

ANÁLISE CITOGENÉTICA DE ESPÉCIES DE ORCHIDACEAE DE OCORRÊNCIA NAS DUNAS DO ABAETÉ (SALVADOR, BA - BRASIL)

CYTOGENETIC ANALYSIS OF SPECIES OF ORCHIDACEAE WITH OCCURRENCE ON ABAETÉ DUNES (SALVADOR, BA - BRAZIL)

Leila Patrício da Conceição*

Luciana Veiga Barbosa**

RESUMO:

No presente estudo foram determinados o número cromossômico e o nível de ploidia das espécies *Cyrtopodium parviflorum*, *Vanilla bahiana* e *Galeandra* sp. e o comportamento meiótico de *V. bahiana*. Foram analisadas metáfases mitóticas de tecido meristemático de pontas de raiz coradas segundo o método de Feulgen e células-mãe de pólen, coradas com carmim-propiónico. O número somático foi $2n=2x=46$ em *C. parviflorum*, confirmando o número básico do gênero $x=23$, e $2n=2x=32$ em *V. bahiana*, com cariótipo bimodal e presença de 16 II. *Galeandra* sp. apresentou $2n=4x-2=110$, sugerindo a ocorrência de disploidia na evolução dessa espécie.

PALAVRAS-CHAVE: Número Básico; Número de Cromossomos; Cariótipo; Disploidia; Poliploidia.

ABSTRACT:

In this study there determined the chromosome number and ploidy level of *Cyrtopodium parviflorum*, *Vanilla bahiana* and *Galeandra* sp. and meiotic behavior of *V. bahiana*. Mitotic metaphases were analyzed in meristematic tissue of the root tips stained following the Feulgen method. Pollen mother cells, were analysed with propionic carmine. The somatic number was $2n=2x=46$ in *C. parviflorum*, in accordance to the basic number $x=23$, and $2n=2x=32$ in *V. bahiana*, with bimodal karyotype and 16II. *Galeandra* sp. presented $2n=4x-2=110$, suggesting the occurrence of dysploidy in the evolution of the species.

KEY WORDS: Basic Number; Chromosome Number; Karyotype; Disploidy; Polyploidy.

INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae representa cerca de 10% de todas as espécies de Angiospermas, possuindo cerca de 19.500 espécies e 775 gêneros (JUDD *et al.*, 1999). Na última grande revisão das espécies brasileiras, PABST & DUNGS (1975, 1977), apontaram cerca de 2.350 espécies e 191 gêneros para o Brasil. Atualmente, acredita-se que este número aproxima-se de 2.500 espécies (DRESSLER 1982). Trata-se de uma família altamente especializada, considerada, por muitos botânicos, a mais diretamente derivada das Liliopsida. Já foram descritas mais de 25.000 espécies e produzidos outros tantos híbridos, através de cruzamentos entre formas espontâneas e cultivadas. Sua distribuição é ampla, sendo considerada uma família tipicamente tropical, bastante variável, tanto do ponto de vista morfológico como daquele do número de cromossomos de suas espécies (BLUMENSCHNEIN, 1957).

*Acadêmica do Curso de Graduação em Ciências Biológicas da Universidade Federal da Bahia, Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Geral, Laboratório de Citogenética Vegetal – Bolsista PIBIC/CNPq.

**Docente do Curso de Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, Instituto de Biologia, Departamento de Biologia Geral, Laboratório de Biologia Molecular. Pós-Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas (ESALQ/USP-Piracicaba-SP). E-mail veiga@ufba.br

Dezessete espécies, distribuídas em doze gêneros, são encontradas na Área de Proteção Ambiental das Lagoas e Dunas do Abaeté (APA-Abaeté), Salvador/BA – Brasil: *Brassavola ceboletta* Rchb. f., *Catasetum discolor* Lindl., *C. macrocarpum* Kunth, *Cyrtopodium paranaense* Schltr., *C. parviflorum* Lindl., *Cyrtopodium* sp., *Encyclia dichroma* (Lindl.) Schltr., *Epidendrum cinnabarinum* Salzm., *E. huebneri* Schltr., *Epistephium lucidum* Cogn., *Eulophidium maculatum* (Lindl.) Pitz, *Galeandra montana* Lindl., *Liparis* sp., *Vanilla bahiana* Hoehne, *V. palmarum* Lindl. e duas espécies ainda não identificadas (BRITTO *et al.*, 1993; Vieira, 1998). Muitas delas ainda não têm registro do número cromossômico.

Apesar da existência de alguns estudos citogenéticos na família, o número básico de cromossomos ainda é incerto, dificultando tanto a estimativa do nível de ploidia, quanto estudos de evolução cariotípica (FÉLIX & GUERRA, 2000). Dentro deste contexto, o presente trabalho tem como objetivo analisar a mitose e a meiose das espécies *Cyrtopodium parviflorum*, *Vanilla bahiana* e *Galeandra* sp., de ocorrência na APA-Abaeté, Salvador/BA - Brasil, contribuindo para o conhecimento citogenético das orquídeas, e embasando discussões para o estabelecimento do número básico nos gêneros e na família.

MATERIAL E MÉTODOS

Os materiais utilizados nesse estudo, das espécies *C. parviflorum*, *V. bahiana* e *Galeandra* sp. foram coletados na APA-Abaeté, localizada ao Norte de Salvador, Bahia, Brasil, a 38°21' Oeste e 12°56' Sul. As identificações dessas espécies foram baseadas em BRITTO *et al.* (1993). No caso de *Galeandra* sp., aparentemente só o gênero foi identificado, podendo ser *Galeandra montana*, uma espécie registrada na APA-ABAETÉ por VIEIRA (1998).

Nas análises mitóticas, raízes com cerca de 3cm. de comprimento, das três espécies, foram coletadas e submetidas ao pré-tratamento com 8-hidroxiquinoleína (0,002M) a 4°C durante 24 horas, sendo em seguida, fixadas em solução de Carnoy (3 álcool etílico: 1 ácido acético) por 18-24 horas, mantidas em etanol 70% e estocadas em refrigerador a 4°C. Para a observação dos cromossomos mitóticos, procedeu-se à hidrólise em HCl 1N a 60°C por 8 min, segundo o método de coloração de Feulgen. As lâminas foram preparadas em carmim acético 1% e observadas ao microscópio em seguida. Lâminas permanentes foram montadas com Entelan. Um mínimo de 30 metáfases de cada espécie foi analisado para a contagem cromossômica.

Para os estudos meióticos, botões florais de *V. bahiana* foram fixados em Carnoy durante 24 horas e armazenados em etanol 70% em refrigerador a 4°C. Os microsporócitos foram corados usando-se a metodologia convencional de coloração em carmim propiônico 2%. Nas análises meióticas de *V. bahiana*, um mínimo de 20 células no estágio de diacinese foram observadas, considerando-se o pareamento dos cromossomos homólogos.

As lâminas foram observadas em microscópio Olympus BX 41, e fotografadas utilizando-se filme preto-e-branco NEOPAN ASA 100.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises mitóticas em *C. parviflorum* mostraram $2n=46$ cromossomos (Figura 1a) e em *V. bahiana*, $2n=32$, com cariótipo tendendo à bimodalidade (Figura 1b). Para a espécie *Galeandra* sp., foi determinado o número cromossômico $2n=110$ (Figura 1c). Nas análises meióticas, foram observados 16 II para a espécie *V. bahiana*, confirmando o número diplóide $2n=32$.

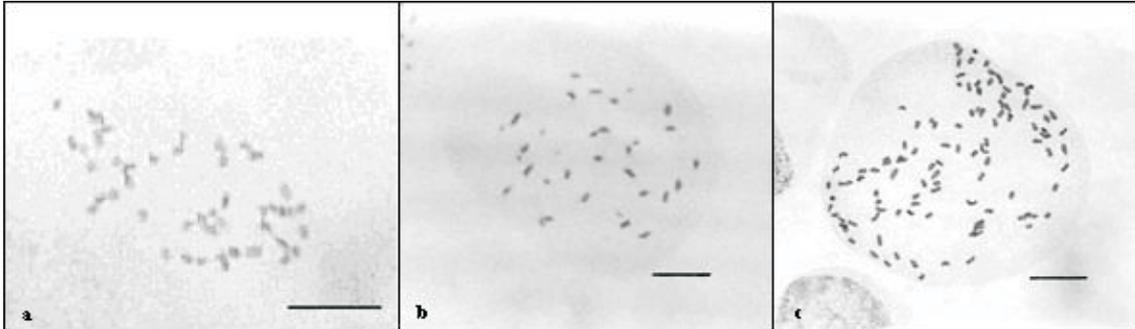


Figura 1. Número de cromossomos mitóticos de *Orchidaceae*. (a) *Cyrtopodium parviflorum* $2n = 46$; (b) *Vanilla bahiana* $2n = 32$; (c) *Galeandra* sp. $2n = 110$.

O sinal Barra nas imagens representa 10 μ m.

Os números cromossômicos conhecidos na família *Orchidaceae* mostram uma grande variação, estendendo-se entre os limites de $2n=12$ em *Psymorchis pusilla* (FÉLIX & GUERRA, 1999) a $2n=240$ em *Epidendrum cinnabarinum* (GUERRA, 2000). DODSON (1957) considerava possível o número básico das orquídeas $n=5$, mas a freqüente ocorrência de $n=10$ e $n=20$ na família, sugere $x=10$ como o número básico mais provável. Já SINOTO (1962) admite, para a subtribo Oncidiinae, uma variação do número básico de $x=5$ e $x=7$. Já os gêneros *Vanilla* e *Cyrtopodium* são relativamente uniformes quanto ao número de cromossomos (Tabela 1). Segundo GUERRA (2000), o provável número básico de cada gênero é identificado como o número haplóide que mais parcimoniosamente explica a variabilidade cromossômica estabelecida no táxon. Assim é possível indicar o número que, mais provavelmente, representa o complemento haplóide original de cada gênero.

Tabela 1. Número de cromossomos de espécies dos gêneros *Vanilla*, *Cyrtopodium* e *Galeandra* (Orchidaceae).

ESPÉCIES	n	2n	REFERÊNCIAS
<i>Vanilla aromatica</i> Sw.		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. bahiana</i> Hoehne	16	32	Presente Trabalho
<i>V. barbellata</i>		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. dilloniana</i>		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. fragans</i>		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. griffithii</i> Rchb.		32	Golldblat, 1981
<i>V. hartii</i> Rolfe.		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. imperialis</i> Kraenzl.	16		Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. moonii</i> Thw.		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. papino</i>		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. planifolia</i> Andrews		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
		28-32	Tanaka & Kamemoto, 1984
	16	32	Tanaka & Kamemoto, 1984
		25,26,28,30-	Nair & Ravindran, 1994
		32	Vij. & Subramanian, 1994
		32	
<i>V. pompona</i> Schiede	16	32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. siamensis</i>		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>V. thaitii</i> Moore		32	Tanaka & Kamemoto, 1984
<i>Cyrtopodium andersonii</i> (Andr.) R. Br.		46	Aoyama <i>et al.</i> ,1989
<i>C. blanchetii</i> Rch. f.		92	Félix & Guerra, 2000
<i>C. eugenii</i> Rchb. f.	22		Félix & Guerra, 2000
<i>C. gigas</i> (Vell.) Hoehne		46	Félix & Guerra, 2000
<i>C. inaldianum</i> L.C.Menezes		46	Félix & Guerra, 2000
<i>C. intermedium</i> Brade	23	46	Félix & Guerra, 2000
<i>C. paranaense</i> Schltr.		46	Félix & Guerra, 2000
<i>C. parviflorum</i> Lindl.		46	Presente Trabalho
<i>C. punctatum</i> (L.) Lindley		46	Aoyama <i>et al.</i> ,1989
<i>Galeandra baueri</i> Lindl.		56	Aoyama <i>et al.</i> ,1989

A espécie *V. bahiana* apresentou $2n=32$ cromossomos, confirmado pelas análises meióticas, que evidenciaram a presença de 16 II. Esta espécie é endêmica das Dunas do Abaeté, crescendo como epífita, tendo o primeiro registro cromossômico determinado no presente estudo. As espécies analisadas no gênero *Vanilla* mostram uniformidade de $2n=32$ (Tabela 1), confirmando o número básico $x=16$ para o gênero, tratando-se, portanto, de espécie diplóide (TANAKA & KAMEMOTO, 1984). Entretanto, a espécie *V. planifolia* apresenta uma variação que reflete uma série aneuplóide $n=13, 14, 15, 16$ (Tabela 1). Nesta espécie, NAIR & RAVINDRAN (1994), observaram variação cromossômica de $2n=20$ a 32 cromossomos. Nessas análises, o grande número de associações de cromossomos mitóticos observado reflete uma dinâmica de rearranjos cromossômicos que, possivelmente, resultaram na variação cromossômica registrada.

O número cromossômico $2n=46$ em *C. parviflorum*, determinado pela primeira vez, confirma o número básico do gênero, $x=23$ (FÉLIX & GUERRA 2000). Estes autores mostraram a ocorrência de uma variação aneuplóide decrescente de $2n=22$ em *Cyrtopodium eugenii* e variação no nível de ploidia em *Cyrtopodium blanchetii*, um tetraplóide com $2n=92$, os quais são morfologicamente distintos das outras espécies de *Cyrtopodium*.

Para *Galeandra sp.* foi estabelecido, pela primeira vez, $2n=110$, não confirmando assim o número básico $x=28$ para o gênero (FÉLIX & GUERRA, 2000). Esses dados sugerem que a espécie seja tetraplóide em sua origem, seguida da ocorrência da disploidia ($2n=4x-2=110$).

CONCLUSÕES

As espécies analisadas mostraram números cromossômicos de $2n=2x=46$ em *C. parviflorum*, confirmando o número básico do gênero $x=23$, e $2n=2x=32$ em *V. bahiana*, com cariótipo bimodal e presença de 16 II na meiose I. *Galeandra sp.* apresentou $2n=4x-2=110$, sugerindo a ocorrência de disploidia na evolução dessa espécie.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro e à Prof^a. Maria Lenise Silva Guedes, pela identificação das espécies.

REFERÊNCIAS

- AOYAMA, M. Karyomorphological studies in *Cymbidium* and its allied genera, Orchidaceae. Bulletin of the Hiroshima Botanical Garden, 11: 1-121, 1989.
- BLUMENSCHNEIN, A. *Estudos citológicos na família Orchidaceae*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1957.
- BRITTO, I. C.; QUEIROZ, L.C.; GUEDES, M.L.S.; OLIVEIRA, N. C. de; SILVA, L. B. Flora fanerogâmica das dunas e lagoas do Abaeté, Salvador, Bahia. *Sitientibus*, 11: 31-46, 1993.

DRESSLER, R. L. *The Orchids: natural history and classification*. Cambridge, Harvard University Press, 1982.

DODSON, C. H.. Chromosome number in *Oncidium* and allied genera. *Am. Orchid Soc. Bull.*, 26: 323-330, 1957.

FÉLIX, L. P. ; GUERRA, M. Chromosome analysis in *Psychmorchis pussilla* (L.) Dodson & Dressler: the smallest chromosome number known in *Orchidaceae*. *Caryologia*, 52: 165-168, 1999.

FÉLIX, L. P.; GUERRA, M. Cytogenetics and cytotaxonomy of some Brazilian species of Cymbidioid orchids. *Genet Mol. Biol.* 23: 957-978, 2000.

GOLDBLAT, P. (Ed.). Index to plant chromosome numbers 1975-1978. Missouri Botanical Garden, Saint Louis. 1981.

GUERRA, M. Chromosome number variation and evolution in monocots. *In*: Wilson, K. L. and Morrison, D. A. (Eds.) *Monocots II: Systematics and Evolution*. Melbourne: CSIRO Publ., p.127-136, 2000.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sunderland: Sinauer Associates, 1999.

NAIR, R. R.; RAVINDRAN, P. N. Somatic association of chromosomes and other mitotic abnormalities in *Vanilla planifolia* (Andrews). *Caryologia*, 47:65-73, 1994.

PABST, G. F. J.; DUNGS, F. *Orchidaceae Brasilienses*. Band I, Kurt Schmersow. Hildesheim, 1975.

PABST, G. F. J.; DUNGS, F. *Orchidaceae Brasilienses*. Band II, Kurt Schmersow. Hildesheim, 1977.

SINOTO, Y. Chromosome numbers in *Oncidium* Alliance. *Cytologia* 27: 306-317, 1962.

TANAKA, R. & KAMEMOTO, H. Chromosomes in orchids: counting and numbers. In: Arditti, J. (Ed.) *Orchid Biology: Reviews and Perspectives III*. Cornell University Press, Ithaca. p.324-410, 1984.

VIEIRA, O.J.Z. *Orquidoflora da Área de Proteção Ambiental das Lagoas e Dunas do Abaeté Bahia*. In: XLIX CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA. Salvador, BA. Resumos. Universidade Federal da Bahia, p.73, 1998.

VIJAYAKUMAR, N. & D. SUBRAMANIAN. Karyomorphological studies of Orchidaceae from Tamilnadu. *Cell and Chromosome Resea*, 1994.