

CARACTERIZAÇÃO CROMOSSÔMICA DE DUAS ESPÉCIES DA CAATINGA DA PARAÍBA E CEARÁ

Cattleya do Monte Pessoa Felix (1); Leonardo P. Felix (2), Reinaldo Farias Paiva de Lucena (3)

1DiscentemPrograma de Pós-Graduação em Desenvolvimento e Meio Ambiente (PRODEMA) da Universidade Federal da Paraíba, **2** Docente da Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Ciências Biológicas, Programa de Pós-Graduação em Agronomia; **3** Docente da Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Exatas e da Natureza, Departamento de Sistemática e Ecologia, Programa de Pós-Graduação em Meio Ambiente (PRODEMA)

Palavras-Chave: CMA/DAPI, *Ameroglossum*, *Magonia*, Caracterização cariotípica

Introdução

A província ecológica da Caatinga compreende uma área de aproximadamente 800.000 Km² incluindo partes de todos os estados da região Nordeste, uma parte do norte de Minas Gerais e o arquipélago de Fernando de Noronha (Andrade-Lima, 1981; Prado, 2003). É caracterizada por apresentar precipitações inferiores a 1000 mm (algumas áreas da Bahia, Pernambuco e Paraíba, com menos de 500 mm), distribuídos irregularmente no ano, com a ocorrência frequente de anos com pouca ou nenhuma precipitação (Nimer, 1972). Suas diversas formações são caracterizadas pela ocorrência de espécies arbóreas ou arbustivas de pequeno porte, frequentemente com espinhos e folhas pequenas, geralmente decíduas (Prado, 2003). De acordo com o site Flora do Brasil 2020 (floradobrasil.jbrj.gov.br), a vegetação da Caatinga é formada por um total de 4322 espécies, das quais 744 são consideradas endêmicas (Forzza et al., 2012). Apesar de ser considerado o quarto bioma mais rico do país, com cerca de 17% de espécies endêmicas, a Caatinga apresenta sérios problemas de conservação. Algumas ecorregiões são fortemente impactadas pela ação antrópica, especialmente as Depressões Sertanejas (Setentrional e Meridional) e a ecorregião Planalto da Borborema, sendo urgente a adoção de ações que minimizem esses impactos (Velloso et al., 2001). Para um planejamento detalhado de medidas para conservação em ambientes impactados, é de fundamental importância o conhecimento detalhado da diversidade florística de uma região (Prado, 2003), o que inclui os processos de especiação envolvido neste componente, entre eles a diferenciação cromossômica (Guerra, 2012). Para o bioma Caatinga, seria interessante o conhecimento detalhado da variação cromossômica mediada por alterações numéricas e estruturais. Contudo, não se conhece nenhuma abordagem citogenética voltada especialmente para plantas dessa região, o que dificulta a adoção de medidas conservacionistas realísticas, uma vez que muitas espécies têm seu isolamento reprodutivo mediado por variações cromossômicas interpopulacionais (Rieseberg & Willis, 2007). Para a região Nordeste, apesar da publicação recente de trabalhos envolvendo citogenética de plantas da Caatinga, são relativas raras as abordagens voltadas especialmente para plantas desse bioma (ver, por exemplo, Pitrez et al., 2014). Neste trabalho, são descritos os cariótipos de duas espécies com ocorrência no bioma Caatinga, com base na coloração CMA/DAPI buscando caracterizar cromossomicamente as duas espécies.

Metodologia

Coleta e documentação botânica

Foram analisadas duas espécies de Eudicotiledôneas provenientes de coletas realizadas no bioma Caatinga nos estados da Paraíba e Ceará, mantidas em cultivo no jardim experimental do Laboratório de Citogenética Vegetal do Departamento de Ciências Biológicas do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal da Paraíba. Foram preparadas exsiccatas das três espécies, que se encontram depositadas junto ao acervo do Herbário Prof. Jayme Coelho de Moraes do Centro de Ciências Agrárias da UFPB.

Preparação das lâminas

Foram coletadas pontas de raízes diretamente do material cultivado, que foram e prétratadas com 8-hidroxiquinoleína 0,002M por 24 h a 10°C, fixadas em etanol-ácido acético 3:1 (v/v) por 2h à temperatura ambiente, posteriormente estocadas em freezer a -20°C. Para o preparo das lâminas, as raízes foram inicialmente lavadas em água destilada, digeridas em uma solução contendo celulase (Onozuka) 2% e pectinase (Sigma) a 20% (w/v) por duas horas a 37°C. As lâminas foram então preparadas pelo método de esmagamento (Guerra & Souza, 2002), em uma gota de ácido acético 60%, e depois congeladas nitrogênio líquido para remoção das lamínulas, secas ao ar e envelhecidas por três dias em câmara escura à temperatura ambiente.

Coloração CMA/DAPI

A dupla coloração com os fluorocromos Cromomicina A3 (CMA) e 4',-6-diamidinino2-fenilindol (DAPI) foi realizada conforme descrito por Barros e Silva e Guerra (2010). As lâminas foram coradas com 10µL de CMA (0.2 mg mL⁻¹) por 1h, e posteriormente com 10µL de DAPI (2 µg mL⁻¹) por 30 min. As lâminas foram montadas em meio tampão glicerol/McIlvaine, envelhecidas por três dias para a estabilização dos fluorocromos e fotografadas em fotomicroscópio de epifluorescência Zeiss equipado com câmera de vídeo AxioCam MRC5 com o auxílio do software Axiovision 4.8. As imagens foram processadas em brilho e contraste por meio do software Photoshop CS3.

Resultados e discussão

Ameroglossum pernambucense Eb. Fisch., S. Vogel & A. V. Lopes: Apresentou cariótipo relativamente simétrico, formado por 2n = 60, cromossomos pequenos medindo de 0,9 a 2,2 µm,

com duas grandes bandas CMA+/DAPI- longamente distendidas em prometáfase e pelo menos quatro bandas CMA menores proximais (Figuras 1 A-C), sem bandas DAPI visíveis (Figura 1 A-C). Neste trabalho foi confirmada a única contagem prévia para a espécie, assim como o padrão de bandas heterocromáticas caracterizado pela ocorrência de pequenas bandas CMA proximais (Almeida et al., 2016). O gênero *Ameroglossum* é endêmico de afloramentos rochosos da Região Nordeste, sendo conhecidas apenas duas espécies que embora apresentem o mesmo número cromossômico, se diferenciam por apresentar padrões de bandas distintos, especialmente pela ocorrência de bandas CMA proximais em *A. pernambucense* (Almeida et al., 2016). Diferenças em padrões de banda CAM têm sido frequentemente utilizadas na delimitação de espécies relacionadas (ver, por exemplo, Pessoa et al., 2014). No caso do gênero *Ameroglossum* pode ser uma ferramenta importante para a delimitação de espécies crípticas geograficamente isoladas.

Magonia pubescens A.St-Hil. Apresentou cariótipo simétrico com $2n = 30$, com tamanho cromossômico variando 1,8 a 4,0 μm , com quatro bandas CMA terminais, duas delas distendidas, provavelmente correspondentes às Regiões Organizadoras do Nucléolo (Figura 1 D-E). O presente registro confirmou as contagens prévias para a espécie, todas com $2n = 30$ (Gibs et al., 1982; Pinto-Maglio et al., 1984; Forni-Martins et al., 1995). Apesar de ser uma espécie distribuída amplamente pelo cerrado brasileiro, esta espécie ocorre no bioma Caatinga numa fisionomia localmente denominada de Carrasco localizada no Planalto da Ibiapaba (Araújo e Martins, 1999) de onde proveio nossa amostra, ao contrário das análises prévias, todas provenientes do Cerrado *sensu strictu* das regiões sudeste e Centro Oeste do Brasil. Apesar de alguns gêneros de Sapindaceae variarem em termos de números cromossômicos, como o gênero *Cardiospermum* (Urdampilleta et al., 2013), outros, como *Paullinia*, são numericamente mais estáveis (Ferrucci, 2000). Contudo, *Paullinia* apresenta variação na quantidade e localização das bandas heterocromáticas úteis na caracterização de espécies (Urdampilleta et al., 2007). Para o gênero monoespecífico *Magonia*, uma análise populacional poderia ser útil no entendimento dos processos de evolução cariotípica desta espécie que possui ampla distribuição e populações geograficamente isoladas.

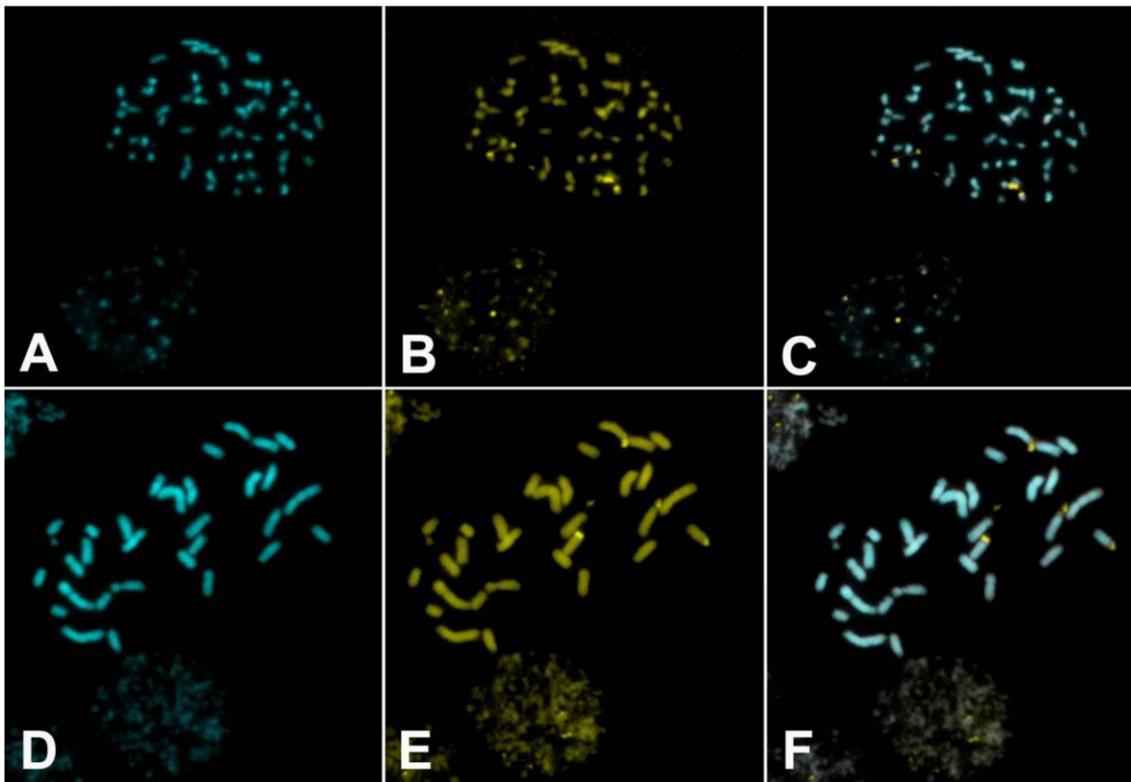


Figura 1. A-C. Metáfases mitóticas de *Ameroglossum pernambucense* coradas com DAPI (A), CMA (B) e DAPI e CMA sobrepostos (C). D-F. Metáfases mitóticas de *Magonia pubescens* coradas com DAPI (D), CMA (E) e DAPI e CMA sobrepostos (F).

Conclusões

1. O presente trabalho confirmou todas as contagens prévias para as duas espécies analisadas;
2. As duas espécies estudadas apresentaram apenas heterocromatina CMA+, portanto, ricas nos pares de base AT; 3. Em ambas as espécies a heterocromatina foi restrita às regiões organizadoras do nucléolo;
3. Em ambas as espécies a heterocromatina foi restrita às regiões organizadoras do nucléolo.

Fomento: Esse trabalho foi suportado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

Referências bibliográficas

ALMEIDA, E.M.; WANDERLEY, A.M.; NOLLET, F.; COSTA, F.R.; SOUZA, L.G.R.; FELIX, L.P. A new species of *Ameroglossum* (Scrophulariaceae) growing on inselbergs in Northeastern Brazil. *Systematic Botany* v. 41, p. 423-429. 2016.

- ANDRADE-LIMA, D. The Caatingas dominium. *Revista Brasileira de Botânica* v. 4, p. 149-163. 1981.
- BARROS E SILVA A.E.; GUERRA M. The meaning of DAPI bands observed after Cbanding and FISH procedures. *Biotechnic & Histochemistry* v. 85, p. 115-125. 2010.
- FERRUCCI, M.S. Cytotaxonomy of Sapindaceae with special reference to the tribe Paullinieae. *Genetics and Molecular Biology* v. 23, p. 941-946. 2000.
- FORZZA, R.F.C.; BAUMGRATZ, J.F.A; BICUDO, C.A.M. ET AL. New Brazilian Floristic List Highlights Conservation Challenges. *BioScience* v. 62, p. 39-45. 2012.
- FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 12 Out. 2017.
- FORNI-MARTINS, E.R.; PINTO-MAGLIO, C.A.F.; CRUZ, N.D. Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. *Revista Brasileira de Genética* v. 18, p. 281-288. 1995.
- GIBBS, P.E.; INGRAM, R. Chromosome numbers of some Brazilian flowering plants. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh* v. 40, p. 399-407. 1982.
- GUERRA, M. Cytotaxonomy: The end of childhood. *Plant Biosystems* v. 146: 703-710. 2012.
- GUERRA, M.; SOUZA, M. J. Como observar cromossomos. Ribeirão Preto: Ed.Funpec, 2002.
- NIMER, E. Climatologia da região Nordeste do Brasil. Introdução à climatologia dinâmica. *Revista Brasileira de Geografia* v. 34, p. 3-51. 1972.
- PESSOA, E.; FELIX, L.P.; ALVES, M. A new *Epidendrum* (Laeliinae-Orchidaceae) from the Atlantic Forest of northeastern Brazil: Evidence from morphology and cytogenetics. *Brittonia* v. 66, p. 347-352. 2014.
- PINTO-MAGLIO, C.A.F.; FORNI-MARTINS, E.R.; CRUZ, N.D. Chromosome Number Reports LXXXIV. *Taxon* v. 33, p. 536-539. 1984.
- PRADO, D.E. 2003. As caatingas da América do Sul. In: LEAL, I.R.; TABARELLI, M.; SILVA, J.M.C. (eds.). *Ecologia e conservação da caatinga*. Ed. Universitária da UFPE, Recife. Pp. 3-73.
- RIESEBERG, L.H.; JOHN H. WILLIS, J.H. Plant Speciation. *Science* v. 317, p. 910914. 2007.
- URDAMPILLETA, J.D.; JCOULLERI, J.P.; FERRUCCI, M.S.; FORNI-MARTINS, E.R. Karyotype evolution and phylogenetic analyses in the genus *Cardiospermum* L. (Paullinieae, Sapindaceae). *Plant Biology* v. 15, p. 868-881. 2013.
- URDAMPILLETA, J.D.; FERRUCCI, M.S.; VANZELA, A.L.L. Cytogenetic studies of four South American species of *Paullinia* L. (Sapindaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* v. 154, p. 313-320. 2007.
- VELLOSO, A.L.; SAMPAIO, E.V.S.B.; GIULIETTI, A.M. et al. 2001. Ecorregiões propostas para o bioma Caatinga. In: Velloso, A.L.; Sampaio, E.V.S.B.; Pareyn, F.G.C. (Org.). *Resultados do seminário de planejamento ecorregional da Caatinga*. Aldeia, Pernambuco: The Nature Conservancy do Brasil.