



70 Congresso
Brasileiro de
Melhoramento
de Plantas

05 a 08 de agosto de 2013
Center Convention - UBERLÂNDIA - MG

Variedade Melhorada:
A força da nossa agricultura



ANAIS

Número Cromossômico e Quantidade de DNA nuclear de Espécies do Gênero *Astrocaryum*¹

Natália Padilha de Oliveira², Gabriel de Siqueira Gesteira³, Maria do Socorro Padilha de Oliveira⁴, Lisete Chama Davide⁵

Resumo

Entre as espécies do gênero *Astrocaryum* merecem destaque *Astrocaryum vulgare*, *A. murumuru* e *A. aculeatum* pelo seu potencial econômico. No entanto, nenhum estudo a respeito de suas características citogenéticas foi realizado até o momento. Este trabalho foi realizado com o objetivo de verificar o número de cromossomos e estimar a quantidade de DNA nuclear das espécies *A. vulgare*, *A. murumuru* e *A. aculeatum* visando gerar informações para bancos de germoplasma. Para verificar o número cromossômico, pontas de raízes foram pré-tratadas em colchicina 0,1%, fixadas em Carnoy 3:1 (álcool/ácido acético) e as lâminas foram confeccionadas pela técnica de esmagamento e coradas com Giemsa. Avaliou-se para cada espécie 20 metáfases com bom espalhamento e as melhores foram digitalizadas. Para estimar a quantidade de DNA nuclear seguiu-se o protocolo proposto por Galbraith, utilizando o feijão (*Vicia faba*) como espécie padrão de referência. As análises foram feitas em citômetro FascCalibur. As três espécies apresentaram $2n = 30$ cromossomos e valores de quantidade $2C$ de DNA de 4,71 pg (*A. aculeatum*), 4,61 pg (*A. murumuru*) e 4,58 pg (*A. vulgare*). Os resultados no presente trabalho são inéditos para as espécies estudadas e podem ser utilizados como ferramenta auxiliar na taxonomia deste grupo e na caracterização do banco de germoplasma.

Introdução

O gênero *Astrocaryum* pertence à família Arecaceae, constituída essencialmente por palmeiras, e é comumente encontrado em ecossistemas tropicais da América do Sul. Esse gênero está distribuído em doze países, e abrange 40 espécies, sendo relatada no Brasil a ocorrência de 26, das quais algumas têm potencial econômico, seja pela extração de fibra, pela produção de frutos ou pela produção de óleo (Kahn, 2008). Com relação ao potencial econômico, as espécies *A. murumuru* Mart., *A. vulgare* Mart. e *A. aculeatum* G. Mey merecem destaque (Miranda *et al.*, 2001; Villachica *et al.* 1996), no entanto, informações básicas, como o número de cromossomos e quantidade de DNA ainda são desconhecidas, o que dificulta o avanço na pesquisa desse material.

Análises citogenéticas são de grande utilidade, pois fornecem informações úteis para a caracterização de bancos de germoplasma, bem como para a manipulação desses recursos em programas de melhoramento genético (Auler, Battistin e Reis, 2006; Karsburg e Battistin, 2006). Informações citogenéticas para espécies do gênero *Astrocaryum* são inexistentes.

A análise da quantidade de DNA nuclear por meio da citometria de fluxo em espécies vegetais é uma ferramenta que tem sido aplicada, principalmente na estimativa do tamanho do genoma, análise de ploidia e na detecção de alterações numéricas (Bennett e Leitch, 1995). Em palmeiras, informações acerca da quantidade $2C$ de DNA utilizando essa metodologia ainda são escassas (Oliveira, 2011; Oliveira, 2012).

Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi verificar o número cromossômico e estimar a quantidade de DNA nuclear das espécies *A. murumuru*, *A. vulgare* e *A. aculeatum*.

Material e Métodos

Foram utilizados sementes e folíolos de cinco indivíduos das espécies *A. murumuru*, *A. vulgare* e *A. aculeatum*, oriundas de matrizes de Bancos de Germoplasmas, conservadas *in vivo*, nas cidades de Belém, Manaus e Macapá.

Para a contagem cromossômica, após a germinação das sementes, pontas de raízes com aproximadamente 1cm foram coletadas e pré-tratadas em colchicina 0,1% por 5h a 4°C. Em seguida,

¹ Parte da tese de doutorado do primeiro autor

² Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento de Plantas – UFLA/Lavras. Bolsista do CNPq. e-mail: naty_poliveira@hotmail.com.br

³ ³ Aluno de graduação em Agronomia na Universidade Federal de Lavras, UFLA/Lavras. email: gabrielgesteira@hotmail.com

⁴ ⁴ Pesquisadora da Embrapa Amazônia Oriental – CPATU – EMBRAPA/Belém. e-mail: socorro-padilha.oliveira@embrapa.br

⁵ Professora Titular da Universidade Federal de Lavras – UFLA – Lavras. e-mail: lisete.ufla@gmail.com

o material foi fixado em solução Carnoy 3:1 (álcool etílico:ácido acético) e armazenadas a -20°C até o momento de utilização. Para o preparo das lâminas, as pontas de raízes foram submetidas à digestão enzimática com pectinase/celulase (100/200u) por aproximadamente 2h. As lâminas foram confeccionadas pela técnica de esmagamento utilizando ácido acético 60% como meio de montagem, e em seguida foram coradas com Giemsa. As lâminas foram analisadas em microscópio de campo claro (Zeiss Lab.A1), equipado com microcâmera (Axio Cam ICc 1) para digitalização das melhores metáfases. Para cada espécie foram analisadas 20 metáfases com bom espalhamento.

Para a estimativa da quantidade de DNA nuclear, amostras de folíolos frescos dos cinco indivíduos de cada espécie foram maceradas em tampão Marie, de acordo com o protocolo desenvolvido por Galbraith et al. (1983), para a obtenção de uma suspensão de núcleos utilizando iodeto de propídio (1mg/ml) como fluorocromo. A espécie *Vicia faba* L. foi utilizada como padrão interno de referência. Para cada amostra foram analisados pelo menos 10.000 núcleos.

A análise foi realizada no citômetro FacsCalibur (BD Biosciences, San Jose, CA, USA), sendo os histogramas obtidos no software Cell Quest (Becton Dickinson e Companhia, San Jose, CA, USA) e analisados no software WinMDI 2.8.

Os valores médios encontrados foram comparados pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

Resultados e Discussão

As metáfases analisadas das três espécies apresentaram $2n=30$ cromossomos (Figura 1).

Estudos sobre análises citogenéticas, mesmo contagem cromossômica, para espécies deste gênero são inexistentes na literatura. No entanto, há bastante informação acerca de outras espécies da família Arecaceae (Röser, 1995, 1999; Röser, Johnson e Hanson, 1997; Oliveira, 2011; Oliveira, 2012). O número de cromossomos para essa família varia entre $2n=26$ a $2n=36$, com número básico inicial de $x=18$, sendo que a tendência evolutiva deste grupo foi de redução do número (Röser, 1995). Dessa forma, pode-se inferir que este gênero faz parte do grupo de gêneros com origem mais recente dentro da escala evolutiva da família Arecaceae.

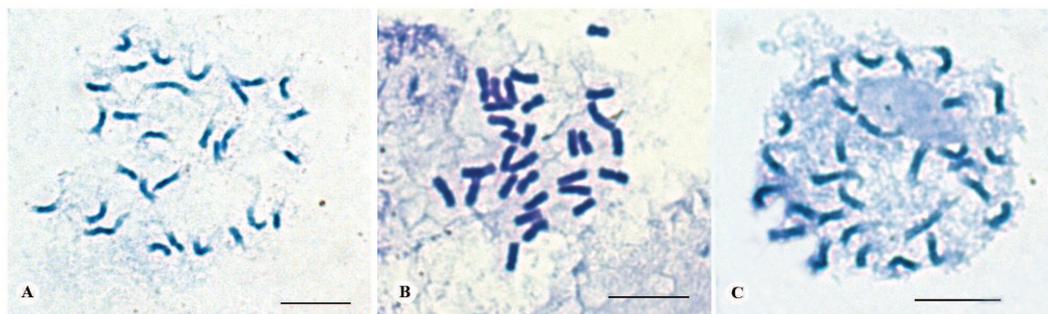


Figura 1. Metáfases e pró-metáfases mitóticas obtidas para *A. aculeatum* (A), *A. murumuru* (B) e *A. vulgare* (C) evidenciando $2n = 30$ cromossomos. Barras indicam $10\mu\text{m}$.

No que tange a quantidade de DNA nuclear, a espécie que apresentou o maior valor médio, 4,711 pg, foi *A. aculeatum*, seguido de *A. murumuru* com 4,61 pg e *A. vulgare* com aproximadamente 4,58 pg, sendo que esses dois últimos valores foram estatisticamente diferentes do primeiro (Tabela 1).

Tabela 1. Valores médios (pg) para quantidade 2C de DNA para as espécies de *Astrocaryum*.

Espécie	Média
<i>A. aculeatum</i>	4,7111 a*
<i>A. murumuru</i>	4,6057 b*
<i>A. vulgare</i>	4,5768 b

*: Números seguidos de letras diferentes, indicam valores médios distintos estatisticamente, pelo teste de Tukey, com probabilidade de 0,05.

A maior parte da informação disponível na literatura, acerca da quantidade de DNA nuclear em palmeiras, foi obtida por meio de microdensitometria por coloração com Feulgen (Röser, Johnson e Hanson,

1997), sendo a citometria de fluxo uma metodologia recentemente empregada para essa família (Oliveira, 2011; Oliveira, 2012). A quantidade 2C de DNA encontrada para espécies de Arecaceae varia entre 3,69 e 55,62 pg em diploides (Röser, Johnson e Hanson, 1997), assim, os valores estimados nesse trabalho aproximam-se dos menores genomas.

Em um estudo sobre os aspectos filogenéticos do gênero *Astrocaryum*, as três espécies abordadas nesse trabalho foram separadas em clados distintos, de acordo com sua origem evolutiva. Os clados das espécies *A. murumuru* e *A. vulgare* formam grupos que divergiram mais recentemente do que quando comparados com o clado de *A. aculeatum* (Roncal et al., 2013). Portanto, os resultados aqui obtidos para as quantidades de DNA nuclear corroboram essa diferença.

Os resultados no presente trabalho são inéditos para as espécies e podem ser utilizados como ferramenta auxiliar na taxonomia deste grupo e na caracterização do banco de germoplasma.

Agradecimentos

Os autores agradecem as três unidades da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária / EMBRAPA CPATU, CPAFAP e CPAA pela oportunidade de realizar este trabalho, por meio do envio do material necessário às análises. À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, a FAPEMIG e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pelo apoio financeiro e pela concessão da bolsa de estudo de doutorado.

Referências

- Auler, N. M. F.; Battistin, A.; Reis, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis trimera* (Less.) D.C.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2006.
- Bennett, M. D.; Leitch, I. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Annals of Botany**, London, v. 76, n. 1, p. 113-176, Mar. 1995.
- Galbraith, D. W. et al. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissue. **Science**, New York, v. 220, n. 4601, p. 1049-1051, June 1983.
- Kahn, F. The genus *Astrocaryum*. Las palmeras en América del Sur – **Revista Peruana de Biología**, v. 15, n.1, p. 031-048, 2008.
- Karsburg, I. V.; Battistin, A. Meiose e número cromossômico de cinco espécies da família Urticaceae do Rio Grande do Sul. **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, Alta Floresta, v. 4, n. 1, p. 47-60, 2006.
- Miranda, I. P. A.; Rabelo, A.; Bueno, C. R.; Barbosa, E. M.; Ribeiro, M. N. S. **Frutos de palmeiras da Amazônia**. 1ed. Manaus: MCT INPA. p. 21-22, 2001.
- Oliveira, L. C. **Palinologia, citogenética e conteúdo de DNA nuclear em espécies do gênero *Euterpe***. 2011. 92 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2011.
- Oliveira, N. P. **Estudos polínicos, citogenética e quantidade de DNA nuclear em espécies de *Oenocarpus Mart.* (Arecaceae)**. 2011. 98 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.
- Roncal, J.; Kahn, F.; Millan, B.; Couvreur, T. L. P.; Pintaud, J. Cenozoic colonization and diversification patterns of tropical American palms: evidence from *Astrocaryum* (Arecaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, n.171, p. 120-139.
- Röser, M. Chromosome structures and karyotype rearrangement in Palms (Palmae). **Memoirs of the New York Botanical Garden**, New York, n. 83, p. 61-71, 1999.
- Röser, M. Trends in the karyo-evolution of palms. In: KEW CHROMOSOME CONFERENCE, 4., 1995, Kew. **Proceedings...** Kew: Royal Botanic Gardens, 1995. p. 249-265.
- Röser, M.; Johnson, M. A. T.; Hanson, L. Nuclear DNA amounts in palms (Arecaceae). **Botanica Acta**, Stuttgart, v. 110, n. 1, p. 79-89, 1997.
- Villachica, H. et al. Frutales y hortalizas promisorios de la Amazonía. In: _____. **Tratado de cooperación Amazonica**. Lima: FAO, 1996. p. 264-267.