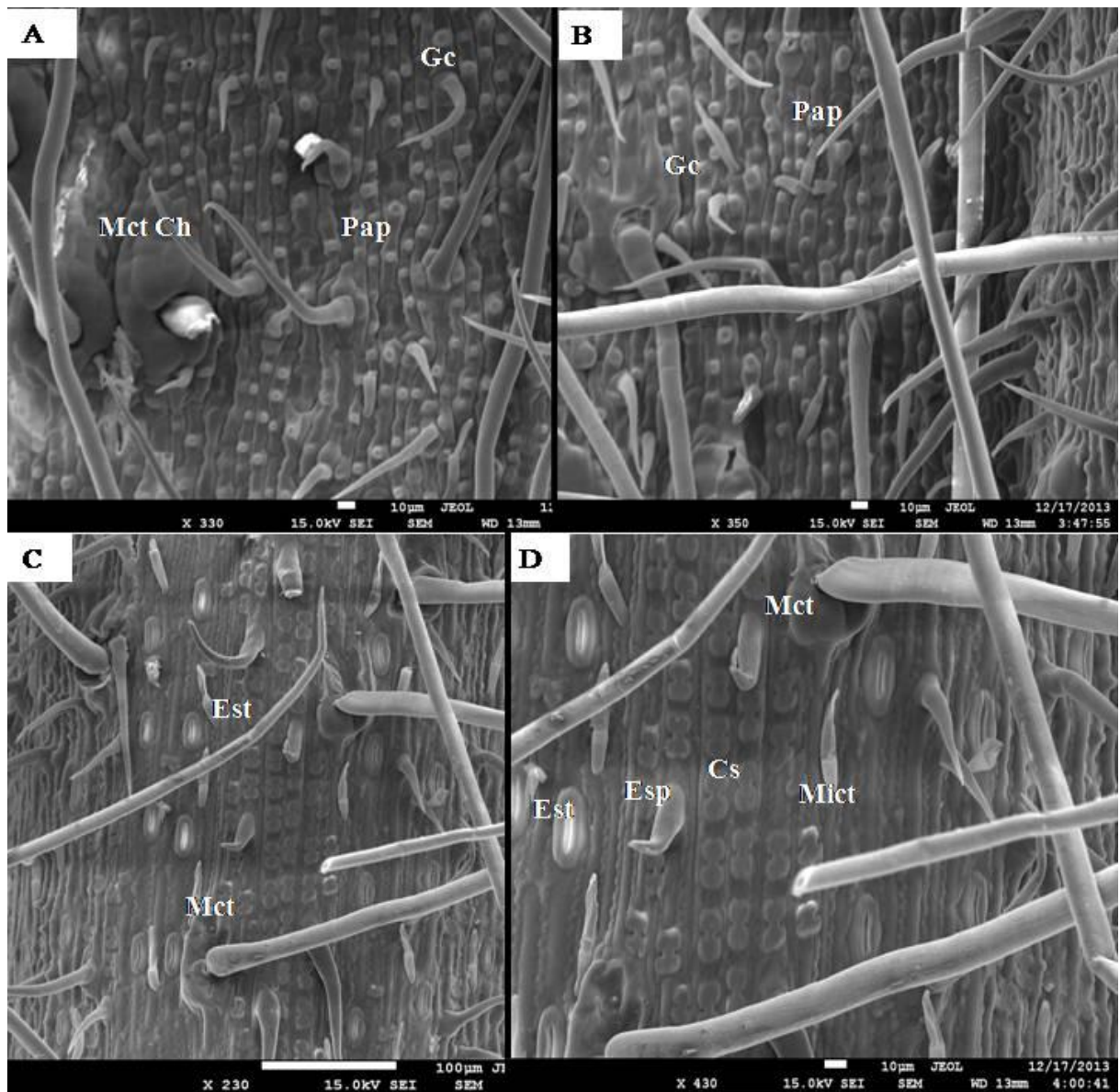


Figura 18. Microscopia eletrônica de varredura (MEV) da epiderme dos acessos de *P. stellatum* IV.1010(A, B, C e D). Célula silicificada (Cs); Espinho (Esp); Estômato (Est); Gancho (Gc); Macrotricomato (Mact); Microtricomato bicelular (Mict); Papilas (Pap).

Tabela 2. Matriz de dados anatômicos quantitativos quanto à presença e ausência em *P. stellatum* L.

		LÂMINA FOLIAR - CORTE TRANSVERSAL												
Acessos		255 2n=44	259 2n=44	1023 2n=44	933 2n=52	937 2n=52	973 2n=52	985 2n=32	14306 2n=32	990 2n=20	1019 2n=20	1010 2n=60	1012 2n=48	1031 2n=30
Vista Geral	1- Sulcos na face adaxial: (0) ausente; (1) presente	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	1
	2- Superfície face abaxial: (0) lisa; (1) ondulações	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Células buliformes	3- Disposição das células buliformes: (0) outros; em (1) leque	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
	4- Frequência na lâmina foliar: (0) em quase toda extensão da ala; (1) em grupos definidos separados por estômatos	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
	5- Tamanho/mesofilo: (0) menos de 50%; (1) cerca de 50%	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1
	6- Ocorrência: (0) hipoestomática; (1) anfiestomática	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Estômatos	7- Posição em relação as demais células epidérmicas face adaxial: (0) nivelado; (1) acima das demais células epidérmicas	1	1	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	1
	8- Posição em relação as demais células epidérmicas face abaxial: (0) nivelado; (1) acima das demais células	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	9- Cavidade subestomática face abaxial: (0) ausente; (1) presente	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
macrotricomias	10- Ocorrência de macrotricomias longos: (0) somente face adaxial; (1) ambas as faces	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1
	11- Quantidade: (0) frequentes; (1) abundantes;	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1

Tabela 2 (cont). Matriz de dados anatômicos quantitativos quanto à presença e ausência em *P. stellatum*.

		Acessos	255 2n=44	259 2n=44	1023 2n=44	933 2n=52	937 2n=52	973 2n=52	985 2n=32	14306 2n=32	990 2n=20	1019 2n=20	1010 2n=60	1012 2n=48	1031 2n=30		
Mesofilo	Parênquima	12- Ocorrência de macrotricomas do tipo "cushion hair": (0) frequentes; (1) abundantes	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		13- Tipo: (0) homogêneo; (1) heterogêneo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Esclerênquima	14- Ocorrência: (0) células próximas a face adaxial; (1) células próximas a ambas as faces	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		15- Fibras na face abaxial: (0) descontínuas; (1) contínuas	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Feixe vascular de 1º ordem	16- Posição: (0) equidistantes; (1) próximos à face adaxial	0	1	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	0	0
		17- Posição: (0) equidistantes; (1) próximos à face adaxial	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
	Feixe vascular de 2º ordem	18- Bainha (0) interrompida; (1) completa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1
		19- Tipo celular: (0) parenquimática; (1) esclerenquimática	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bainha dos Feixes vasculares de 1ª ordem	20- Ocorrência: (0) ausente; (1) presente	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1			1
		21- Extensão de bainha do feixe: (0) face adaxial; (1) ambas as faces	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1
22- Extensão de bainha para face adaxial: (0) parenquimática; (1) esclerenquimática					1	0	0	0	0	1	0	1	1	0		1	
23- Formato: (0) plano-convexa; (1) côncavo-convexa;		1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	

Tabela 2 (cont). Matriz de dados anatômicos quantitativos quanto à presença e ausência em *P. stellatum*.

		Acessos	255 2n=44	259 2n=44	1023 2n=44	933 2n=52	937 2n=52	973 2n=52	985 2n=32	14306 2n=32	990 2n=20	1019 2n=20	1010 2n=60	1012 2n=48	1031 2n=30		
Nervura Principal	Cutícula	24- Cutícula face adaxial: (0) delgada; (1) espessa;	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		25- Cutícula face abaxial: (0); delgada (1); espessa	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
	Estômatos	26- Ocorrência: (0) ambas as faces; (1) face abaxial;	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0
		27- Quantidade: (0) raros; (1) frequentes;	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1
	Macrotricomas	28- Ocorrência: (0) ausente; (1) presente	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Parênquima incolor	29- Proporção de parênquima incolor: (0) abaixo de 50%; (1) acima de 50%	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1
			esclerênquima	30- Ocorrência: face adaxial; (1) ambas as faces	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Nervura Principal Sistema Vascular	31- Tipo: (0) simples; (1) complexo		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Bordos		32- Bainha do feixe de 1ª ordem (0) interrompida; (1) completa	1	0	0	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0
			33- Extensão de bainha no feixe vascular de 1ª ordem: (0) ausente; (1) presente	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		34- Extensão de bainha do feixe vascular para face abaxial (0) parênquimática; (1) esclerênquimática	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		35- (0) Iguais; (1) diferentes	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	
		36- Fibras no mesofilo voltadas a face abaxial: (0) descontínuas (1) contínuas	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1

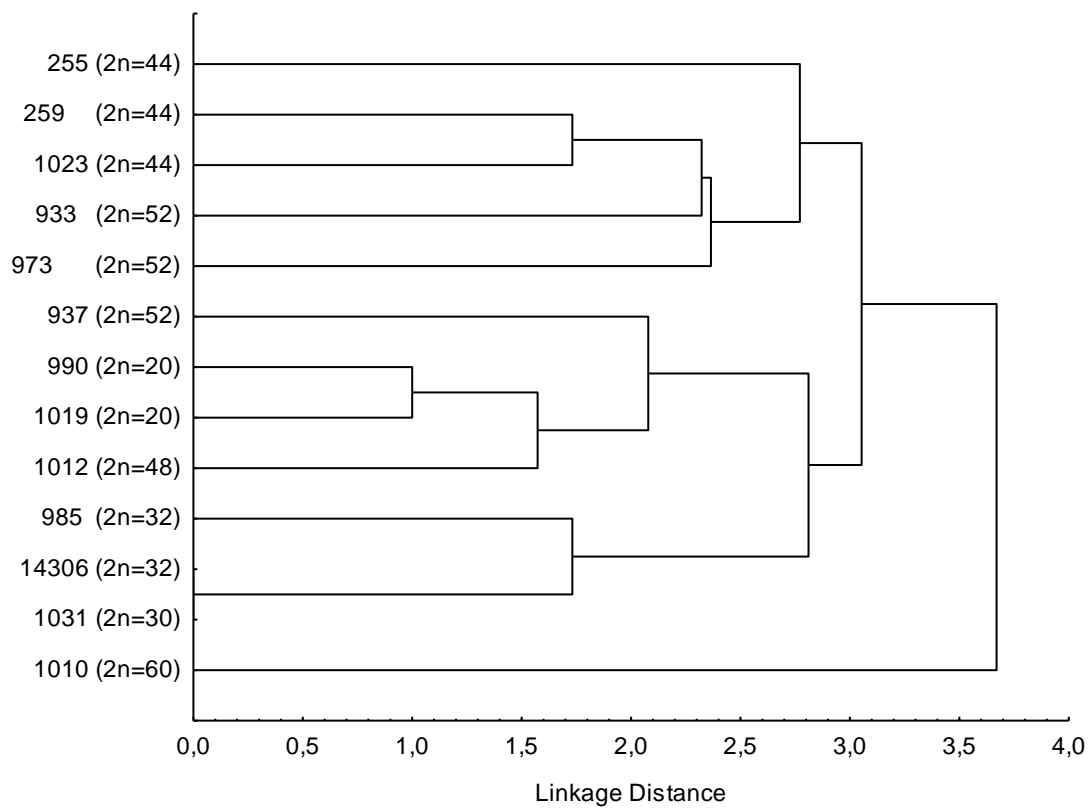


Figura 19. Dendrograma de similaridade gerado a partir da análise de agrupamento dos diferentes citótipos, através da matriz de ausência e presença de variáveis anatômicas.

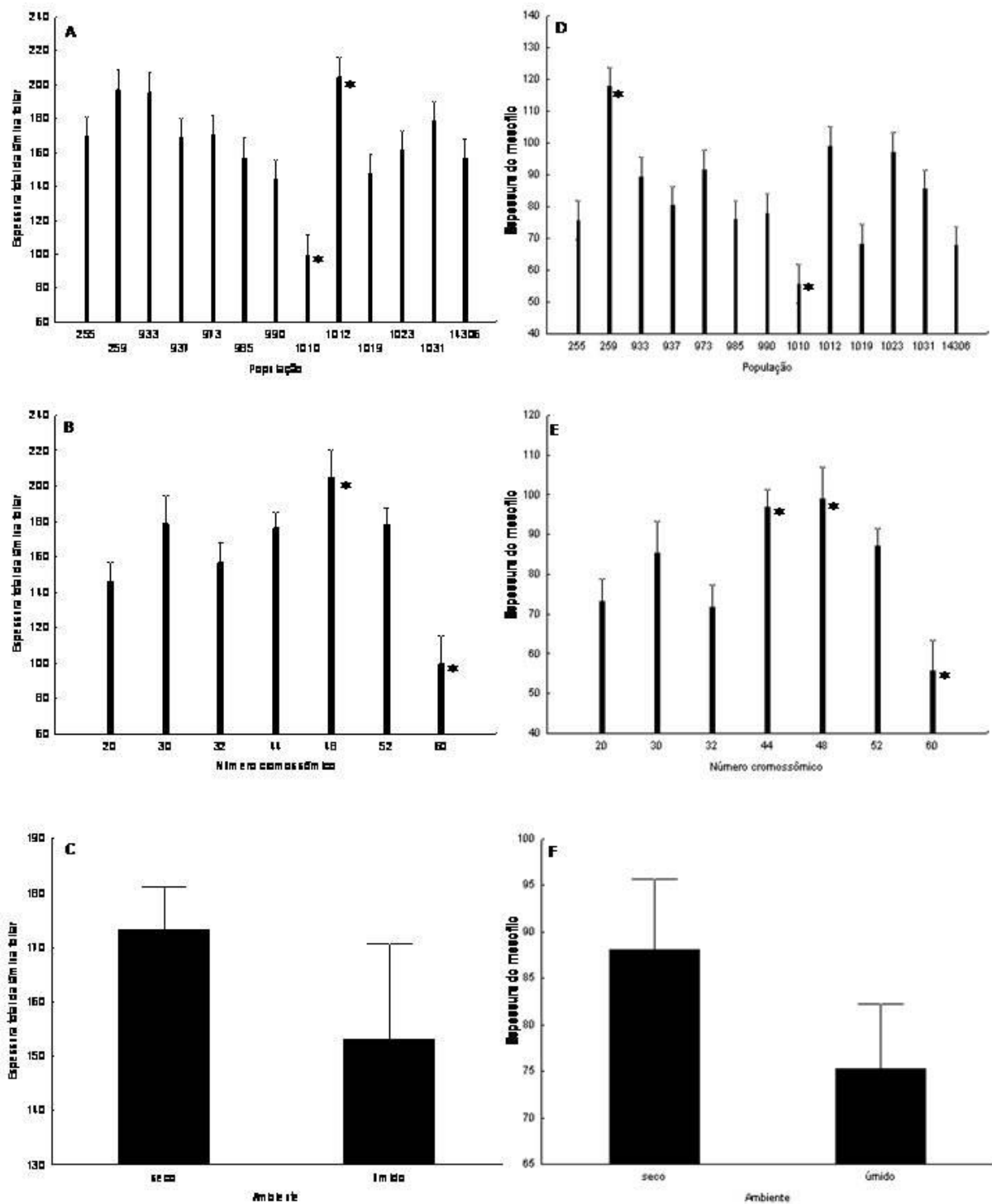


Figura 20. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente em *P. stellatum*. I. A: Espessura total da lâmina foliar; B: espessura total da lâmina foliar entre os citótipos; C: Espessura total entre ambiente seco e úmido. A: Espessura do mesofilo entre os feixes de 3ª ordem entre as populações; E: Espessura do mesofilo entre os citótipos; F: Espessura do mesofilo em relação ao ambiente seco e úmido. * Diferenças estatísticas indicadas de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro-padrão.

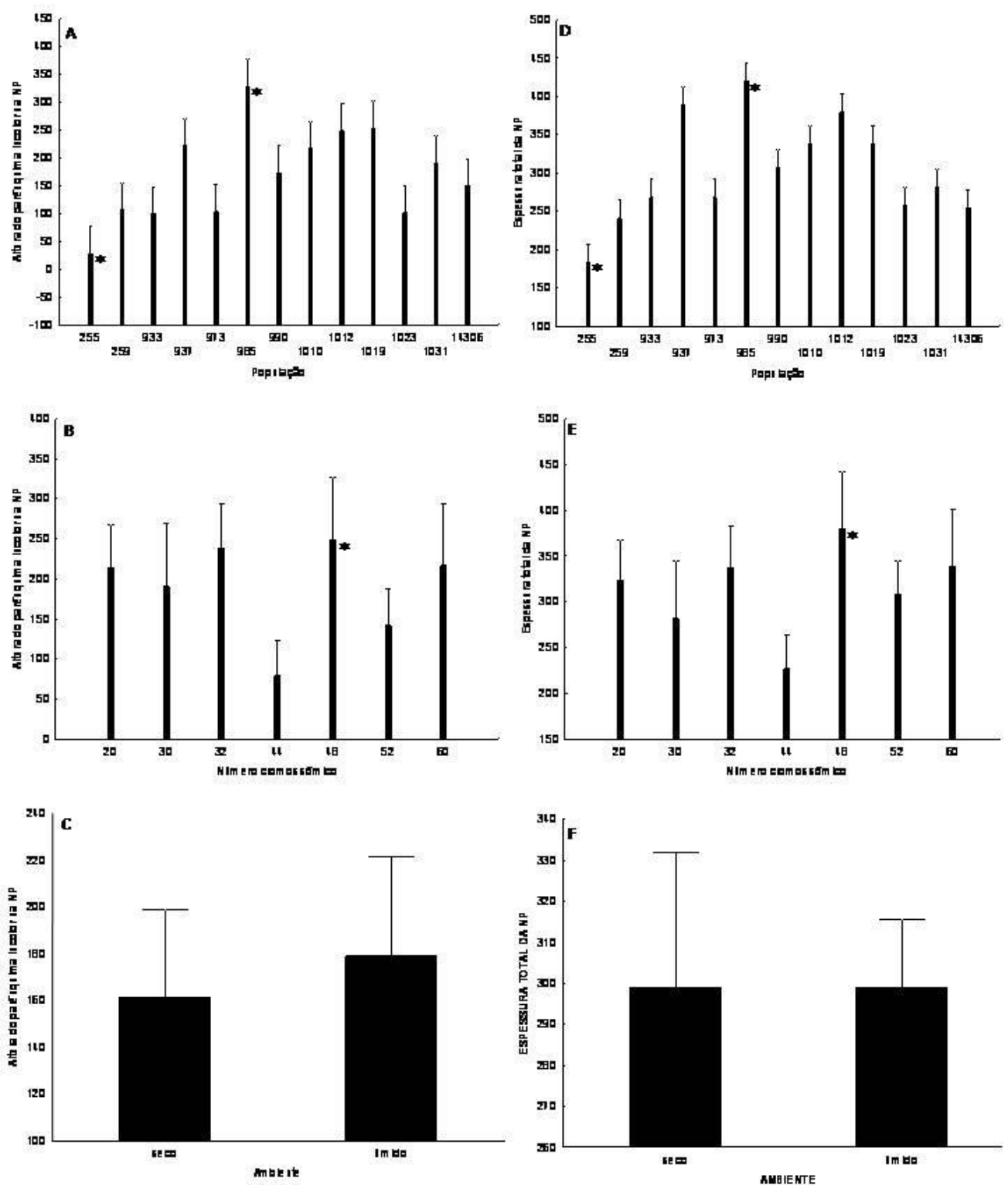


Figura 21. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente em *P. stellatum*. II. A: Altura do parênquima incolor na nervura principal (NP); B: Altura do parênquima incolor na nervura principal entre os citótipos; C: Altura do parênquima incolor na nervura principal entre ambiente seco e úmido. D: Espessura total na NP entre os acessos; E: Espessura total na NP entre os citótipos; F: Espessura total na NP em relação ao ambiente seco e úmido.* Diferenças estatísticas indicadas de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro padrão.

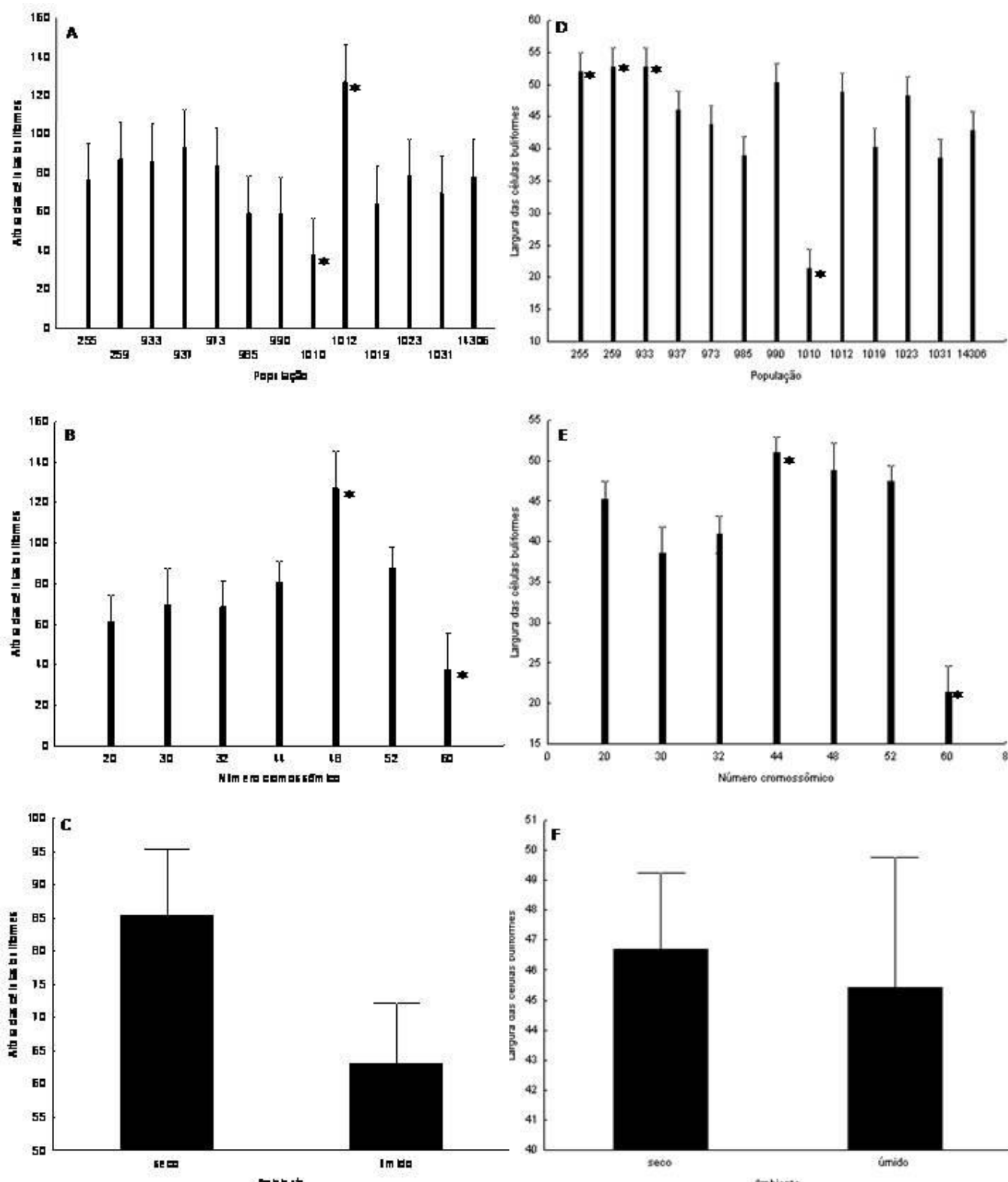


Figura 22. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente de *P. stellatum*. III. A: Altura das células buliformes; B: Altura das células buliformes entre os citótipos; C: Altura das células buliformes em relação ao ambiente seco e úmido. D: Largura das células buliformes entre os acessos; E: Largura das células buliformes entre os citótipos; F: Largura das células buliformes em relação ao ambiente seco e úmido. * Diferenças estatísticas indicadas de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro padrão.

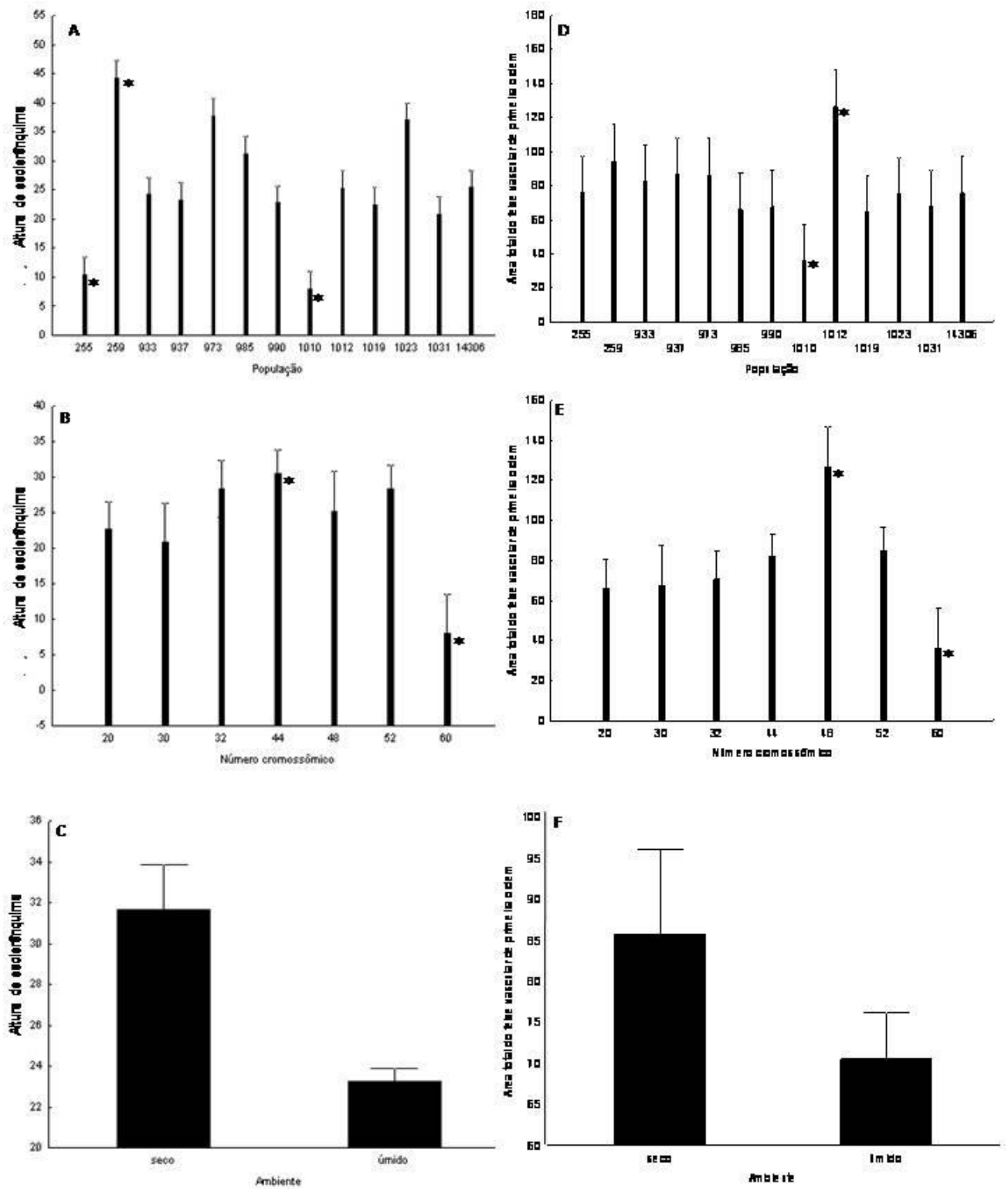


Figura 23. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente de *P. stellatum*. IV. A: Altura de esclerênquima; B: Altura de esclerênquima entre os citótipos; C: Altura de esclerênquima entre ambiente seco e úmido; D: Área total do feixe vascular de primeira ordem entre as populações; E: Área total do feixe vascular de primeira ordem entre os citótipos; F: Área total do feixe vascular de primeira ordem em relação ao ambiente seco e úmido. * Diferenças estatísticas indicadas por de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro padrão.

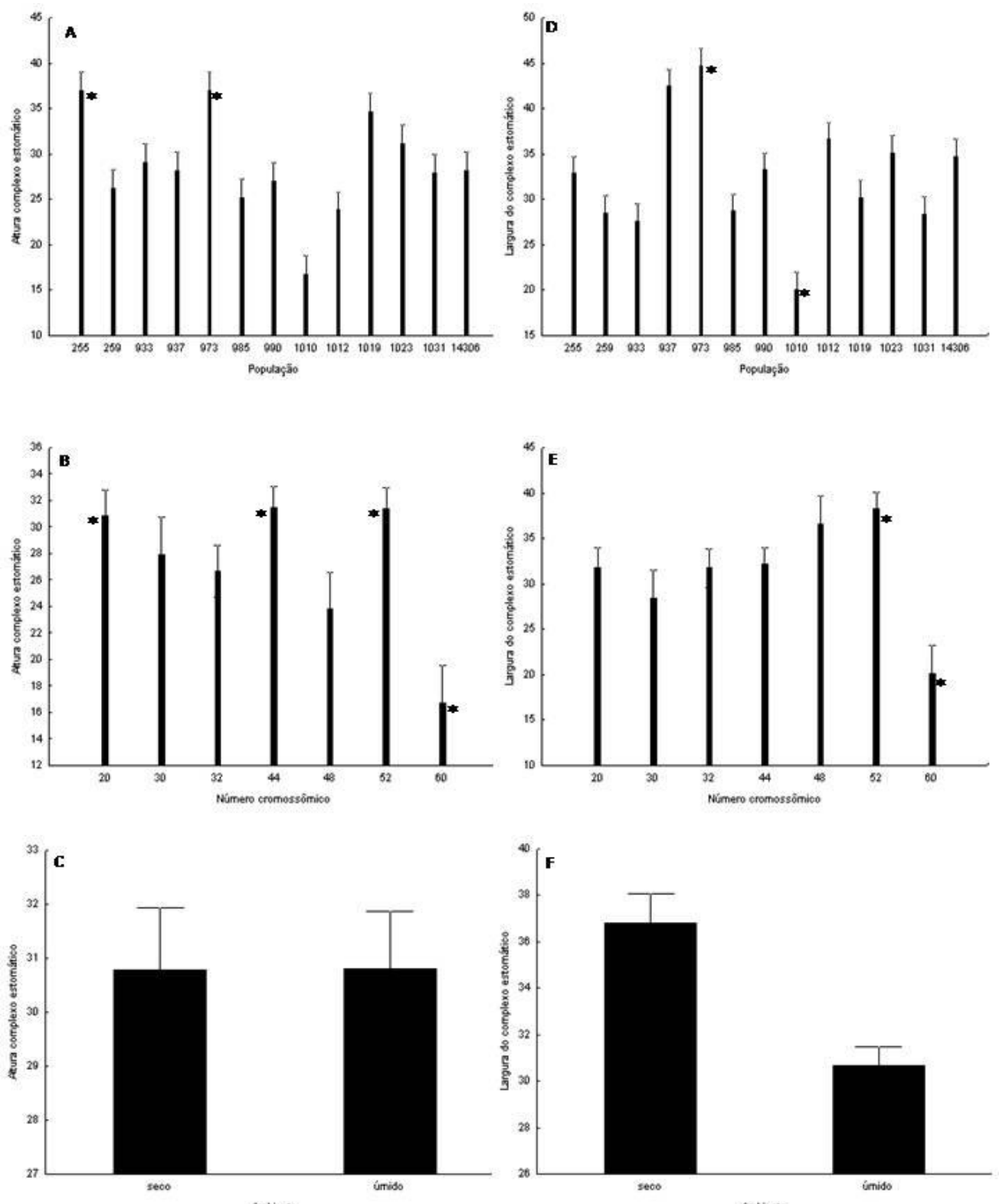


Figura 24. Análise estatística comparativa entre os acessos, citótipos e ambiente de *P. stellatum.V*. A: Altura do complexo estomático; B: Altura do complexo estomático entre os citótipos; C: Altura do complexo estomático em relação ao ambiente seco e úmido; D: Largura do complexo estomático entre as populações; E: Largura do complexo estomático entre os citótipos; F: Largura do complexo estomático em relação ao ambiente seco e úmido. * Diferenças estatísticas indicadas de acordo com teste HSD de Tukey ($p < 0,05$). As barras representam erro padrão.

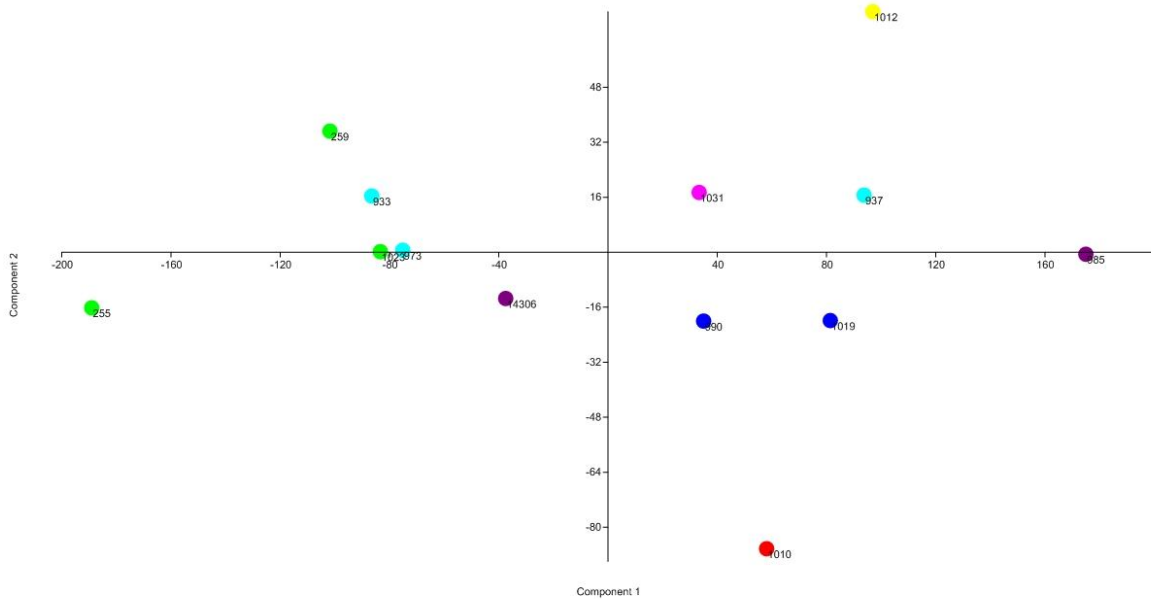


Figura 25. Análise de componentes principais (PCA) com nove variáveis. Os acessos com a mesma cor possuem o mesmo citótipo (verde: 2n= 44; azul claro: 2n= 52; roxo: 2n=32; azul escuro: 2n= 20; rosa: 2n=30; amarelo: 2n= 48 e vermelho: 2n= 60).

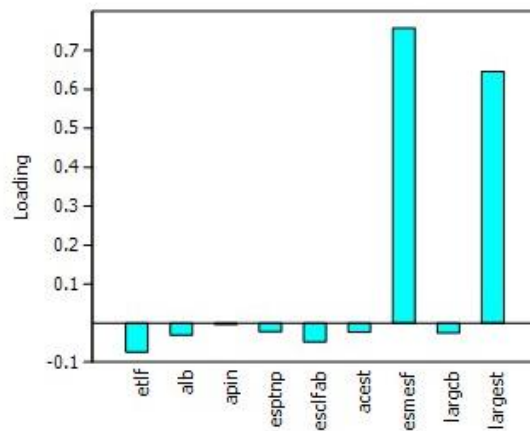


Figura 26. Representação gráfica da PCA com nove variáveis.

alb - Altura das células buliformes; aest - altura do complexo estomático; esclfab - altura das células de esclerênquima próximos a face abaxial; apin - altura do parênquima incolor na nervura principal; etlf - espessura do mesofilo; esmesf - espessura total da lamina foliar; esptnp - espessura total na nervura principal; largcb - largura das células buliformes; largest - largura do complexo estomático.

8. REFERÊNCIAS

- Aliscioni, S. S. 2000. Anatomía ecológica de algunas especies del género *Paspalum* (Poaceae, Panicoideae, Paniceae). **Darwiniana** **38**: 187-207.
- Aliscioni, S. S. 2002. Contribución a la filogenia del género *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden** **89**: 504-523.
- Aliscioni, S. S. & Denham, S. S. 2008. Rachis of the genus *Paspalum* L. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae): Anatomy and taxonomic significance of the primary branches of the inflorescences. **Flora** **203**: 60–76.
- Aliscioni, S.S. & Denham, S. S. 2009. Atypical foliar anatomy related to Kranz syndrome in *Paspalum inaequivalve* and *Paspalum microstachyum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Flora** **204**: 718-729.
- Araújo, S.A.C.; Deminicis, B. B. & Campos, P. R.S.S. 2008. Melhoramento genético de plantas forrageiras Tropicais no Brasil. **Archivos de Zootecnia** **57**: 61-76.
- Baeza, C. M.; Marticorena, C.; Stuessy, T.; Ruiz, E. & Negritto, M. 2007. Poaceae en el Archipiélago de Juan Fernandez (Robinson Crusoe). **Gayana Botánica** **64**: 125-174.
- Batista, L. A. R. & Godoy, R. 2000. Caracterização preliminar e seleção do germoplasma do Gênero *Paspalum* L. para produção de Forragem. **Revista Brasileira de Zootecnia** **29**: 23-32.
- Boldrini, I. I.; Longhi-Wagner, H. M.; Boechat, S. C. 2008. Morfologia e taxonomia de gramíneas sul-rio-grandenses.
- Bozzola, J. J. & Russel, L. D. 1992. Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists. Boston: Jones & Batlett Publisher. Pp.340-450
- Brown, W. V. 1977. The Kranz syndrome and its subtypes in Grass systematics. **Memoirs of the Torrey Botanical Club** **23**: 1-97.

- Bueno, L. C. S.; Medes, A. N. G. & Carvalho, S. P. 2006. **Melhoramento Genético de Plantas, Princípios e Procedimentos**. Pp. 25-30.
- Brugnoli, E. A.; Urbani, M. H.; Quarin, C. L.; Martínez, E. J. & Acuña, C. A. 2013. Diversity in Diploid, Tetraploid, and Mixed Diploid-Tetraploid Populations of *Paspalum simplex*. **Crop Science** **53**: 1509-1516.
- Carraro, L. R.; Freitas, P. M.; Adamowski, E. V.; Silva, N. & Pagliarini, M. S. 1997. Citogenética de *Paspalum* L. Avaliação do comportamento meiótico em acessos com diferentes níveis de ploidia. **Revista Brasileira de Genética**. **20**: 17-20.
- Cidade, F. W.; Vigna, B. B.; Souza, F. H.D.; Valls, J.F.M.; Dall'Agnol, M.; Zucchi, M. I.; Souza-Chies, T. T.; Souza, A. P. 2013. Genetic variation in polyploid forage grass: Assessing the molecular genetic variability in the *Paspalum* genus. **Bio Medic Central Genetics** **14**:1-18.
- Dall'Agnol, M.; Schifino-Wittmann, M. T. 2005. Apomixia, Genética e melhoramento de plantas. **Revista brasileira de Agrociência** **11**: 127-133.
- Denham, S. S.; Zuloaga, F. O. & Morrone, O. 2002. Systematic revision and phylogeny of *Paspalum* subgenus *Ceresia* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden** **89**: 337-399.
- Dickison, W.C. 2000. **Integrative plant anatomy**. Academic, New York.
- Echarte, A. M.; Clausen, A.M. & Sala, A.C. 1992. Números cromossômicos y variabilidad morfológica de *Paspalum distichum* (Poaceae) en la provincia de Buenos Aires (Argentina). **Darwiniana** **31**: 185-197.
- Ellis, R. P. 1977. A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the Poaceae.I. The leaf-blade as viewed in transverse section. **Bothalia** **12**: 65-109.

- Ellis, R.P. 1979. A procedure for standardizing comparative leaf anatomy in the Poaceae.II. The epidermis as seen in surface view. **Bothalia** **12**: 641-671.
- Farinatti, L. H. E. 2006. Avaliação de diferentes cultivares de azevém no desempenho de bezerros. **Embrapa Clima Temperado** **166**: 3-16.
- Ferreira, T. F. & Souza-Chies, T. T. 2005. Genetic diversity among *Paspalum* L. Species (Poaceae) belong in to the Notata and Linearia groups based on restriction fragment length polymorphism analyses. **Genetica** **125**: 133-140.
- Filgueiras, T.S.; Longhi-Wagner, H.M.; Viana, P.L.; Zanin, A.; Guglieri, A.; Oliveira, R.C.; Canto-Dorow, T.S.; Shirasuna, R.T.; Valls, J. F.M.; Oliveira, R.P.; Rodrigues, R.S.; Santos-Gonçalves, A.P. & Welker, C.A.D. 2012. Poaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/index?tid=193&mode=5>>
- Giussani, L. M.; Zuloaga, F. O.; Quarín, C. L.; Cota-Sánchez, H.; Ubayasena, K. & Morrone, O. 2009. Phylogenetic relationships in the genus *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae): An assessment of the Quadrifaria and Virgata informal groups. **Systematic Botany** **34**: 32–43.
- Graciano-Ribeiro, D.; Tarciso, S. F.; Gonçalves, A. 2006. Roteiro mínimo para estudo anatômico dos bambus (Poaceae: Bambusoideae). Anais do I seminário nacional do bambu. 69-74
- Graciano-Ribeiro, D.; Nassar, N.M.A.; Hashimoto, D.Y.C.; Freitas, S. & Nogueira, L.C. 2010. Anatomy of polyploidy cassava and its interespecific hybrids. **Genetics and Molecular Research** **9**: 532-538.
- Guglieri, A.; Longhi-Wagner, H. M. & Zuloaga, F.O. 2008. Anatomia foliar das espécies de *Panicum* L. subg. *Panicum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) ocorrentes no Brasil. **Iheringia** **63**: 279-293.

- Guma, I. R.; Echarte, A. M. & Clausen, A.M. 1995. Analisis multivariado de caracteres epidérmicos foliares de *Paspalum distichum* y *P. vaginatum* (Poaceae). **Darwiniana** 33:107-114.
- Hammer, O.; D. A. T. Harper & P. D. Ryan. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. **Palaeontologia Electronica** 4: 4-9.
- Honfi, A. M.; Quarín, C. L. & Valls, J. F. M. 1990. Estudios cariológicos en gramíneas sudamericanas. **Darwiniana** 30: 87-94.
- Jensen, W. A. 1962. **Botanical Histochemistry: principles and practices**. São Francisco: W. H. Freeman.
- Jiang, C. D.; Wang, X.; Gao, H. Y.; Shi, L. & Chow, W. S. 2011. Systemic Regulation of leaf anatomical structure, photosynthetic performance, and high-light tolerance in *Sorghum*. **Plant Physiology** 155: 1416-1424.
- Kraus, J. E. & Arduin, M. 1997. **Manual Básico de Métodos em Morfologia Vegetal**. Edt.Seropédica. Pp.40-43.
- Lempp, B.; Catian, G.; Batista, L.A.R.; Gomes, R. A. & Ceolin, A. C. 2009. Atributos anatômicos de lâminas foliares de *Paspalum* spp. **Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Zootecnia** 1-3.
- Maciel, J. R.; Oliveira, R. C. & Alves, M. 2010. Padrões de distribuição das espécies de *Paspalum* L. (Poaceae: Panicoideae: Paniceae) ocorrentes em Pernambuco, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** 32: 597-605.
- Metcalf, C. R. 1960. **Anatomy of the Monocotyledons, I**. Oxford. New York: Clarendon. Pp.731.
- Millar, R.B. & Anderson, M.J. 2004. Remedies for pseudoreplication. **Elsevier Fisheries Research** 70: 397-407.

- Morrone, O.; Zuloaga, F. O. Carbonó. E. 1995 Revision del grupo Racemosa del genero *Paspalum* (Poaceae: Panicoideae: Paniceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden** **82**: 82-116.
- Morrone, S. D.; Aliscioni, S. & Zuloaga, F. 2000. Revision de las especies de *Paspalum* (Panicoideae:Paniceae), sub-genero *Anachyris*. **Candollea** **55**: 105-135.
- Morrone, O.; Aagesen, L.; Scataglini, M. A.; Salaricato, D. L.; Denham, S. S.; Chemisquy, M. A.; Sede, S. M.; Giussani, L. M.; Kellogg, E. A.; Zuloaga, F. O. 2012. Phylogeny of the Paniceae (Poaceae: Panicoideae) integrating plastid DNA sequences and morphology into a new classification. **Cladistics** **28**: 333-356.
- Oliveira, R.P.; Longhi-Wagner, H.M. & Leite, K.R.B. 2008. A contribuição da anatomia foliar para a taxonomia de *Raddia* Bertol. (Poaceae: Bambusoideae). **Acta Botanica Brasílica** **22**: 1-19.
- Oliveira, R. C. & Valls, J. F. M. 2002. Taxonomia de *Paspalum* L., grupo Linearia (Gramineae-Paniceae) do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **25**: 371-389.
- Oliveira, R. C. & Valls, J. F. M. 2008. Novos sinônimos e ocorrências em *Paspalum* L. (Poaceae). **Hoehnea** **35**: 289-295.
- Oliveira, R. C. & Valls, J. F. M. 2009. Duas novas espécies de *Paspalum* L. (Poaceae: Paniceae) do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** **32**: 89-94.
- Paiva, J. G. A.; Frank-De-Carvalho, S. M.; Magalhães, M. P. & Graciano-Ribeiro, D. 2006. Verniz vitral incolor 500®: uma alternativa de meio de montagem economicamente viável. **Acta Botanica Brasílica** **20**: 257-264.
- Podio, M.; Rodríguez, M. P.; Felitti, S.; Stein, J.; Martinez, E. J.; Siena, L. A.; Quarin, C. L.; Pessino, S. C.; Ortiz, J. P. A. 2012. Sequence characterization, in silico mapping and cytosine methylation analysis of markers linked to apospory in *Paspalum notatum*. **Genetics and Molecular Biology** **35**: 827-837.

- Peñaloza, A. P. S.; Côrtes, A. L.; Pozzobon, M. T.; Santos, S.; Rua, G. H. & Valls, J.F.M. 2008. Unusual Chromosome numbers in *Paspalum* L. (Poaceae: Paniceae) from Brasil. **Genetics and Molecular Research 7**: 399-406.
- Pagliarini, M.S.; Carraro, L.R.; Freitas, P.M.; Adamowski, E. V.; Batista, L.A.R. & Valls, J.F.M. 2001. Cytogenetic characterization of Brazilian *Paspalum* accessions. **Hereditas 135**: 27-34.
- Pozzobon, M. T.; Machado, A. C. C.; Vaio, M.; Valls, J. F. M.; Peñaloza, A. P. S.; Santos, S.; Côrtes, A. L. & Rua, G. H. 2000. Cytogenetic analyses in *Paspalum* L. reveal new diploid species and accessions. **Ciência Rural Santa Maria 38**: 1292-1299.
- Pozzobon, M. T.; Valls, J. F. M. & Santos, S. 2000. Contagens cromossômicas em espécies brasileiras de *Paspalum* L. (Gramineae). **Acta Botanica Brasílica 14**: 151-162.
- Rosito, J. M. & Marchezan, E. 2003. Determinação de descritores foliares para a identificação micro histológica de espécies forrageiras. **Acta Scientiarum Biological Sciences 25**: 407-413.
- Santos, S. A.; Desbiez, A. L. J.; Alvarez, J. M.; Garcia, J.B. & Sobrinho, A. A. B. S. 2010. Descritores epidérmicos de gramíneas (Poaceae)-um guia para identificação da dieta de herbívoros usando o programa Delta. **Embrapa Pantanal Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento 95**: 9-63
- Sugiyama, Shu-Ichi. 2005. Polyploid and cellular mechanisms changing leaf size- comarison of diploid and autotetraploid populations in two species of *Lolium*. **Annals of Botany 96**: 931-938.
- Sulekic, A. A. 2006. Una nueva espécie de *Paspalum* (Poaceae, Paniceae) para la Argentina. **Darwiniana 44**: 127-130.

- Türpe, A. M. 1966. Histotaxonomia de las especies argentinas del genero *Paspalum*. **Lilloa** **32**:1-297.
- Urbani, M. H.; Quarin, C. L.; Espinoza, F.; Penteado, M. I. O & Rodrigues, I. F. 2002. Cytogeography and reproduction of the *Paspalum simplex* polyploid complex. **Plant Systematic and Evolution** **236**: 99–105.
- Valls, J.F.M. & Oliveira, R.C. 2013. *Paspalum* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2010/FB013432> (Acesso em 16/05/2012).
- Zanotti, C. A.; Pozner, R & Morrone, O. 2010. Understanding spikelet orientation in Paniceae (Poaceae). **American Journal of Botany** **97**: 717-729.