

## ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM CINCO ESPÉCIES DE *Adesmia* DC. (LEGUMINOSAE-FABOIDEAE) NATIVAS NO RIO GRANDE DO SUL<sup>1</sup>

### CITOGENETICS STUDIES IN FIVE NATIVE SPECIES OF *Adesmia* DC. (LEGUMINOSAE-FABOIDEAE) IN THE RIO GRANDE DO SUL, BRAZIL<sup>1</sup>

Liliana Gressler May Coelho<sup>2</sup> Alice Battistin<sup>3</sup>

#### RESUMO

Populações de espécies de *Adesmia* DC. das séries bicolors e psoraleoides, nativas do Rio Grande do Sul, Brasil, foram estudadas para determinação do número cromossômico (11 populações de 5 espécies) e também quanto aos cariótipos (5 populações de 4 espécies). Todas as espécies estudadas quanto ao número cromossômico são diplóides ( $2n=2x=20$ ), mas em *A. incana* var. *incana* foram encontradas duas populações diplóides e uma tetraplóide ( $2n=4x=40$ ). *A. incana* não é uma espécie unicamente tetraplóide, como vinha sendo considerada até agora. *A. bicolor* 9614 parece ser a mais antiga entre as populações analisadas devido a sua alta simetria cariotípica e *A. tristis* 10814 parece ser a mais recente, devido ao seu cariótipo mais assimétrico.

**Palavras-chave:** *Adesmia* DC., número cromossômico, cariótipo.

#### SUMMARY

Populations of *Adesmia* DC. species bicolors and psoraleoides series, native from Rio Grande do Sul, Brazil, were studied to determine the chromosome numbers (in 11 populations of 5 species) and Karyotypes (in 5 of these population in 4 species). All species studied regarding to the chromosome numbers were diploid ( $2n=2x=20$ ) and in *A. incana* var. *incana* besides two diploid races there was one tetraploid race ( $2n=4x=40$ ). *A. incana* should not be considered as a tetraploid species, as has been

considered in the literature. *A. bicolor* 9614 seemed to be more ancient among the analyzed populations due to the high Karyotype symmetry. *A. tristis* seemed be more recent among the analysed populations due to the karyotype was highly asymmetry.

**Key words:** *Adesmia* DC. chromosomic number, karyotype.

#### INTRODUÇÃO

*Adesmia* DC. é um gênero de leguminosas papilionáceas endêmico na América do Sul (BURKART, 1949). Conta com um número aproximado de 230 espécies das quais 17 ocorrem no sul do Brasil (MIOTTO, 1991).

Segundo ALLEN & ALLEN (1981), as espécies de *Adesmia*, além de boas forrageiras, são também importantes como cobertura de solo e para controle da erosão. Além disso, são espécies que vegetam no inverno e proporcionam alimento para os rebanhos em um período de grande escassez alimentar nos campos sul-brasileiros.

Os estudos citogenéticos publicados para o gênero, referem-se somente a contagens de números

<sup>1</sup>Parte da dissertação de Mestrado apresentada pela primeira autora ao Curso de Pós-graduação em Zootecnia da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

<sup>2</sup>Engenheiro Agrônomo, MSc., Bolsista Recém-Mestre, Departamento de Biologia, Centro de Ciências Naturais e Exatas, UFSM, 97019-900, Santa Maria, RS. Autor para correspondência.

<sup>3</sup>Naturalista, Doutora, Professora Titular do Departamento de Biologia, UFSM.

cromossômicos de algumas espécies, revelando uma maioria diplóide com  $2n=2x=20$  e alguns tetraplóides com  $2n=4x=40$  (CASTRONOVO, 1945; COVAS & SCHNACK, 1946; COVAS, 1949; KRAPOVICKAS & KRAPOVICKAS, 1952; COVAS & HUNZIKER, 1954; HUNZIKER *et al.*, 1985; MIOTTO, 1991).

Este trabalho apresenta um estudo citogenético de cinco espécies de *Adesmia*, todas espécies nativas no Rio Grande do Sul - Brasil.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Sementes das populações (Tabela 1) foram germinadas a 25°C em placas de petri, sobre papel filtro umedecido com água destilada, pré-tratadas por 14h a 0°C, fixadas em etanol:ácido acético (3:1) por 4h a temperatura ambiente e conservadas em etanol 70% na geladeira.

As pontas de raízes foram submetidas a digestão enzimática das paredes celulares em solução de pectinase + celulase 2% a 37°C por 1h30min e após coradas emorceína acética 2%. Após a separação das laminulas com CO<sub>2</sub> líquido (BOWEN, 1956), as lâminas foram montadas em Entelan. As melhores metáfases foram fotografadas e os cromossomos, medidos. Também foi contado o número cromossômico em células mitóticas de cada população.

Para a construção dos idiogramas foram usadas as médias do comprimento do braço curto e do braço longo (BC e BL, respectivamente) de cada par homólogo, medido em pelo menos quatro metáfases mitóticas de cada população. O índice centromérico ( $IC=[BC/(BC+BL)] \times 100$ ), foi calculado para as populações usadas no estudo dos cariótipos. Os cromossomos foram classificados de acordo com a posição do centrômero em **m** - metacêntricos (IC de 50 a 37,5) e **sm** - submetacêntricos (IC de 37,5 a 25),

Tabela 1 - Procedência, registro, locais de coleta das populações estudadas, número de plantas e células examinadas, número cromossômico (2n) e nível de ploidia.

Espécie/ variedade	Procedência/ Nº de registro	Local de coleta	Nº de plantas/células examinadas	Nº cromossômico (2n)	Nível de ploidia
<i>A. latifolia</i>	CPPSUL/1568	Caçapava do Sul-RS	05/77	20	2x
	CPPSUL/1775	Imbé-RS	08/97	20	2x
	EEL/15025	SC*	08/91	20	2x
<i>A. bicolor</i>	CENARGEN/9614	Bagé-RS	04/81	20	2x
<i>A. incana</i> var. <i>incana</i>	CENARGEN/9636	Santana do Livramento-RS	03/38	20	2x
	CENARGEN/9637	Santana do Livramento-RS	06/43	40	4x
	CENARGEN/10288	Bagé-RS	03/47	20	2x
<i>A. punctata</i> var. <i>hilariana</i>	CENARGEN/6885	Vacaria-RS	04/58	20	2x
	CENARGEN/10812	Vacaria-RS	05/53	20	2x
<i>A. tristis</i>	CENARGEN/10757	Lagoa Vermelha-RS	10/101	20	2x
	CENARGEN/10814	Vacaria-RS	10/83	20	2x

CPPSUL - Centro de Pesquisa de Pecuária dos Campos Sul Brasileiros

EEL - Estação Experimental de Lages - SC - EPAGRI

CENARGEN - Centro nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia - Brasília - DF

\* População coletada na estrada entre Lages e Bom Jardim da Serra, no Planalto Serrano Catarinense, segundo informação pessoal de José Lino Rosa (Pesquisador da EPAGRI - Lages - SC)

segundo LEVAN *et al.* (1964). Para a estimativa da simetria cariotípica, foram calculados os índices de assimetria intracromossômica ( $A_1$ ) e intercromossômica ( $A_2$ ), segundo a metodologia proposta por ZARCO (1986).

Os dados obtidos para Tamanho Médio do Cromossomo (TMC), Índice Centromérico (IC),  $A_1$  e  $A_2$ , foram submetidos a análise de variância e teste de Scheffé em nível de 5% de significância.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, encontram-se os números cromossômicos e o nível de ploidia de cada população estudada. Em *A. latifolia* ( $2n=2x=20$ ) a determinação do número cromossômico foi realizada pela primeira vez, para as populações 1568, 1775 e 15025. As demais contagens concordam com as realizadas anteriormente por outros autores (CASTRONOVO, 1945; MIOTTO, 1994; HUNZIKER *et al.*, 1985).

Até o presente momento tratava-se *A. incana* como uma espécie unicamente tetraplóide com

$2n=40$  (CASTRONOVO, 1945; MIOTTO & FORNI-MARTINS, 1994). No entanto verificou-se tratar-se de uma espécie com raças cromossômicas, mesmo a nível intravarietal, como foi verificado no presente estudo, onde foram encontradas duas populações diplóides e uma tetraplóide na variedade *A. incana* var. *incana*.

Nas Figuras 1 e 2 estão representadas as metáfases e os idiogramas das cinco populações estudadas, e na Tabela 2, constam as características cariotípicas, determinadas a partir da análise dos cromossomos em metáfase mitótica.

Todas as espécies apresentaram uma baixa assimetria intracromossômica (0,22 a 0,37) e índices centroméricos maiores que 39, com predominância de cromossomos metacêntricos, revelando espécies com cariótipos simétricos.

Estatisticamente, há diferenças no TMC de *A. bicolor* 9614 (1,80m) para *A. latifolia* 1568 (1,21m) e *A. incana* var. *incana* 9636 (1,17m).

Quanto ao índice centromérico médio *A. bicolor* 9614 foi a que apresentou o maior valor (44), sendo a população de cariótipo mais simétrico, significativamente superior ao IC de *A. tristis* 10814 (39).

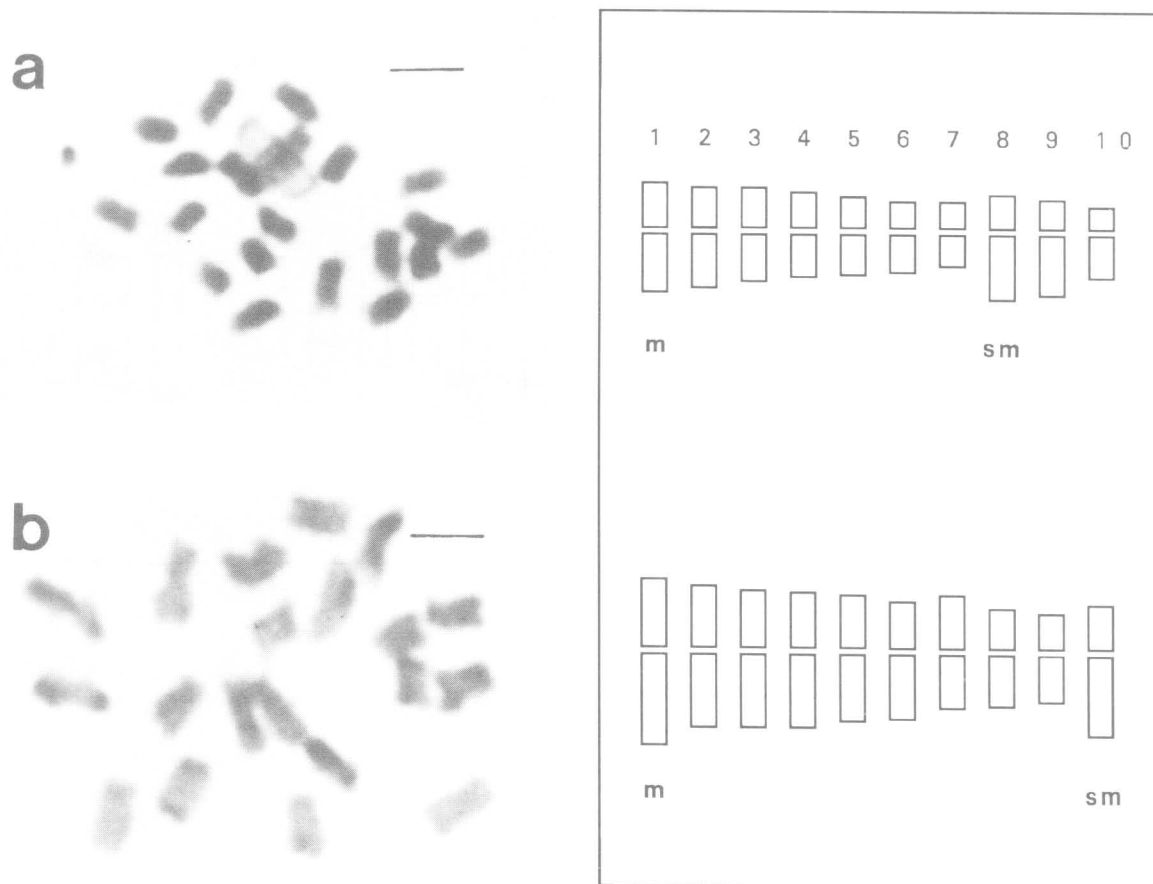


Figura 1 - Metáfases e idiogramas de a) *A. latifolia* 1568; b) *A. bicolor* 9614. Barra = 2 $\mu$ m

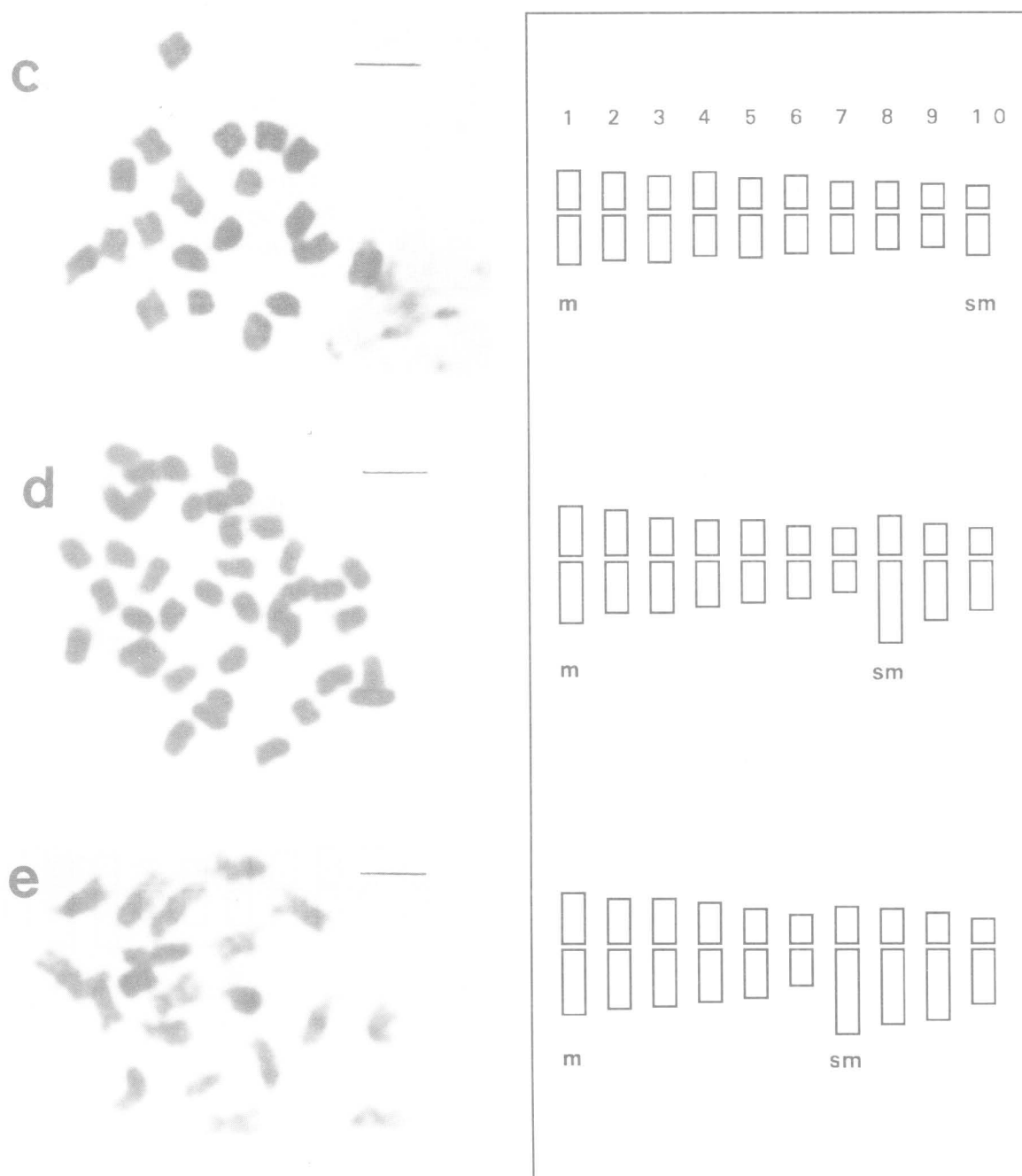


Figura 2 - Metáfases e idiogramas de c) *A. incana* var. *incana* 9636; d) *A. incana* var. *incana* 9637 (tetraplóide); e) *A. tristis* 10814. Barra = 2 $\mu$ m

No que diz respeito ao índice de assimetria intracromossômica ( $A_1$ ), *A. bicolor* 9614 (0,22) e *A. incana* var. *incana* 9636 (0,25) foram significativamente inferiores a *A. tristis* 10814 (0,37). O índice de assimetria intercromossômica ( $A_2$ ), que indica a variação de tamanho entre os cromossomos do complemento, foi semelhante para todas as populações estudadas.

Por estas características cromossômicas, *A. bicolor* 9614 parece ser a espécie de maior simetria cariotípica, o que segundo STEBBINS (1971), pode estar indicando plantas mais primitivas e *A. tristis* 10814 parece ser a mais recente na evolução, por possuir a menor simetria das espécies estudadas.

As populações 9636 (diplóide) e 9637 (tetraplóide) de *A. incana* var. *incana* foram coletadas em locais próximos do mesmo município (Santana do

Tabela 2 - Características cariotípicas de populações de espécies de *Adesmia*: Fórmula cariotípica, tamanho médio dos cromossomos (TMC), índice centromérico médio (IC), índice de assimetria intracromossômica ( $A_1$ ) e intercromossômica ( $A_2$ ).

Espécie/População	Fórmula cariotípica	TMC (m)	IC	$A_1$	$A_2$
<i>A. latifolia</i> 1568	14m+6sm	1,21 b*	41ab	0,29ab	0,19a
<i>A. bicolor</i> 9614	18m+2sm	1,80a	44a	0,22 c	0,19a
<i>A. incana</i> var. <i>incana</i> 9636	18m+2sm	1,17 b	43a	0,25 bc	0,14a
<i>A. incana</i> var. <i>incana</i> 9637	28m+12sm	1,40ab	42a	0,27abc	0,23a
<i>A. tristis</i> 10814	12m+8sm	1,60ab	39 b	0,37a	0,18a

\*Scheffé (P<0,05)

Livramento-RS). Poderia se esperar que 9637 fosse um autotetraplóide originado de um genoma próximo de 9636. Mas, embora a simetria cariotípica dada por IC, BC/BL,  $A_1$  e  $A_2$ , seja semelhante para ambas, as fórmulas cariotípicas diferem bastante quanto ao número de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos (18m+2sm para 9636 e 28m+12sm para 9637).

*A. incana* var. *incana* 9637 também pode ter se originado da poliploidização de um híbrido entre *A. incana* var. *incana* e outra espécie ou variedade, como *A. bicolor* e *A. punctata*, que também ocorrem no município de Santana do Livramento e têm áreas de ocorrência semelhantes. Segundo SINGH (1993), os ancestrais dos aloploplóides podem ser especulados com base na distribuição geográfica, características morfológicas, contagem de cromossomos, análise cariotípica, padrão de bandas isoenzimáticas e estudos moleculares. Sabe-se que *A. incana* e *A. punctata* têm morfologia muito semelhante, pois segundo VALLS (1984), em alguns casos, em exemplares mais pilosos de *A. punctata* é muito difícil distinguir estas duas espécies.

A maneira mais segura de determinar de que (quais) espécie (s) ou variedade (s) *A. incana* var. *incana* 9637 se originou, seria a adoção de um conjunto de técnicas de citogenética, de sistemática e reprodutivas, que serviriam para detectar o genoma original.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BURKART, A. Contribucion al estudio del género *Adesmia*. Lilloa, Tucuman, v. 15, p. 1-17, 1949.
- CASTRONOVO, A. Estudio cariológico de doce especies de leguminosas argentinas. *Darwiniana*, Buenos Aires, v. 7, n. 1, p. 38-57, 1945.
- COVAS, G., SCHNACK, B. Número de cromosomas en antófitas de la región del Cuyo (República Argentina). *Revista Argentina de Agronomía*, Buenos Aires, v. 13, n. 3, p. 153-166, 1946.
- COVAS, G. Estudios cariológicos em Antófitas. III. *Darwiniana*, Buenos Aires, v. 9, n. 1, p. 158-162, 1949.
- COVAS, G., HUNZIKER J.H. Estudios cariológicos em Antófitas. IV. *Rev Invest Agric*, Buenos Aires, v. 8, n. 3, p. 249-253, 1954.
- HUNZIKER, J.H., XIFREDA, C.C., WULFF, A.F. Estudios cromosomícos em angiospermas de sudamerica. *Darwiniana*, Buenos Aires, v. 26, n. 1/4, p. 7-14, 1985.
- KRAPOVICKAS, A., KRAPOVICKAS, A.M.F. Notas citológicas sobre leguminosas. *Darwiniana*, Buenos Aires, v. 9, n. 3/4, p. 612-3, 1952.
- LEVAN, A.K., FREDGA, K., SANDBERG, A.A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, Lundskrona, v. 52, p. 201-220, 1964.
- MIOTTO, S.T.S. O gênero *Adesmia* DC. (Leguminosae - Faboideae) no Brasil. Campinas-SP. 307 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Insitúto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, 1991.
- MIOTTO, S.T.S., FORNI-MARTINS, E.R. Número cromossômico em espécies brasileiras de *Adesmia* DC. (Leguminosae-faboideae). *Acta bot bras*, Porto Alegre, v. 8, n. 1, p. 3-9, 1994.
- SINGH, R.J. *Plant cytogenetics*. Urbana, Illinois:University of Illinois, 391 p. 1993.
- STEBBINS, G.L. *Chromosomal evolution in higher plants*. London: Addison-Wisley Publishing company, 216 p. 1971.
- VALLS, J.F.M. Notas sobre a taxonomia, disponibilidade de germoplasma e problemas para a utilização forrageira de *Adesmia* spp. no sul do Brasil. CENARGEN/EMBRAPA, Brasília-DF, 11 p., 1984 (não publicado)
- ZARCO, C.R. A new method for estimating karyotype asymetry. *Taxon*, Utrech, v. 35, p. 526-530, 1986.