

**CITOGENÉTICA DE ACESSOS DE *Cratylia*
sp. (FABACEAE – PAPILIONOIDEAE)**

SARAH MARIA VARGAS

2005

SARAH MARIA VARGAS

**CITOGENÉTICA DE ACESSOS DE *Cratylia sp.* (FABACEAE –
PAPILIONOIDEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Mestre”.

Orientadora

Profa. Dra. Giovana Augusta Torres

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos
da
Biblioteca Central da UFLA**

Vargas, Sarah Maria

Citogenética de acessos de *Cratylia sp.* (FABACEAE – PAPILIONOIDEAE) /
Sarah Maria Vargas. -- Lavras : UFLA, 2005.

48 p. : il.

Orientadora: Giovana Augusta Torres.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Citogenética. 2. *Cratylia sp.* 3. Cromossomo. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD-574.87322

SARAH MARIA VARGAS

**CITOGENÉTICA DE ACESSOS DE *Cratylia sp.* (FABACEAE –
PAPILIONOIDEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do programa de Pós-Graduação em Agronomia/Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de “Mestre”.

Aprovada em 19 de julho de 2005

Prof. Dr. Lyderson Facio Viccini

UFJF

Dr. Fausto Souza Sobrinho

Embrapa Gado de Leite

Profa. Dra. Giovana Augusta Torres
UFLA
(Orientadora)

LAVRAS
MINAS GERAIS – BRASIL
2005

Aos meus pais, Suzana e Luciano e irmão Matheus,
pelo amor, pela formação humana, confiança
e total apoio.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

A Deus, por tudo.

À professora Giovana Augusta Torres, pela orientação, amizade, confiança, apoio e valiosos ensinamentos.

Ao Dr. Fausto Souza Sobrinho, pela confiança e imensa colaboração.

Ao professor Lyderson Facio Viccini, por me iniciar nos estudos de citogenética e pelas sugestões.

À professora Lisete Chamma Davide, por seu grande carinho e colaboração.

Ao Dr. Antônio Vander Pereira, pela colaboração.

Ao Sr. Martiniano C. de Oliveira, pela doação da exsicata e das sementes de *C. mollis*.

Ao professor Eduardo Van den Berg, pelos ensinamentos e disponibilidade.

Ao Saulo Marçal Sousa, que foi o meu braço direito e sempre esteve prontamente disponível para me ajudar.

Aos amigos Marcelo, André, Diogo e Matheus, que fizeram nossa turma sempre unida.

Ao José Marcelo Campos, Patrícia Pierre e Deisy, pela ajuda e paciência.

Aos colegas do Laboratório de Citogenética, Caio, Soraya, Wilder, Elisa, Josi, Cássia, Juliane, Rose, Fernanda, Bruno e Lívia, pela ótima convivência e colaboração.

Aos meus pais, Suzana e Luciano, meu irmão Matheus e ao Paulo, pelo amor e incentivo.

À Suellen, pela imensa colaboração e dedicação.

Aos colegas da Embrapa Gado de Leite, Cristiane e Raphael, que me auxiliaram.

Aos colegas, professores e funcionários da Pós-Graduação, pelos ensinamentos e pela amizade.

A todos os amigos e colegas que são muitos e contribuíram das mais diversas formas para a conclusão desta caminhada.

SUMÁRIO

	Página
RESUMO.....	I
ABSTRACT.....	Ii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	3
2.1 Taxonomia e filogenia de <i>Cratylia</i>	3
2.2 Origem, distribuição e adaptação do gênero <i>Cratylia</i>	7
2.3 Importância econômica da <i>Cratylia</i>	9
2.3.1 Potencial forrageiro.....	9
2.3.2 Produção de lectinas..	13
2.4 Análise cariotípica.....	14
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	17
3.1 Material genético.....	17
3.2 Análise citogenética.....	18
3.2.1 Análise cariotípica.....	18
3.2.2 Análise meiótica.....	21
3.2.3 Viabilidade do grão de pólen do acesso 28.....	22
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
4.1 Cariótipo de <i>C. argentea</i> e <i>C. mollis</i>	23
4.2 Meiose e viabilidade do grão-de-pólen do acesso 28 de <i>C. argentea</i>	39
5 CONCLUSÕES.....	41
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42

RESUMO

VARGAS, Sarah Maria. **Citogenética de acessos de *Cratylia sp.* (FABACEAE – PAPILIONOIDEAE)**. 2005. 48 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.*

As espécies *Cratylia argentea* e *Cratylia mollis* são leguminosas arbustivas nativas do Cerrado e da Caatinga, respectivamente, que apresentam elevada resistência à seca, além de alto valor nutritivo, podendo assim, representar boas alternativas como forrageiras. Foram realizados estudos citogenéticos em 10 acessos de *Cratylia argentea* e 1 de *Cratylia mollis*, pertencentes ao Banco Ativo de Germoplasma da EMBRAPA Gado de Leite - Juiz de Fora - MG e EMBRAPA Semi-árido - Petrolina PE, respectivamente. Para cada um desses acessos foi feita a descrição do complemento cromossômico, considerando as seguintes características: número cromossômico, comprimento total dos cromossomos (Cti), relação de braços (RB), comprimento relativo (CR) e comprimento total do lote haplóide (CTLH). Para obtenção das metáfases, raízes de sementes das duas espécies foram tratadas com 8-Hidroxiquinoleína e digeridas Pectinex®. A preparação das lâminas foi realizada submetendo-se as raízes à técnica de dissociação celular com secagem ao ar. No caso da análise meiótica foram utilizados botões florais em diferentes tamanhos para montagem de lâminas a partir da técnica de secagem ao ar. As metáfases mitóticas de todos os acessos estudados apresentaram $2n=22$ cromossomos e a análise meiótica possibilitou a observação de 11 bivalentes para *C. argentea*, sendo estes números relatados pela primeira vez na literatura. As análises estatísticas relacionadas ao CTLH e CR para os 11 pares cromossômicos mostraram que não houveram diferenças significativas entre os acessos de *C. argentea* e tampouco entre esses e o acesso de *C. mollis*. Quanto à morfologia dos cromossomos, *C. argentea* apresentou 5 pares metacêntricos, 4 submetacêntricos e 2 acrocêntricos. No entanto, *C. mollis* apresentou 6 pares metacêntricos, 3 submetacêntricos e 2 acrocêntricos. Os dados morfométricos mostram que as duas espécies possuem características citogenéticas muito semelhantes. Com exceção da classificação dos cromossomos I, IV e VI que foram distintas para ambas, provavelmente por rearranjos cromossômicos, os dados obtidos neste trabalho trazem subsídios para que seja considerada a hipótese de se tratar de apenas uma espécie, o que deve ser testado, do ponto de vista citogenético, com uso de técnicas de maior poder informativo, tais como bandeamento cromossômico e hibridação *in situ*.

*Comitê Orientador: Giovana Augusta Torres – UFLA (Orientadora), Fausto Souza Sobrinho – Embrapa Gado de Leite e Antônio Vander Pereira - Embrapa Gado de Leite.

ABSTRACT

VARGAS, Sarah Maria. **Cytogenetics of *Cratylia* sp. acessions (FABACEAE – PAPILIONOIDEAE)**. 2005. 48 p. Dissertation (Master Program in Agronomy) – Federal University of Lavras, Lavras, Minas Gerais, Brazil.*

Cratylia argentea and *Cratylia mollis* are legume shrubs native from Cerrado and Caatinga respectively. Both show great drought resistance and high nutritive value. Cytogenetics and morphological studies were carried out on 10 accessions of *Cratylia argentea* and 1 of *Cratylia mollis*, belonging of EMBRAPA Germplasm Bank of Gado de Leite - Juiz de Fora MG and Semi-árido - Petrolina PE, respectively. For each one of these accessions a description of the chromosomal complement was performed considering the following features: chromosome number, total chromosome length (Cti), arm ratio (A), relative length (CR) and total haploid set length (CTLH). Root tips from germinated seeds were treated with 8-Hydroxyquinoline to provide metaphasic figures. The cell walls of meristematic cells were softened using Pectinex® and the slides were made using air-dry technique. In meiotic analysis, flower buds showing distinct sizes were submitted to air-dry technique. Mitotic metaphases in all accessions showed $2n= 22$ chromosomes and meiotic diakinesis presented 11 bivalents for *C. argentea*. For these species, this is the first report about chromosome number. Statistical analysis for CTLH and CR features showed that there is no difference among the accessions of *C. argentea* nor among them and *C. mollis*. In regard to chromosome morphology, *C. argentea* presented 5 metacentric pairs, 4 submetacentrics and 2 acrocentrics. On the other hand, *C. mollis* presented 6 metacentric pair, 3 submetacentrics and 2 acrocentrics. Morphometric analysis showed that both species have quite similar karyotypes. Only morphology of chromosomes I, IV and VI were clearly different. This cytogenetic approach suggests us the hypothesis that we are dealing with just one species.

* Guidance Committee: Giovana Augusta Torres – UFLA (Major Professor), Fausto Souza Sobrinho – Embrapa Gado de Leite e Antônio Vander Pereira - Embrapa Gado de Leite.

1 INTRODUÇÃO

A extensa área territorial brasileira é composta por diferentes ecossistemas: cerrado, pantanal, mata atlântica, tropical úmido, caatinga e pampa gaúcho. Dentro de cada um destes macrossistemas, o número de ambientes é também extremamente variado, o que faz pressupor a necessidade da utilização de espécies forrageiras adaptadas às diferentes condições edafoclimáticas.

A ocupação das terras do cerrado brasileiro tem ocorrido de forma constante nos últimos anos. A atividade agrícola neste ecossistema, que a cada ano cresce, não somente em expansão de áreas como também em modernização de suas técnicas, vem ocupando a maior parte dos solos com melhor qualidade. Este crescimento conduz a pecuária, cada vez mais, para a ocupação de terras com solos de baixa qualidade, com problemas de topografia e localizados em regiões de clima desfavorável.

A fim de solucionar problemas como estes, os pesquisadores podem recorrer ao melhoramento genético, que tem como principal objetivo superar fatores limitantes da produção. No caso do melhoramento de forrageiras, procura-se produzir proteína de boa qualidade a baixo custo. Dentro deste contexto, algumas leguminosas forrageiras, com sua capacidade de fixar o nitrogênio e de oferecer forragem de boa qualidade em localidades com secas prolongadas, têm grande potencial para melhorar os sistemas de produção.

As espécies *Cratylia argentea* e *Cratylia mollis* são leguminosas arbustivas nativas do cerrado e da caatinga, respectivamente (Queiroz & Coradin, 1995), que apresentam elevada resistência à seca (Pizarro et al., 1995) e alto valor nutritivo (Lascano, 1995), podendo assim, representar boas alternativas como forrageiras. Portanto, o uso destas espécies apresenta-se como

uma solução economicamente viável para incrementar a produtividade animal nas regiões tropicais (Rodriguez et al., 1999).

Apesar de estas espécies serem bastante promissoras, são encontrados poucos estudos sobre as mesmas. Do ponto de vista citogenético, não existe caracterização de nenhuma espécie do gênero *Cratylia*. Esse tipo de informação tem sido uma ferramenta importante para a biossistemática, para o gerenciamento de bancos de germoplasma e para a condução de programas de melhoramento genético de plantas.

No caso de espécies cultivadas, é importante conhecer o cariótipo das espécies alvo, bem como o comportamento meiótico das mesmas, para a busca de cruzamentos interespecíficos, contribuindo para a incorporação de genes de interesse para o melhoramento.

Portanto, como instrumento de auxílio à caracterização do banco de germoplasma, bem como para a implantação do programa de melhoramento visando o uso de *Cratylia* como forrageira, a descrição cariotípica das espécies pode fornecer informações importantes. Além disso, poderá subsidiar a elucidação de problemas na definição taxonômica do gênero. Assim, o presente trabalho teve como objetivos descrever e comparar os cariótipos de acessos das espécies *Cratylia argentea* e *Cratylia mollis*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Taxonomia e filogenia de *Cratylia*

O gênero *Cratylia*, conhecido vulgarmente por camaratuba ou copada, pertence à família Leguminosae (=Fabaceae), subfamília Papilionoideae, tribo Phaseoleae e subtribo Diocleinae.

A família Leguminosae (Fabaceae) é a mais extensa família de plantas com flor, após as gramíneas (Compositae) e Orchidaceae, com três subfamílias que compreendem 39 tribos (Goldblatt, 1981), 650 gêneros e mais de 18.000 espécies (Polhill & Raven, 1981). A tribo Phaseoleae (Papilionoideae) compreende o maior número de gêneros e é a que apresenta maior importância econômica (Varela et al., 2004).

As espécies pertencentes à tribo Papilionoideae devem apresentar as seguintes características: presença de uma pétala superior posicionada sobre as pétalas laterais adjacentes; sépalas unidas na base; dez estames, às vezes mais, raramente menos, podendo ser dez livres ou o superior livre e outros nove unidos, ou unidos em dois grupos de cinco ou todos unidos. As folhas nunca são bipinadas, nas espécies da Bahia; as sementes são rígidas e a radícula é usualmente curva (Lewis, 1987).

Esta tribo é frequentemente dividida em oito subtribos: Cajaninae, Phaseolinae, Clitoriinae, Ophrestiinae, Kennediinae, Erythrinae, Diocleinae e Glycininae (Polhill & Raven, 1981; Polhill, 1994).

A subtribo Diocleinae é representada, na sua maior parte, por plantas do Novo Mundo e possui algumas características consideradas “primitivas”: o hábito geralmente lenhoso, flores largas, com discos proeminentes ao redor do

ovário, hilo geralmente longo e o aminoácido não-protéico canavanina está normalmente presente (Lackey, 1981).

Lackey (1981) reconheceu treze gêneros de Diocleinae: *Dioclea*, *Cymbosema*, *Cleobulia*, *Canavalia*, *Pachyhizus*, *Macropsychanthus*, *Luzonia*, *Camptosema*, *Cratylia*, *Collaea*, *Galactia*, *Calopogonium* e *Herpyza*.

Apesar da existência de estudos sobre o uso das espécies do gênero *Cratylia* como forrageiras, desenvolvidos desde a década de 1940 no Ministério da Agricultura (Deodoro,RJ), ainda faltavam, nesta época, informações confiáveis sobre a distribuição geográfica e a nomenclatura de suas espécies. Parte deste problema advinha da taxonomia confusa do gênero, que dificultava associar o material estudado a um determinado táxon. A título de exemplo, pode ser citado o caso de *C. mollis*, que foi tratada pelo Ministério da Agricultura como uma planta que ocorre “em estado espontâneo nas capoeiras e nas matas desde as Guianas até Minas Gerais e também no Peru” (Otero, 1952). Esta informação revela que esta planta estaria sendo confundida com outras espécies de *Cratylia* e, até mesmo, com espécies de outros gêneros de Leguminosae (Queiroz & Coradin, 1995).

A taxonomia do gênero *Cratylia* encontra-se ainda em processo de definição (Argel & Lascano, 2000). No entanto, alguns trabalhos (Queiroz, 1991, 1994) baseados no estudo de grande coleção de material de herbário e trabalhos de campo identificaram cinco espécies válidas: *C. argentea* (Desv.) O. Kuntze, *C. bahiensis* L. P. de Queiroz, *C. hypargyrea* Mart. ex Benth., *C. intermedia* (Hassl.) L. P. de Queiroz e R. Monteiro e *C. mollis* Mart. ex Benth (Queiroz & Coradin, 1995).

O gênero *Cratylia* reúne espécies em forma de arbusto perene, que possui raízes profundas, atingindo entre 1,5 e 3 metros de comprimento ou, quando associadas com plantas mais altas, pode apresentar hábito volúvel. As folhas são trifolioladas e estipuladas, os folíolos são ovais, membranosos ou

coriáceos com as duas laterais ligeiramente assimétricas. As flores são arrançadas em um pseudorracemo noduloso alongado (30cm ou mais) com seis a nove flores por nódulo. O tamanho das flores varia entre 1,5 a 3 centímetros com pétalas de cor lilás ou, excepcionalmente, branca. O fruto é um legume deiscente, ereto, achatado, com 20cm ou mais de comprimento e 1 ou 2 centímetros de largura, contendo de quatro a oito sementes de forma tenticular, circular ou elíptica, com 1,5 centímetro de diâmetro. As sementes possuem a cor amarela-escura ou marrom e, quando maduras, sob altas condições de umidade, marrom escuras (Argel et al., 2001; Queiroz & Coradin [19--]).

Adicionalmente, Allen (1981) considerou que, além das características acima mencionadas, as espécies do gênero possuem a ponta das folhas acuminadas, as flores pouco espaçadas nos longos, axilares e eretos racemos, e pétalas afiadas. A pétala estandarte é larga, orbicular, reflexa, sem orelhas ou calosidade basais. As asas são ovais, livres, reflexas e a quilha das pétalas com mais ou menos o mesmo tamanho das asas. O cálice é campanulado, com cinco lobos unidos em um, inteiro ou emarginado. Há a presença de dez estames férteis, vexilares, dilatados na base e unidos no meio com os outros nove, as anteras são ovais e uniformes. O ovário é linear poli-ovulado, com um disco tubular basal, estilete encurvado, glabro ou com pelos dorsais, estigma terminal, capitado e glabro. O legume é oblongo-linear, comprimido, achatado, com duas válvulas. As sementes são oblongas, comprimidas, posicionadas transversalmente, e estreitamente separadas no legume (Bentham & Hooker 1865 e Burkart 1943, citados por Polhill et al., 1981).

Cratylya argentea possui vários sinônimos: *Cratylya floribunda*, *Cratylya nitens* e *Dioclea argentea* (Pio Corrêa, 1984). É uma espécie de arbusto sarmentoso (com caule rastejante com um único ponto de fixação) de folhas largas, pálidas e glabras (desprovida de pêlos) na página superior e seríceo argênteo brilhante (coberto de pêlos finos, geralmente curtos e aplicados sobre a

superfície do órgão que têm brilho de seda) na inferior. As flores são abundantíssimas, de vexilo (pétala superior ou estandarte larga) glabro ou apenas seríceo no ápice, reunidas em fascículos (pequeno feixe, pequenos grupos de flores) numerosos e estes dispostos em racemos (inflorescência indefinida na qual as flores são pedunculadas e se inserem no eixo à distância não desprezível umas das outras, o mesmo que cacho) compridos, axilares e fruto do tipo vagem estipitada. As folhas formam um tufo apical de 10 a 14 centímetros de comprimento (Ferri et al., 1992; Pio Corrêa, 1984).

As características morfológicas consideradas para *C. mollis* são quase as mesmas de *C. argentea*. A única diferença existente entre estas espécies é a ausência da coloração densa e nitidamente prateada pubescente na face dorsal dos folíolos, que em *C. mollis* é levemente branca-tomentosa. Além dessa diferença morfológica, a distribuição geográfica também é usada para separá-las e as espécies encontradas na caatinga são consideradas *C. mollis* (Lewis, 1987).

Os caracteres morfológicos para o agrupamento de espécies, como os descritos para o gênero *Cratylia*, são os parâmetros normalmente empregados pela taxonomia clássica. Mas, hoje, a sistemática filogenética também utiliza outros padrões para o estudo das relações entre as espécies. A chamada “sistemática molecular” vem tornando-se cada vez mais acessível e permitindo a análise detalhada da evolução de seqüências de DNA em diferentes organismos (Meyer, 1997; Pagel, 1999; Swofford & Olsen, 1990).

Estudos filogenéticos na tribo Phaseoleae, baseados em mapas de restrição montados com regiões repetitivas invertidas de DNA de cloroplastos (cpDNA), contribuíram muito para o conhecimento e para mudanças na atual distribuição dos clados em Diocleinae. Os resultados mostraram que *Calopogonium* e *Pachyrhizus* (duas espécies consideradas tradicionalmente incluídas na mesma subtribo que *Cratylia*) estão, na realidade, dentro do clado Glycininae e, conseqüentemente, fora de Diocleinae (Doyle & Doyle, 1993).

Baseando-se nestes resultados, Polhill (1994) transferiu estes dois gêneros da subtribo Diocleinae para Glycininae.

Adicionalmente, Varela et al. (2004) seqüenciaram a região ITS/5.8S inteira do DNA ribossomal (nrDNA) de oitos gêneros (*Dioclea*, *Cymbosema*, *Canavalia*, *Pachyhizus*, *Camptosema*, *Cratylia*, *Galactia*, e *Calopogonium*) de Diocleinae. Com os resultados deste trabalho, o complexo *Camptosema-Cratylia-Galactia* foi proposto, sugerindo-se a ele um único ancestral comum.

Kavanagh & Ferguson (1981) mostraram também, com dados palinológicos, que *Camptosema*, *Cratylia* e *Galactia* representam um complexo, devido à classificação similar (pequenos, esféricos, com teto reticulado) dos seus grãos de pólen.

2.2 Origem, distribuição e adaptação do gênero *Cratylia*

Cratylia é um gênero neotropical, aparentemente de origem recente, com ampla distribuição na América do Sul, ocorrendo, no sentido norte-sul, do estado do Pará ao sul dos estados de Mato Grosso e Goiás e, no sentido leste-oeste, do Peru ao estado de Ceará. A continuidade na distribuição sobre uma área tão extensa reflete, no entanto, a distribuição atual de apenas uma de suas espécies (*C. argentea*) (Queiroz & Coradin, 1995).

A espécie *Cratylia argentea* é um arbusto nativo da Amazônia e é encontrada exclusivamente na América do Sul. Sua distribuição geográfica se estende entre 4° e 18°S do Nordeste ao Centro-Oeste do Brasil, Bolívia e leste do Peru, nos Andes (extensão longitudinal: 39-77°W). Em comparação com outras espécies de *Cratylia*, *C. argentea* é encontrada em muitos tipos de habitats, com altitudes entre 180 e 930 metros e nos principais tipos de vegetação, ocorrendo da transição cerrados-caatinga a cerrados e florestas

sazonais com solos bem drenados e arenosos (Queiroz & Coradin, 1995; Pizarro et al., 1997).

Esta espécie caracteriza-se por sua ampla adaptação a zonas baixas tropicais com secas de até seis meses e solos ácidos de baixa fertilidade. Produz muitas sementes e seu estabelecimento é relativamente rápido quando as condições são adequadas (Argel & Lascano, 2000).

Apesar de ser aparentemente adaptada também a solos com pH mais alto, o desenvolvimento inicial de *C. argentea* nestes tipos de solo é muito lento, mas as razões são ainda pouco entendidas. *C. argentea* não é bem adaptada a altitudes acima de 1.200m e necessita de solos bem drenados (CRAT..., 2005). Já foram observados diferentes ecótipos para esta espécie. As populações da serra dos Carajás (PA) ocorrem em solos ricos em minério de ferro e são caracterizadas por folhas menores, com folíolos proporcionalmente mais estreitos que os típicos da espécie. Outro possível ecótipo ocorre em áreas da caatinga-cerrado na Chapada do Araripe (CE). Além dessas, populações da região de Santa Cruz de la Sierra (Bolívia) merecem ser investigadas, pois apresentam folhas glabras e mais macias que as do cerrado (Queiroz & Coradin, 1995).

C. mollis é um arbusto com distribuição restrita, principalmente, a áreas de caatinga do nordeste do Brasil, estendendo-se do centro-norte do estado da Bahia até a região limítrofe dos estados do Piauí e Ceará, onde são frequentes as áreas semi-áridas (Queiroz & Coradin, 1995; Sousa & Oliveira, 1995). É uma espécie que não apresenta variação morfológica ecotípica em sua área de distribuição (Queiroz & Coradin, 1995).

2.3 Importância econômica da *Cratylia*

2.3.1 Potencial forrageiro

A América Tropical é o maior centro de diversidade de leguminosas do mundo. Devido a diferentes combinações de condições edáficas e climáticas, o Brasil apresenta-se como um dos mais importantes centros de diversificação de plantas. Muitos grupos de plantas de interesse econômico apresentam elevada diversificação no Brasil, particularmente leguminosas silvestres. Este é o caso de inúmeros gêneros com espécies reconhecidamente importantes como plantas forrageiras (Queiroz & Coradin, 1995).

Dentre as espécies de elevado potencial para melhorar os sistemas de produção animal estão as leguminosas arbustivas, pois seu rendimento de forragem normalmente é maior que o das leguminosas herbáceas; podem tolerar melhor o manejo inadequado e algumas têm a capacidade de rebrotar e oferecer forragem de boa qualidade em localidades com secas prolongadas (Argel & Lascano, 1998).

Essas características são especialmente importantes para regiões como o semi-árido do nordeste brasileiro, com aproximadamente 100 milhões de hectares, cuja importância econômica reside na caprinocultura e bovinocultura. Esta pecuária depende basicamente da pastagem nativa (Caatinga) que é constituída principalmente de espécies arbustivo-arbóreas e apresenta um baixo desempenho. No entanto, o potencial para o aumento desse desempenho é amplo, especialmente por meio do uso racional dos recursos forrageiros nativos existentes na região semi-árida (Sousa & Oliveira, 1995).

As leguminosas arbustivas são utilizadas tradicionalmente em sistemas de produção, mas só nos últimos 20 anos os pesquisadores têm demonstrado um crescente interesse no seu emprego em sistemas agrícolas em áreas tropicais. A

investigação sobre estas espécies de leguminosas arbustivas em sistemas agrícolas avançados tem se concentrado em sua utilização como componente secundário, enquanto que em sistemas tradicionais, especialmente de pequenos produtores, formam parte integral do sistema de produção (Kerride & Lascano, 1995). Estas espécies proporcionam alimento, lenha, forragem e contribuem para melhorar o solo mediante a fixação e reciclagem de nitrogênio, o aporte de matéria orgânica e a prevenção da erosão. Por isso, é comum denominá-las como árvores e arbustos de usos múltiplos ou multipropósitos.

Algumas espécies arbustivas, como *Leucaena leucocephala*, *Gliricidia sepium* e *Sesbania sesban*, têm recebido mais atenção que outras, como *Cratylia* (Kerride & Lascano, 1995). Apesar de serem mais conhecidas e investigadas, estas leguminosas arbustivas estão marginalmente adaptadas a solos ácidos e épocas de secas prolongadas, ao contrário de *Cratylia argentea*, que pode ser considerada uma boa alternativa, pois se destacou entre as leguminosas arbustivas avaliadas nessas condições pelo CIAT (Perdomo, 1991).

Uma notável característica de *C. argentea*, além da sua capacidade de adaptação a solos ácidos, é a habilidade de reter as folhas e de rebrotar durante períodos de secas prolongadas. Esta resistência à seca está associada à profundidade do seu sistema radicular, que alcança 2 metros ou mais (Pizarro et al., 1995).

A Embrapa, por meio do Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite, tem atuado ativamente na pesquisa de novas soluções para a pecuária leiteira (Passos, 1997). Muitas espécies forrageiras vêm sendo estudadas e selecionadas por pesquisadores para a alimentação de bovinos. Dentre as leguminosas forrageiras estudadas por aquele Centro, *Cratylia argentea* se destacou na capacidade de produção na Zona da Mata de Minas Gerais (Xavier & Carvalho, 1995).

As cinco espécies do gênero reconhecidas por Queiroz & Coradin (1995) foram avaliadas em relação ao potencial como forrageira. *C. mollis* e *C. argentea* apresentaram crescimento similar e foram consideradas espécies com potencial forrageiro, ao contrário de *C. bahiensis*, *C. hypargyrea* e *C. intermedia* que apresentam baixa disponibilidade de folhagem. No entanto, estas espécies podem ser fontes valiosas de genes para adaptação em solos salinos (*C. hypargyrea*) ou para tolerância a geadas (*C. intermedia*) (Sousa & Oliveira, 1995).

Do ponto de vista da qualidade nutricional, que no caso de plantas forrageiras é função da composição química, digestibilidade e consumo voluntário, a informação disponível sobre *C. argentea* sugere que esta leguminosa pode ser uma excelente alternativa para a alimentação de ruminantes no trópico, particularmente na época da seca (Lascano, 1995).

O valor nutritivo de *C. argentea* está entre os maiores relatados para leguminosas arbustivas adaptadas a solos ácidos. O teor de proteína está entre 18% e 30% de matéria seca (Cratyli..., 2005; Schultze-Kraft, 1996), a digestibilidade *in vitro* da matéria seca pode alcançar 60%-65% (Cratyli..., 2005) e, em contraste com muitas outras leguminosas arbustivas tropicais, *C. argentea* não contém traços de taninos (Cratyli..., 2005; Lascano, 1995).

Resultados de análises químicas realizadas em amostras de leguminosas arbustivas na estação de Quilichao (Colômbia) do CIAT mostraram que a folhagem aproveitável para os animais (folhas + talos finos) de *C. argentea* de 3 meses de rebrote apresentou um conteúdo de proteína bruta (23%) similar ao de outras espécies conhecidas como *Calliandra calothyrsus* (24%), *Erythrina poeppigiana* (27%), *Gliricidia sepium* (25%) e *Leucaena leucocephala* (27%) (Perdomo, 1991).

No entanto, apesar dessas qualidades, a *C. argentea* tem sido pouco utilizada e difundida entre os produtores, em decorrência da escassez de

informações de pesquisas com esta espécie no Brasil. Em contrapartida, em outros países como a Costa Rica, mesmo sendo um germoplasma introduzido, *C. argentea* está sendo utilizada com sucesso na suplementação de vacas leiteiras na época da seca (Argel & Lascano, 1998).

Até o momento, uma cultivar, cv. Veraniega foi lançada na Costa Rica, como resultado de uma coleta inicial no Brasil de onze acessos no início dos anos 1980. Mais recentemente, coleções têm aumentado a base genética de *C. argentea* e de 40 a 50 acessos estão sob avaliação pelo Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT) na Colômbia e Costa Rica. As diferenças morfológicas entre os acessos são aparentemente limitadas.

C. argentea se multiplica facilmente por sementes, mas não por material vegetativo (Pizarro et al., 1997). Produz sementes de boa qualidade e sem marca de latência física (dureza) ou fisiológica; portanto, não necessita de escarificação (Mass, 1995) e é superficialmente semeada com aproximadamente 2cm de profundidade.

Em estudos reprodutivos conduzidos nas populações de duas espécies mantidas em bancos ativos de germoplasma verificou-se que *Cratylia argentea* e *Cratylia mollis* apresentaram taxa de autopolinização natural não significativa, mas apresentaram sucesso na formação de frutos em autopolinizações artificiais (7,2% para *C. argentea* e 23% *C. mollis*), bem como em polinizações cruzadas (14,9% para *C. argentea* e 12% para *C. mollis*) mostrando que as duas espécies apresentam capacidade de reprodução por autogamia e alogamia (Queiroz et al., 1997). Essas informações, aliadas ao conhecimento da ecologia da polinização por abelhas de grande porte, indicam que essas espécies são predominantemente alógamas e que, para a obtenção ou manutenção por via sexual de genótipos puros destas espécies, são necessários cruzamentos autogâmicos controlados ou isolamento reprodutivo (Queiroz et al., 1997).

2.3.2 Produção de lectinas

A lectina é uma proteína presente, em sua maioria, nas plantas da família Fabaceae. Ela pode ser definida como uma proteína animal ou vegetal (usualmente uma glicoproteína) que se combina especificamente com um antígeno para produzir um fenômeno tal qual uma reação imunológica. Elas são partículas receptora-específicas capazes de aglutinar uma variedade de tipos celulares (Toms, 1981).

A subfamília Papilionoideae é a que possui maior número de espécies que apresentam hemaglutininas. Dos gêneros mais estudados, 150 pertencem a esta subfamília (Toms, 1981).

Pesquisas com lectinas extraídas de sementes de *C. mollis*, para fins terapêuticos, vêm sendo desenvolvidas. A forma como este tipo de proteína age no organismo é uma das mais eficazes no tratamento de doenças infecto-contagiosas e até mesmo o câncer, devido ao fato de ela agir sobre células específicas do corpo humano, reduzindo, assim, a ocorrência de efeitos colaterais (UFPE..., 2001).

Outras aplicações biológicas do uso da lectina incluem a inibição do crescimento de células tumorais (Lin et al., 1970) e localização histoquímica de resíduos específicos de carboidratos na superfície das células (Thoss & Ross, 1975).

O papel das lectinas nas plantas vivas tem sido motivo de muitas especulações. Uma possível função destas proteínas nas plantas seria a de proteção contra o ataque de herbívoros predadores e bactérias patogênicas (Toms, 1981). Um trabalho utilizando lectina isolada de sementes de *C. argentea* mostrou que esta tem atividade inseticida contra *Callosobruchus macculatus*, espécie de larva que ataca sementes de *Vigna unguiculata* (Oliveira et al., 2004).

2.4 Análise cariotípica

O termo cariótipo aplica-se ao ordenamento sistematizado dos cromossomos de uma única célula, preparado por fotografia, com a extensão em significado de que os cromossomos de uma única célula podem tipificar os cromossomos de um indivíduo ou, inclusive, de uma espécie (Spotorno, 1985). Um cariótipo é o resumo de todas as características do complemento cromossômico na metáfase mitótica (Shan et al., 2003) e a análise de cariótipos de espécies relacionadas pode gerar informações sobre a evolução cromossômica dentro de um grupo (Dimitrova & Greilhuber, 2000; González-Aguilera & Fernandez-Peralta, 1984; Stebbins, 1971).

A análise do cariótipo traz também uma grande contribuição a estudos evolutivos porque os cromossomos constituem o próprio material genético e, portanto, suas alterações são quase sempre significativas para o rumo evolutivo das espécies (Guerra, 1988).

O estudo da simetria dos cariótipos também é uma forma de comparar espécies relacionadas. As espécies que possuem cariótipos simétricos são consideradas aquelas que possuem cromossomos com tamanhos aproximadamente iguais e que têm centrômeros nas regiões medianas e submedianas. Já as espécies com cariótipos assimétricos apresentam cromossomos com tamanhos variados e cromossomos nas regiões subterminais e terminais. Em geral, cariótipos simétricos são considerados mais primitivos e cariótipos assimétricos, mais especializados (Stebbins, 1971).

Há grupos em que seus cariótipos são extremamente semelhantes, de modo que nem sempre a citotaxonomia traz contribuições significativas a estudos taxonômicos e evolutivos.

Além do estudo do cariótipo, os estudos meióticos são de grande valia, uma vez que a meiose é um evento de alta estabilidade evolutiva que culmina na

redução, pela metade, do número cromossômico e uma meiose com curso normal e harmonioso assegura a viabilidade dos gametas (Pagliarini, 2002).

O estudo da estabilidade meiótica, juntamente com a análise da viabilidade do grão de pólen, permite indicar o potencial para cruzamentos da planta, fornecendo subsídios para usos futuros em programas de seleção, cruzamento e produção de sementes viáveis (Vargas et al. 2004).

Números cromossômicos têm comprovado valor nas revisões e na melhoria da classificação de espécies de Fabaceae, além de auxiliar no entendimento da evolução da família. Os números cromossômicos são constantes em muitos gêneros e mesmo dentro de algumas tribos, mas, quando usados em conjunto com outros dados, têm mostrado maiores evidências nas relações de parentesco entre determinadas espécies (Goldblatt, 1981).

Para Papilionoideae, a maior dentre as subfamílias de Fabaceae, com 32 tribos, os números cromossômicos variam de $n=7$ até $n=26$, em algumas espécies do gênero *Lupinus* (Goldblatt, 1981).

O número cromossômico da maioria das espécies já estudadas de Papilionoideae é $2n=22$, que existindo ampla variação para os números básicos de cromossomos propostos ($x= 8, 10, 11, 12, 13, 14, 18$ e 20) (Battistin & Vargas, 1989).

Dentre as espécies com $2n=22$ cromossomos estão: *Macroptilium sp*, *Phaseolus sp*, exceto *P. peduncularis* com $2n=20$, *Vigna sp*, exceto *V. peduncularis*, com $2n=18$ (Forni-Martins, 1989) e *Centrosema sp* com números iguais a $2n=18$ e 22 (Battistin & Vargas, 1989).

Foram encontrados, na literatura, dados sobre o número cromossômico de quatro gêneros atualmente representantes da subtribo Diocleinae: *Canavalia*, *Camptosema*, *Dioclea* e *Galactia*.

Das cinquenta espécies do gênero *Canavalia*, seis apresentam $n=11$ (Goldblatt, 1981). Mais recentemente, em um estudo com duas espécies do gênero, *Canavalia brasiliensis* e *C. gladiata*, o número $2n=22$ foi observado (Alves & Custódio, 1989). Além deste gênero, também em um outro, *Dioclea*, o número $n=11$ foi considerado para cinco espécies do total de trinta do gênero (Goldblatt, 1981).

No que se refere às espécies do complexo *Camptosema-Cratylia-Galactia*, apenas *Cratylia* não possui registros de números cromossômicos. Goldblatt (1981) relatou a presença de duas espécies de *Camptosema* com $2n=22$ cromossomos de um total de vinte e três espécies existentes e para o gênero *Galactia*, 9 espécies apresentam $2n=22$ cromossomos, de um total de cinquenta existentes (Goldblatt, 1981).

Também são encontrados estudos citogenéticos envolvendo leguminosas forrageiras mais usadas, como *Leucaena*, *Desmodium* e *Lathyrus*, dentre outras. O gênero *Leucaena* é um dos mais estudados. Um trabalho envolvendo a análise do número cromossômico de seis diferentes espécies do gênero relatou a presença de quatro espécies diplóides e duas tetraplóides (Palomino et al., 1995). A espécie do gênero mais difundida como forrageira *L. leucocephala*, possui $2n=104$ cromossomos (Cardoso et al., 2000) e das espécies do gênero *Desmodium* utilizadas como forrageira, todas apresentam $2n=22$ cromossomos, segundo Bogdan (1977).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material genético

Foram avaliados dez acessos (2, 3, 4, 5, 6, 15, 22, 24, 27 e 28) de *Cratylia argentea* e um acesso de *C. mollis* provenientes do Banco de Germoplasma da Embrapa Gado de Leite, Juiz de Fora, MG e da Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE, respectivamente.

Foram coletadas partes das plantas para a obtenção de exsicatas dos acessos no período do início do inverno (abril de 2004), época de florescimento da espécie. Foram montadas exsicatas dos acessos 2, 3, 4, 5, 6, 15, 22 e 28 de *C. argentea*, que foram registradas e mantidas no Herbário ESAL do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras, com os números 20021, 20022, 20023, 20033, 20024, 20026, 20029 e 20031, respectivamente. Não foram montadas exsicatas dos acessos 24 e 27, por causa da ausência de inflorescências na época da coleta.

A exsicata de *C. mollis*, proveniente do Banco de Germoplasma da Embrapa Semi-Árido, Petrolina, PE, também foi registrada (número 20099) e mantida no Herbário ESAL.

Após comparação entre as características vegetais das exsicatas com os dados obtidos na chave de identificação de Phaseoleae (Polhill & Raven, 1981) para confirmar que se tratava de espécies do gênero *Cratylia*, a identificação dos acessos ficou restrita à análise de características das inflorescências e das folhas e foi feita por meio da chave de identificação de Lewis (1987) e por comparação com descrições taxonômicas já existentes (Queiroz & Coradin, [200-]).

A chave taxonômica considera as seguintes características para a espécie *C. argentea*:

1. folíolos discolores, devido ao denso indumento branco ou prateado na face dorsal;
2. face dorsal do folíolo densamente e nitidamente prateada pubescente;
3. face externa da pétala estandarte é serícea em mais de 1/3, cálice com 8 mm de comprimento e corola com mais de 2,2 cm.

Para *C. mollis*, a chave taxonômica considera as seguintes características:

- 1 folíolos discolores devido ao denso indumento branco ou prateado na face dorsal;
- 2 face dorsal do folíolo levemente branca-tomentosa, espécie da Caatinga. (Lewis, 1987).

3.2 Análise citogenética

As análises citogenéticas foram feitas no Laboratório de Citogenética do Departamento de Biologia da Universidade Federal de Lavras.

3.2.1 Análise cariotípica

Para o preparo das lâminas, sementes foram colocadas para germinar sobre papel filtro úmido a 34°C no claro, em placas de petri. Quando as raízes atingiram aproximadamente meio centímetro, foram cortadas e submetidas a tratamento com 8-hidroxiquinoleína 3mM por 3 a 4 horas, à temperatura

ambiente ou a 4°C, dependendo do acesso. As raízes foram lavadas com água destilada e fixadas em álcool metílico:ácido acético (3:1) por, pelo menos, 24 horas, e armazenadas a -20°C até o momento do uso.

Para a montagem das lâminas, foi usada a técnica de secagem ao ar com maceração enzimática (Carvalho, 1995). Para degradação da parede celular as raízes fixadas foram lavadas com água destilada e submetidas à maceração enzimática por três horas com complexo enzimático Pectinex® NOVO NORDISK™, em minitubos a 37°C.

As lâminas foram coradas com solução de Giemsa 20% em tampão fosfato 0,1M pH 6,8 por dez minutos, secas ao ar e analisadas usando microscópio de luz (Olympus BX60).

Para cada acesso, determinou-se o número cromossômico em, pelo menos, dez metáfases. As imagens das cinco melhores metáfases foram digitalizadas a partir de microscópio Olympus BX60, via microcâmera digital Optronics. A partir das imagens, foram medidos o comprimento do braço curto (BC), o comprimento do braço longo (BL), com os quais foram calculados: comprimento total dos cromossomos (CTi), comprimento total do lote haplóide (CTLH), relação de braços ($RB=BL/BC$) e comprimento relativo ($CR=CTi/CTLH$).

A classificação dos cromossomos, no que diz respeito à morfologia, foi feita de acordo com Guerra (1988), utilizando como critério o valor da relação de braços (RB), de forma que valores de 1,00 a 1,49 caracterizam os cromossomos metacêntricos, 1,50 a 2,99 os submetacêntricos, 3,00 a ∞ os acrocêntricos e ∞ os telocêntricos.

A montagem do cariógrama foi feita usando-se a forma tradicional, com os cromossomos colocados aos pares, seguindo-se a ordem decrescente de tamanho. A montagem dos idiogramas foi feita utilizando-se as medidas médias

dos cromossomos de três metáfases de cada espécie, que foram ordenados pelo tamanho do braço curto, do maior para o menor (Guerra & Souza, 2002).

Foram realizadas análises de variância para detectar a existência de variação para o comprimento relativo (CR) de cada um dos onze cromossomos e para o comprimento total do lote haplóide (CTLH) entre os dez acessos de *C. argentea* e 1 de *C. mollis*. Estas análises foram feitas em delineamentos inteiramente casualizados, considerando-se os onze acessos (tratamentos) e três metáfases (repetições). O modelo estatístico adotado foi:

$$Y_{ij} = m + t_i + e_{ij}$$

em que:

Y_{ij} = é o valor observado referente à repetição j do tratamento i , com $i = 1, 2, \dots, 11$ e $j = 1, 2, 3$.

m = média geral do experimento

t_i = tratamentos com $i = 1, 2, \dots, 11$

e_{ij} = erro experimental referente à repetição j do acesso i .

Os cariótipos foram classificados usando-se as categorias propostas por Stebbins (1971), que sugere doze tipos de cariótipos, de acordo com o reconhecimento de três categorias relacionadas com a razão entre o maior e o menor cromossomo do complemento e quatro categorias relacionadas à proporção de cromossomos acrocêntricos e telocêntricos. Para descobrir a assimetria dos cariótipos mais precisamente, foi quantificada a assimetria de acordo com os critérios estabelecidos por Zarco (1986), que leva em conta a assimetria devido às relações entre os braços cromossômicos ou

intracromossomal, dada pelo índice A_1 e devido às relações entre o tamanho dos diferentes cromossomos, ou intercromossomal, dada pelo índice A_2 , obtidos da seguinte forma:

$$A_1 = 1 - \frac{\sum_{i=1}^n \frac{b_i}{B_i}}{n} \quad A_2 = \frac{s}{\bar{x}}$$

em que n é o número de pares de homólogos, b_i é o comprimento médio dos braços curtos de cada par de homólogos, B_i é o comprimento médio dos braços longos, \bar{x} é a média do comprimento total dos cromossomos e s o desvio padrão (Zarco, 1986)

3.2.2 Análise meiótica

Para a análise meiótica, foram coletados botões florais com diferentes tamanhos do acesso 28, o mais abundante dentre os acessos do Banco de Germoplasma da Embrapa Gado de Leite. Para a obtenção de células meióticas, os botões florais foram coletados antes da antese e imediatamente fixados em metanol: ácido acético (3:1).

Foi utilizada a metodologia de secagem ao ar com maceração enzimática adaptada para flores de tamanho reduzido, descrita por Praça et al (2000). Para o preparo da suspensão celular, foram utilizadas aproximadamente 40 anteras provenientes de 12 botões florais. As anteras foram transferidas para um microtubo de 0,3 mL adaptado, em sua extremidade, com uma tela de poliéster (60 μ m). O material foi lavado em água destilada e, posteriormente, imerso em solução enzimática concentrada Pectinex, por 20 minutos, a 34°C.

Após a maceração enzimática, as anteras foram novamente lavadas e o tubo adaptado colocado em outro microtubo contendo água destilada. As anteras foram fragmentadas mecanicamente com o auxílio de um estilete adaptado para a retirada das células-mãe do grão de pólen (PMCs).

A suspensão celular resultante foi centrifugada a 2.000 rpm por três vezes, realizando trocas sucessivas de água destilada. Após a última centrifugação, a água foi retirada e completou-se o volume com fixador metanol:ácido acético (3:1) gelado.

A suspensão celular foi ressuspensa e utilizada para a preparação de cada lâmina (cerca de 5 gotas/lâmina). As lâminas foram secas ao ar e em placa aquecedora, submersas em ácido acético 45% gelado durante 10 segundos e coradas em solução de Giemsa 5% em tampão fosfato 0,1M pH 6,8 por 3 minutos.

3.2.3 Viabilidade do grão de pólen do acesso 28

Botões florais foram coletados de plantas do acesso 28 e fixados em etanol:ácido acético (3:1). Anteras foram seccionadas sobre lâmina, liberando os grãos de pólen. Em seguida, estes foram corados com Corante de Alexander (Alexander, 1980) e cobertos com lamínula. Estas foram seladas e armazenadas em câmara úmida. Após 12 horas, as lâminas foram analisadas em microscópio Leica DMS. Consideraram-se viáveis os grãos de pólen corados de roxo e inviáveis os corados de verde. Foram montadas 20 lâminas e analisados 10 campos por lâmina (média de 50 grãos de pólen por campo) para a análise da viabilidade.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Cariótipo de *C. argentea* e *C. mollis*

Todos os acessos de *C. argentea*, bem como o acesso de *C. mollis*, apresentaram $2n=22$ cromossomos (Figuras 1 e 2).

Pertencentes à subtribo Diocleinae, espécies dos gêneros *Camptosema* e *Galactia*, agrupadas juntamente com *Cratylia* formando um complexo, também apresentam $2n=22$ (Goldblatt, 1981). Para a subtribo Phaseolineae, a maioria das espécies já estudadas apresenta $2n=22$ cromossomos, mas há relatos de gêneros e de algumas espécies de certos gêneros com números cromossômicos diferentes de $2n=22$, como em *Vigna*, que tem espécies com $2n=20$ (Goldblatt, 1981). Há também relatos de $2n=24$, apesar da maioria possuir $2n=22$ cromossomos (Bandel, 1973; Darlington & Wyle, 1955, citado por Forni-Martins, 1989).

Com relação ao número básico, a maioria dos grupos papilionados tropicais apresenta números cromossômicos básicos variando de $x=10$ a 12 (Goldblatt, 1981).

A tribo Phaseoleae, com exceção da subtribo Erytrineae e de alguns outros gêneros, parece ser um grupo uniforme citologicamente, sendo $x=11$, possivelmente, o número cromossômico básico de todas as subtribos e $2n=22$ o número mais freqüentemente encontrado.

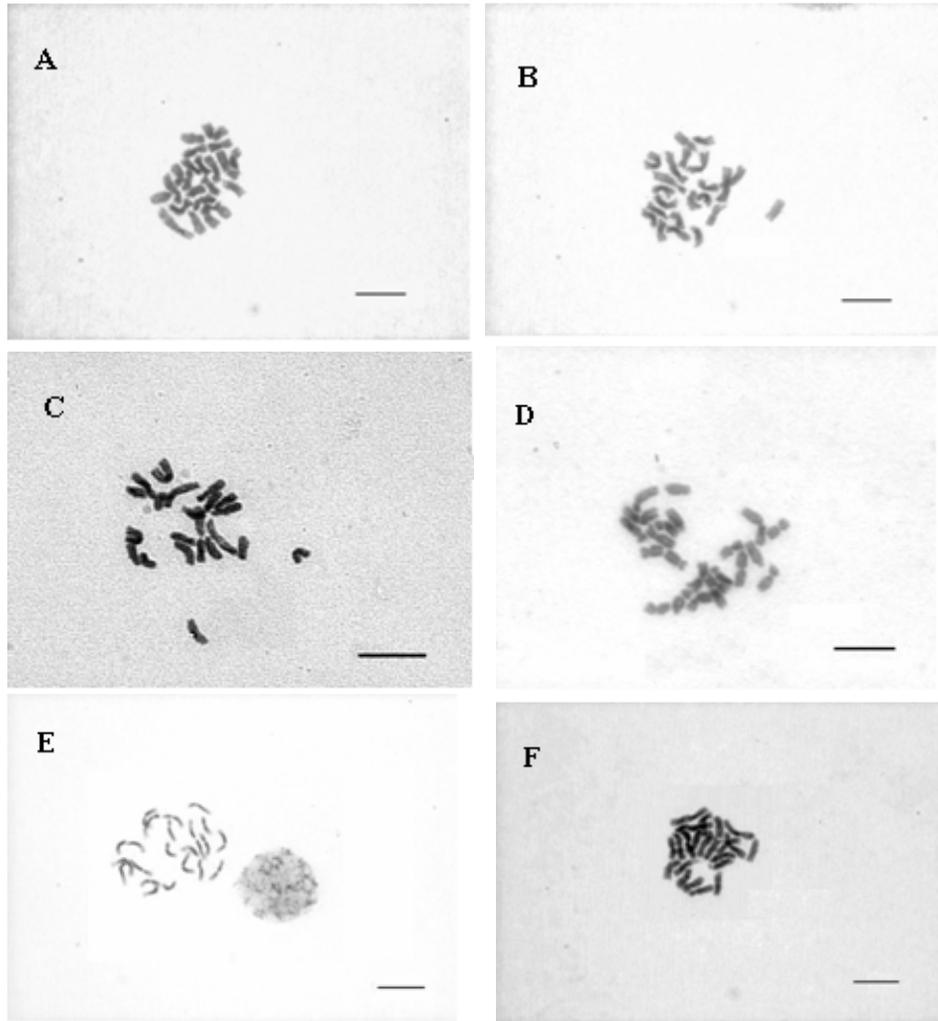


FIGURA 1 Metáfases dos acessos 2 (A), 3 (B), 4 (C), 5 (D), 15 (F) e prometáfase do acessos 6 (E), com $2n=22$ cromossomos (barra = $10\ \mu\text{m}$).

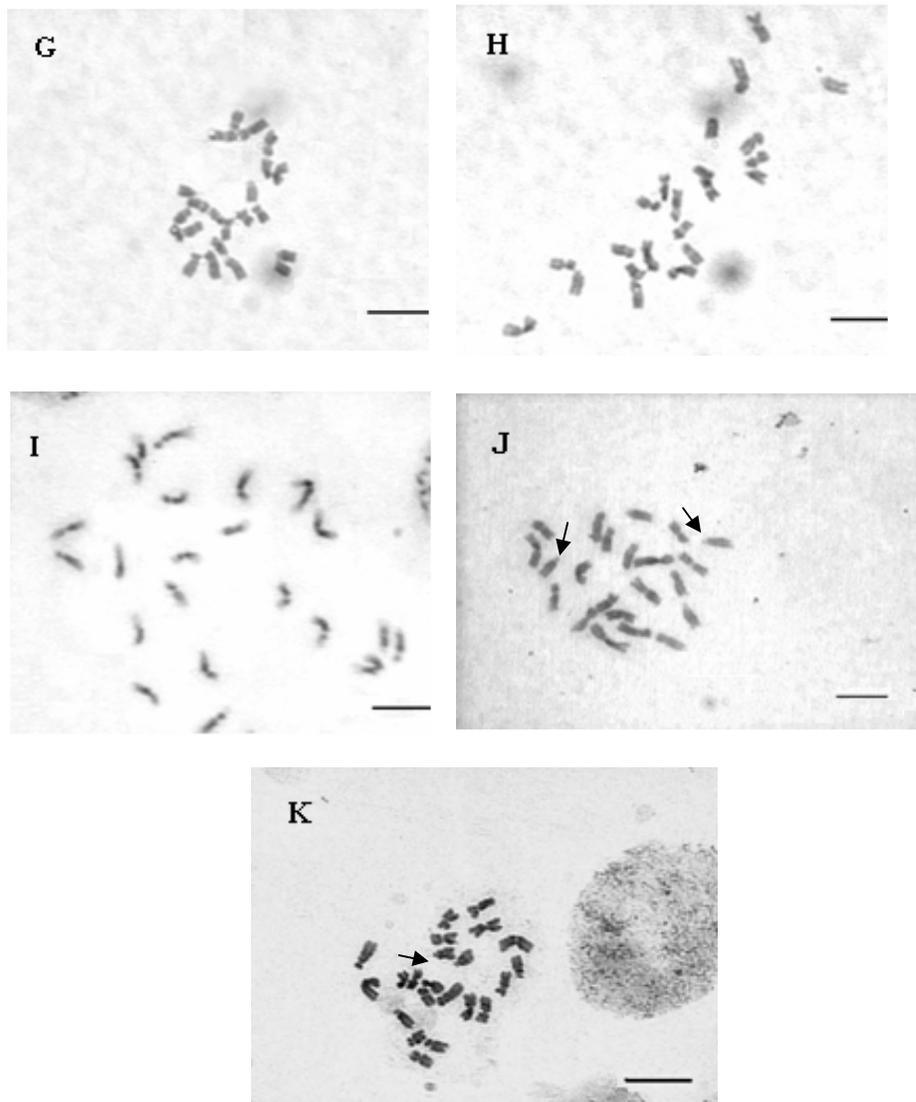


FIGURA 2 Metáfase dos acessos 22 (G), 24 (H), 28 (J), *C. mollis* (K) e prometáfase do acesso 27 (I), com $2n=22$ cromossomos (seta mostrando estruturas semelhantes a satélites) (barra = 10 μm).

Em relação ao tamanho dos cromossomos, observou-se relativa uniformidade entre os acessos aqui estudados (Tabela 1).

Para as medidas de comprimento total do lote haplóide em *C. argentea*, a variação encontrada foi de 31,61 μ m para o acesso 15 a 44,38 μ m para o acesso 3. Apesar de essa diferença ser aparentemente grande, 12,77 μ m, a análise de variância revelou que não existe diferença significativa entre os acesso de *C. argentea* e tampouco entre esses e o acesso de *C. mollis*, que apresentou CTLH de 37,85 μ m (Tabela 2).

O comprimento relativo (CR) dos cromossomos, por representar a proporção de cada cromossomo dentro do total do lote haplóide (Cti/CTLH) é uma medida muito confiável para comparar acessos e até espécies diferentes. Em termos individuais, o cromossomo mais longo (cromossomo I) dentre os acessos de *C. argentea* foi observado no acesso 4, representando 14,23% do total do genoma e o menor no acesso 28, com 12,34%. Já para o cromossomo mais curto (cromossomo XI), o valor mais alto encontrado dentre os acessos de *C. argentea* foi observado no acesso 28, representando 7,33% do total do genoma, enquanto que, no extremo oposto, este cromossomo do acesso 24 representa 6,06%.

Para *C. mollis*, os resultados não diferiram dos encontrados em *C. argentea*. O valor médio para o cromossomo I em *C. mollis* foi de 13,52% do total do genoma e, para o cromossomo XI, foi de 6,64% e estes valores estão dentro da amplitude de variação para os mesmos cromossomos da espécie *C. argentea*. Estes valores e os valores para os outros nove cromossomos, no caso do presente trabalho, não revelaram diferenças significativas entre os acessos de *C. argentea*, nem mesmo para os de *C. mollis* comparados com aqueles (Tabela 3).

TABELA 1 Valores médios, em micrômetros, das variáveis cromossômicas dos 10 acessos de *C. argentea* e 1 de *C. mollis* (C = cromossomo; Cti = comprimento total do cromossomo; CR = comprimento relativo; CTLH = comprimento total do lote haplóide; CM = comprimento médio dos cromossomos).

	<i>C. argentea</i> 2		<i>C. argentea</i> 3		<i>C. argentea</i> 4		<i>C. argentea</i> 5		<i>C. argentea</i> 6	
	Cti	CR								
C										
I	5,31	0,1282	6,26	0,1412	5,31	0,1423	5,20	0,1321	4,82	0,1350
II	4,77	0,1152	5,24	0,1181	4,29	0,1154	4,52	0,1152	4,00	0,1129
III	4,15	0,1002	4,63	0,1044	3,89	0,1043	4,06	0,1035	3,77	0,1064
IV	3,96	0,0955	4,08	0,0919	3,53	0,0943	3,82	0,0976	3,37	0,0946
V	3,81	0,0919	3,92	0,0883	3,36	0,0896	3,60	0,0918	3,25	0,0909
VI	3,63	0,0877	3,73	0,0840	3,19	0,0846	3,44	0,0878	3,09	0,0863
VII	3,39	0,0819	3,63	0,0818	3,00	0,0800	3,20	0,0816	2,99	0,0836
VIII	3,33	0,0803	3,54	0,0796	2,92	0,0776	3,09	0,0788	2,88	0,0804
IX	3,20	0,0773	3,29	0,0741	2,80	0,0748	3,01	0,0767	2,75	0,0767
X	3,05	0,0737	3,23	0,0726	2,72	0,0723	2,76	0,0703	2,51	0,0703
XI	2,83	0,0682	2,84	0,0638	2,41	0,0647	2,54	0,0645	2,24	0,0629
CTHL	41,43	1,0000	44,38	1,0000	37,42	1,0000	39,24	1,0000	35,67	1,0000
CM	3,77		4,03		3,40		3,57		3,24	

“...continua...”

“TABELA 1, Cont.”.

	<i>C. argentea</i> 15		<i>C. argentea</i> 22		<i>C. argentea</i> 24		<i>C. argentea</i> 27		<i>C. argentea</i> 28		<i>C. mollis</i>	
C	Cti	CR	Cti	CR								
I	4,26	0,1321	4,89	0,1293	4,56	0,1339	4,83	0,1311	5,35	0,1234	5,12	0,1352
II	3,66	0,1135	4,20	0,1126	4,06	0,1194	3,99	0,1080	4,79	0,1099	4,27	0,1129
III	3,31	0,1040	3,87	0,1031	3,47	0,1015	3,71	0,1005	4,21	0,0985	3,90	0,1029
IV	2,99	0,0937	3,67	0,0975	3,27	0,0956	3,59	0,0974	3,95	0,0940	3,68	0,0971
V	2,76	0,0870	3,41	0,0906	3,12	0,0915	3,45	0,0935	3,81	0,0894	3,48	0,0918
VI	2,72	0,0858	3,23	0,0856	2,95	0,0863	3,29	0,0891	3,73	0,0876	3,36	0,0887
VII	2,63	0,0835	3,13	0,0831	2,90	0,0847	3,13	0,0847	3,64	0,0862	2,98	0,0784
VIII	2,50	0,0800	3,02	0,0800	2,70	0,0790	2,97	0,0803	3,47	0,0814	2,99	0,0790
IX	2,40	0,0771	2,86	0,0764	2,61	0,0765	2,88	0,0778	3,32	0,0789	2,93	0,0774
X	2,30	0,0739	2,73	0,0725	2,44	0,0710	2,72	0,0734	3,21	0,0768	2,65	0,0701
XI	2,14	0,0687	2,59	0,0688	2,08	0,0606	2,39	0,0644	2,96	0,0733	2,51	0,0664
CTHL	31,67	1,0000	37,60	1,0000	34,16	1,0000	36,95	1,0000	42,43	1,0000	37,85	1,0000
CM	2,88		3,42		3,11		3,36		3,86		3,44	

TABELA 2 Análise de variância de dez acessos de *C. argentea* e um de *C. mollis* para a variável comprimento total do lote haplóide.

FV	GL	QM	F	Prob
Tratamentos	10	40,666	1,1648 ^{ns}	0,3636
Resíduos	22	34,914		
CV(%)	15,52			

^{ns} não significativo, a 5% de probabilidade pelo teste F.

TABELA 3 Análise de variância de dez acessos de *C. argentea* e um de *C. mollis* para a variável comprimento relativo para os onze pares cromossômicos.

FV	GL	QM	F	Prob	CV(%)
Acesso/cromossomo 1	10	0,0074	1,20 ^{ns}	0,3438	5,89
Erro	22	0,0062			
Acesso/cromossomo 2	10	0,0028	0,67 ^{ns}	1	5,62
Erro	22	0,0041			
Acesso/cromossomo 3	10	0,0014	1,25 ^{ns}	0,3143	3,28
Erro	22	0,0011			
Acesso/cromossomo 4	10	0,0011	2,21 ^{ns}	0,0587	2,39
Erro	22	0,0005			
Acesso/cromossomo 5	10	0,001	2,77 ^{ns}	0,0210	2,10
Erro	22	0,0004			
Acesso/cromossomo 6	10	0,0008	1,41 ^{ns}	0,2300	2,76
Erro	22	0,0006			
Acesso/cromossomo 7	10	0,0014	1,34 ^{ns}	0,2690	3,90
Erro	22	0,001			
Acesso/cromossomo 8	10	0,0003	0,51 ^{ns}	1	3,27
Erro	22	0,0007			
Acesso/cromossomo 9	10	0,0005	0,43 ^{ns}	1	4,21
Erro	22	0,001			
Acesso/cromossomo 10	10	0,001	0,61 ^{ns}	1	5,68
Erro	22	0,0017			
Acesso/cromossomo 11	10	0,0024	1,10 ^{ns}	0,4377	7,29
Erro	22	0,0023			

^{ns} não significativo, a 5% de probabilidade pelo teste F.

Comparando-se o tamanho médio dos cromossomos das duas espécies de *Cratylia* com os valores para outros gêneros da mesma tribo Papilionoideae (*Phaseolus sp*, *Vigna sp* e *Macroptilium sp* com valores variando de 1 μm a 3 μm) (Forni-Martins, 1989), observa-se que as duas espécies aqui estudadas apresentaram cromossomos relativamente grandes. Para *C. argentea*, estes valores variaram de 2,88 μm (acesso 3) a 4,03 μm (acesso 6) e, em *C. mollis*, o tamanho médio foi de 3,44 μm .

Nas Figuras 3 e 4 estão apresentados, respectivamente, os idiogramas e cariogramas das duas espécies. Para os acessos de *C. argentea*, foram encontrados cinco pares metacêntricos, quatro submetacêntricos e dois acrocêntricos e para *C. mollis*, seis metacêntricos, três submetacêntricos e dois acrocêntricos (Tabela 4).

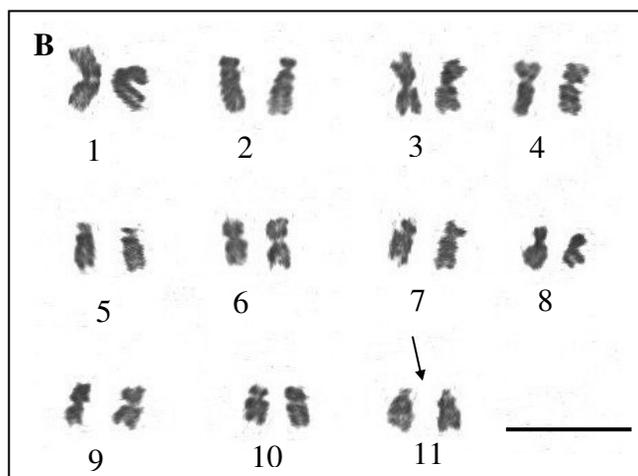
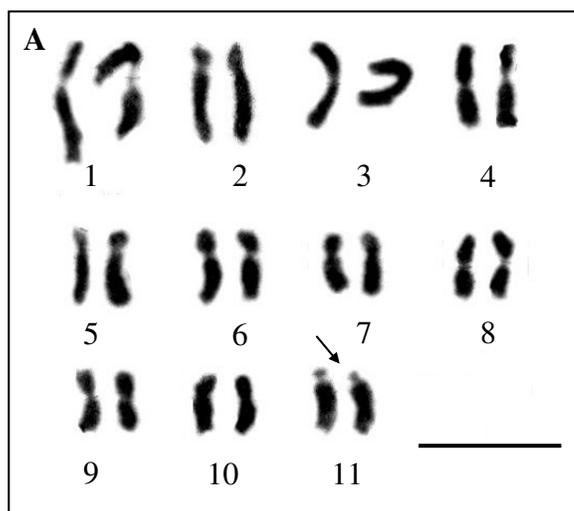


FIGURA 3 Cariogramas de *C. argentea* (A) e *C. mollis* (B). Números de 1 a 11 representam cada par cromossômico, do maior (1) para o menor (11) (seta mostrando estrutura semelhante a satélite) (barra = 10 μ m).

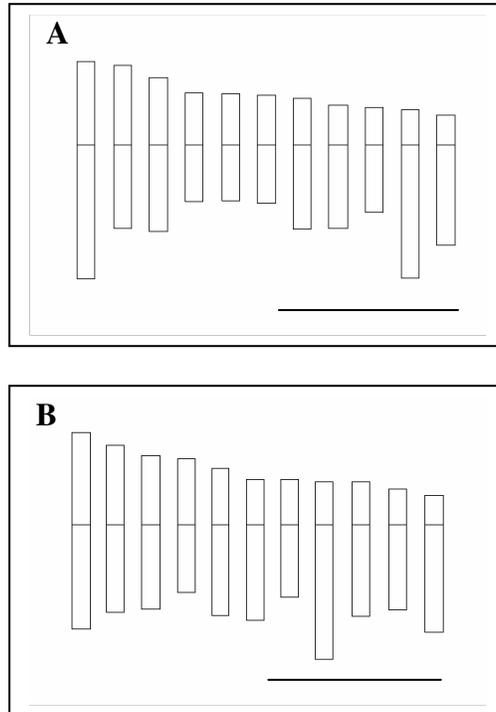


FIGURA 4 Idiogramas de *C. argentea* $2n=22$ (A) e *C. mollis* $2n=22$ (B) baseados nos dados morfométricos da Tabela 1 (barra = 10 μm).

TABELA 4 Classificação dos pares cromossômicos de *C. argentea* e *C. mollis*, de acordo com Guerra (1988) (RB = razão entre os braços – BL/BC - e *cromossomos com presença de estruturas semelhantes a satélites).

PAR	<i>C. argentea</i>		<i>C. mollis</i>	
	RB	Morfologia	RB	Morfologia
1	1,85	submetacêntrico	1,14	metacêntrico
2	3,60	acrocêntrico	3,33	acrocêntrico
3	1,19	metacêntrico	1,35	metacêntrico
4	1,07	metacêntrico	1,56	submetacêntrico
5	3,24	acrocêntrico	4,25	acrocêntrico
6	1,75	submetacêntrico	1,09	metacêntrico
7	1,86	submetacêntrico	2,33	submetacêntrico
8	1,08	metacêntrico	1,13	metacêntrico
9	1,22	metacêntrico	1,02	metacêntrico
10	2,01	submetacêntrico	1,89	submetacêntrico
11	1,40	metacêntrico*	1,20	metacêntrico*

Apesar da presença de dois pares de cromossomos acrocêntricos nas duas espécies estudadas no presente trabalho (os pares 2 e 5 em ambas as espécies – Tabela 4), existe a idéia de que é incomum a presença deste tipo de cromossomos em Fabaceae (Kumari & Bir, 1989; Souza & Benko-Iseppon, 2004).

De 118 espécies de leguminosas estudadas por Bairiganjan & Patnaik (1989), apenas 18 apresentam cromossomos acrocêntricos. Mercado-Ruaro & Delgado-Salinas (1989) analisaram dez espécies de *Phaseolus* e encontraram apenas uma com cromossomos acrocêntricos. Em contraste, este tipo de cromossomo pode ser freqüente em grupos derivados, tais como o gênero *Vicia*, e são comuns em *V. faba* L. (Kumari & Bir, 1989) e em todas as 19 espécies deste gênero analisadas por Maxted et al. (1991), compondo a totalidade do cariótipo no caso de *V. cuspidata* Boiss.

Apesar da presença de cromossomos relativamente grandes, a observação de satélites ficou pouco evidenciada para a maioria dos acessos. Foram observados, para os acessos 5, 28 e *C. mollis* (Figuras 5, 2J e 2K, respectivamente), alguns pares cromossômicos com estruturas semelhantes a satélites (mostradas com setas). Os melhores resultados parecem ser obtidos antes de os cromossomos atingirem seu maior grau de condensação.



FIGURA 5 Prometáfase do acesso 2 ($2n=22$) com estrutura semelhante a satélite (seta) (barra 10 μm).

Outras técnicas, como a do bandeamento NOR (região organizadora do nucléolo), por serem altamente específicas e corar cromossomos com constrição secundária que apresentam produtos da transcrição do rRNA, poderiam determinar com maior precisão o número de constrições ativas das espécies.

De acordo com a metodologia de Stebbins (1971), as espécies *C. argentea* e *C. mollis* têm cariótipos 2A. Os parâmetros numéricos propostos por Zarco (1986) evidenciaram o caráter simétrico do complemento cromossômico das duas espécies estudadas. O valor calculado para o índice A_1 de *C. argentea* foi 0,33 e de *C. mollis* 0,31. Estes valores referem-se ao predomínio de cromossomos metacêntricos nas espécies e o valor 0,31 encontrado para *C. mollis* é menor que de *C. argentea* porque representa a maior quantidade de cromossomos metacêntricos (6 pares) presentes em *C. mollis* comparados aos encontrados em *C. argentea* (5 pares).

O valor calculado para o índice A_2 foi de 0,18 para *C. argentea* e de 0,22 para *C. mollis*. Estes valores também mostram o caráter simétrico do cariótipo das duas espécies, mas não se referem à morfologia dos cromossomos e sim aos comprimentos médios de cada um.

Os resultados de comprimento total do lote haplóide, comprimento relativo dos onze cromossomos e a simetria dos cariótipos foi muito similar para *C. mollis* e *C. argentea*. Estes dados sugerem a idéia de que as duas espécies aqui estudadas possam ser, na verdade, apenas uma, sendo a espécie *C. mollis* um ecótipo de *C. argentea*.

A existência de ecótipos no gênero já foi observada (Queiroz & Coradin, 1995) e, para o fato de a separação destas espécies estar baseada em dados relativamente frágeis, como a coloração da face dorsal da folha e a distribuição geográfica, que no caso é sobreposta, o argumento de que as duas espécies possam ser na verdade apenas uma, pode ser levado em consideração.

A única diferença encontrada entre as duas espécies foi com relação à classificação dos cromossomos I, IV e VI. Esta diferença pode ser explicada pela ocorrência da reorganização do material genético no gênero *Cratylia*. Um provável tipo de rearranjo que pode ter ocorrido seria a transposição (Figura 6 A). Para os cromossomos I e VI, pode ter ocorrido uma quebra da região da extremidade do braço maior dos cromossomos de *C. argentea* que passou para a região terminal do braço menor dos mesmos cromossomos, tornando-os metacêntricos em *C. mollis*. Para o cromossomo IV, que é classificado como metacêntrico em *C. argentea*, pode ter ocorrido também uma transposição da extremidade de um dos braços para o outro, tornando este último maior e passando a submetacêntrico em *C. mollis*.

Também podem ter ocorrido eventos de inversão pericêntrica ou ainda de translocação do material genético (Figura 6 B e 7).

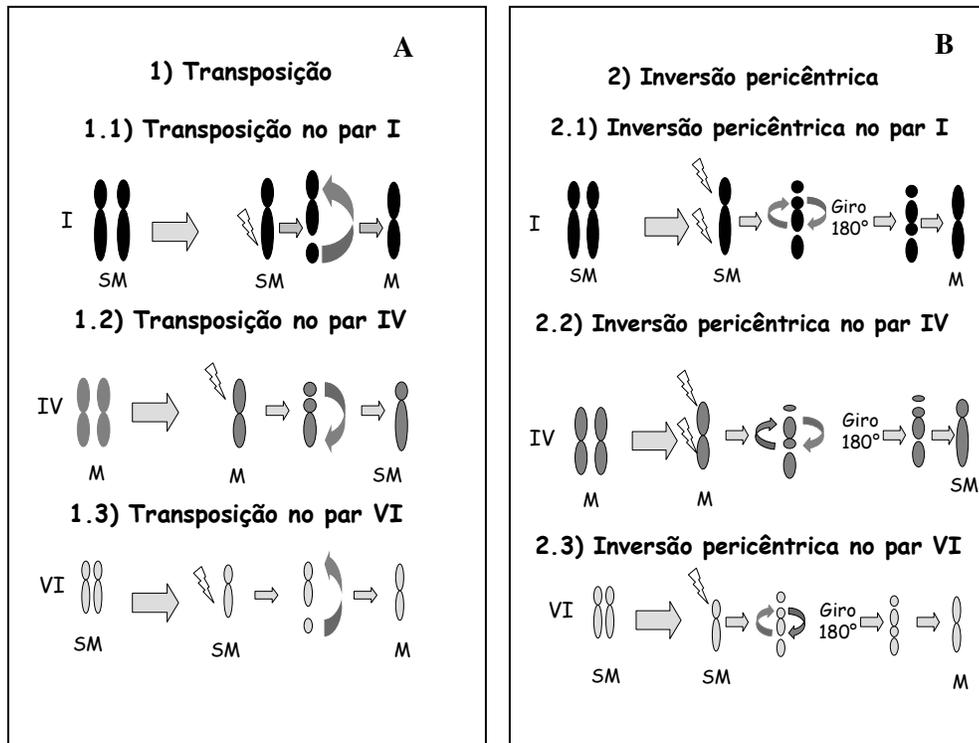


FIGURA 6 Possíveis eventos de rearranjos cromossômicos envolvendo duas espécies do gênero *Cratylia*. Evento de transposição (A) e inversão pericêntrica (B) ocorridos nos cromossomos I, IV e VI de *C. argentea*, dando origem a cromossomos morfologicamente distintos em *C. mollis*.

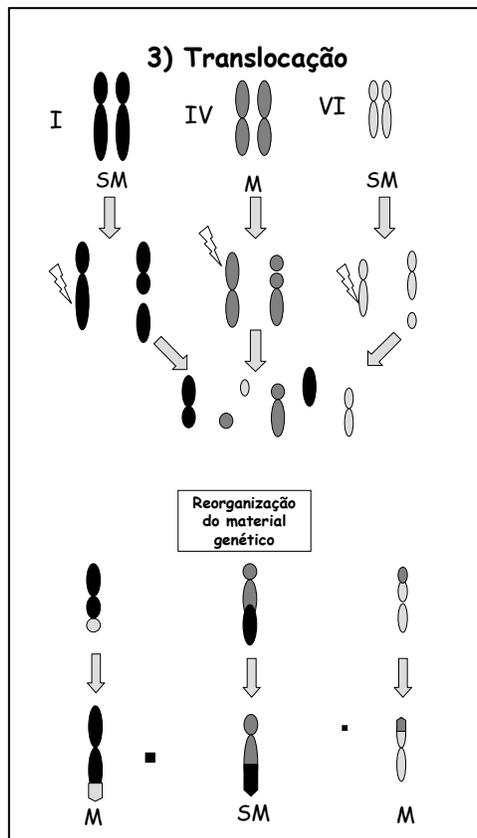


FIGURA 7 Possível evento de translocação ocorrido nos cromossomos I, IV e VI de *C. argentea*, dando origem a cromossomos morfologicamente distintos em *C. mollis*.

Os eventos citados são os mais prováveis porque neles não há perda nem ganho de material genético, fato observado nas espécies aqui estudadas, já que não houve diferença significativa entre elas quanto ao CTHL e ao CR de todos os cromossomos.

No caso de ser verdadeira a hipótese de que *C. argentea* e *C. mollis* tratem-se de uma única espécie, provavelmente estes eventos geraram variabilidade intra-específica na morfologia dos cromossomos. Caso contrário, os mesmos eventos podem ser uma das causas de variação determinantes da especiação dentro deste gênero, uma vez que estes tipos de rearranjos, assim como outros, tais quais as fissões, fusões e disploidias, têm um importante papel na evolução das espécies de plantas (Togby, 1943; Watanabe et al., 1995).

Estudos mais detalhados dos cromossomos, envolvendo outras espécies do gênero, com uso de técnicas de bandeamento cromossômico e hibridação *in situ*, trariam subsídios importantes para verificar essa hipótese de união das duas espécies em apenas uma categoria específica.

4.2 Meiose e viabilidade do grão-de-pólen do acesso 28 de *C. argentea*

A meiose do acesso 28 de *C. argentea* ocorreu de forma normal em todas as amostras avaliadas. Na diacinese, em 100% das células foram identificados onze bivalentes, indicando tratar-se de uma espécie diplóide com $2n=22$ cromossomos (Figura 8 A). Foi observada a presença de um nucléolo em um paquíteno (Figura 8 B) e, além disso, verificou-se que 98% dos grãos de pólen analisados apresentaram-se viáveis (Figura 9). Estes resultados são importantes, uma vez que o estudo da estabilidade meiótica, juntamente com a análise da viabilidade do grão de pólen, permite indicar o potencial para cruzamentos da planta, fornecendo subsídios para usos futuros em programas de seleção, cruzamento e produção de sementes viáveis (Vargas et al., 2004).

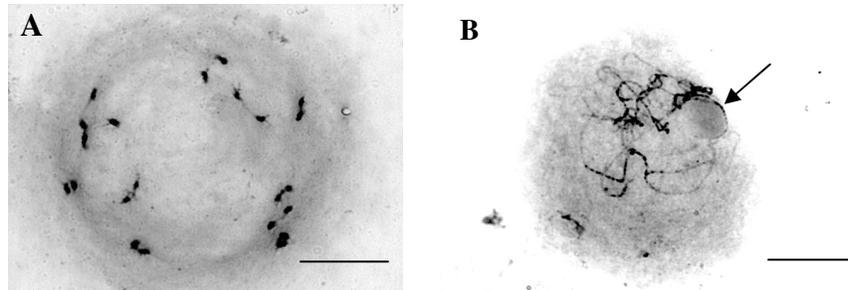


FIGURA 8 Células de *Cratylia argentea* em diacinese, com onze bivalentes (A) e em paquíteno, apresentando nucléolo indicado pela seta (B) (barra = 10 μ m).

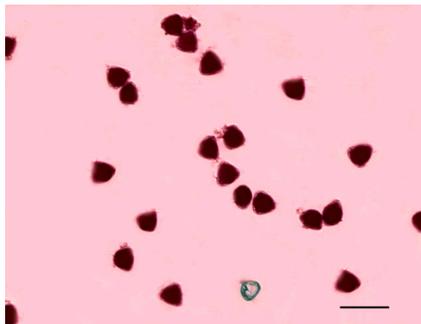


FIGURA 9 Grãos de pólen de *Cratylia argentea* corados com corante de Alexander, sendo os de coloração roxa viáveis e os de coloração esverdeada inviáveis (barra = 10 μ m).

5 CONCLUSÕES

- 1) O número cromossômico de *C. argentea* e *C. mollis* é $2n=22$.
- 2) A espécie *C. argentea* possui a fórmula cariotípica: $5m^* + 4sm + 2a$ e para *C. mollis*, a fórmula cariotípica é: $6m^* + 3sm + 2a$, ambas apresentando cariótipos simétricos.
- 3) A diferença encontrada na morfologia dos cromossomos I, IV e VI das duas espécies pode ser explicada por eventos de rearranjos cromossômicos.
- 4) As similaridades encontradas entre os resultados de comprimento total do lote haplóide, o comprimento relativo dos onze cromossomos e a simetria dos cariótipos das duas espécies sugerem a idéia de que elas possam ser, na verdade, apenas uma, podendo ser *C. mollis*, um ecótipo de *C. argentea*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXANDER, M. P. A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, Baltimore, v. 55, n. 1, p. 13-19, Jan./Feb. 1980.
- ALLEN, O. N.; ALLEN, E. K. **The Leguminosae: a source book of characteristics, uses and nodulation**. Madison: University of Wisconsin Press, 1981. 191 p.
- ALVES, M. A. O.; CUSTÓDIO, A. V. de C. Citogenética de leguminosas coletadas no estado do Ceará. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.12, n. 1, p. 81-92, mar. 1989.
- ARGEL, P. J.; HIDALGO, C.; GONZÁLEZ, J.; LOBO, M.; ACUÑA, V.; JIMÉNEZ, C. **Cultivar Veraniega (*Cratylia argentea* (Desv.) O. Kuntze). Una leguminosa arbustiva para la ganadería de América Latina tropical**. Consorcio Tropileche (CATIE, CIAT, ECAG, MAG, UCR). Costa Rica: Ministério de Agricultura y Ganadería de Costa Rica (MAG), 2001. 26 p. (Boletín técnico).
- ARGEL, P. J.; LASCANO, C. E. *Cratylia argentea* (Desveaux) O. Kuntze: Una nueva leguminosa arbustiva para suelos ácidos en zonas subhúmedas tropicales. **Pasturas Tropicales**, Cali, v. 20, n. 1, p. 37-43, 1998.
- ARGEL, P. J.; LASCANO, C. E. *Cratylia argentea* (Desvaux) O. Kuntze: Una nueva leguminosa arbustiva para suelos ácidos en zonas subhúmedas tropicales. **Pasturas Tropicales**, Cali, v.20, n. 1, p. 1-7, ene./mar. 2000.
- BAIRIGANJAN, G. C.; PATNAIK, S. N. Chromosomal evolution in Fabaceae. **Cytologia**, Tokyo, v. 54, p. 51-64, 1989.
- BATTISTIN, A.; VARGAS, M. G. A Cytogenetic study of seven species of *Centrosema* (DC.) Benth (LEGUMINOSAE – PAPILIONOIDEAE). **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 12, n. 2, p. 319-329, June 1989.
- BOGDAN, A. V. **Tropical pastures and fodder plants (Grasses and Legumes)**. London: Longmann Group, 1977. 475 p.
- CARDOSO, M. B.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; BODANESE-ZANETTINI, M. H. Taxonomic and evolutionary implications of intraespecific variability in chromosome numbers of species of *Leucaena* Benth

(Leguminosae). **Botanic Journal of Linnean Society**, London, v. 134, n. 4, p. 549-556, Dec. 2000.

CARVALHO, C. R. **Desenvolvimento de tecnologia citogenética em milho (*Zea mays* L.)**. 1995. 127 p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

CRATYLIA ARGENTEA (Desv.) Kuntze. Centro Internacional de Agricultura Tropical, Cali Colômbia. Disponível em: <<http://www.fao.org/WAICENT/FAOINFO/AGRICULT/AGP/AGPC/doc/GBASE/Data/pf000517.HTM>>. Acesso em: 22 abr. 2005.

DIMITROVA, D.; GREILHUBER, J. Karyotype and DNA-content evolution in ten species of *Crepis* (Asteraceae) distributed in Bulgaria. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 132, n. 3, p. 281-297, Mar. 2000.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L. Chloroplast DNA phylogeny of the Papilionoid legume tribe Phaseoleae. **Systematic Botany**, Bronx, v. 18, n. 2, p. 309-327, Apr./June 1993.

FERRI, M. G.; MENEZES, N. L.; MONTEIRO, W. R. **Glossário ilustrado de botânica**. 6. ed. São Paulo: Nobel, 1992. 197 p.

FORNI-MARTINS, E. R. **Cariótipo e sua análise numérica como subsídio a estudos taxonômicos e evolutivos de *Phaseolus* L., *Vigna* Savi e *Macroptilium* (Bentham) Urban – Leguminosae, Papilionoideae**. 1989. 146 p. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade de Campinas, Campinas.

GOLDBLATT, P. Cytology and the phylogeny of Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. **Advances in legume systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p. 427-463.

GONZÁLEZ-AGUILERA, J. J.; FERNÁNDEZ-PERALTA, A. M. Phylogenetic relationships in the family Resendaceae. **Genetica**, Gravenhage, v. 64, n. 2, p. 185-198, 1984.

GUERRA, M. **Introdução a citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara, 1988. 142 p.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. de. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. Riberão Preto, SP; FUNPEC, 2002. 131 p.

KAVANGH, T. A.; FERGUSON, I. K. Pollen morphology and taxonomy of the subtribe Diocleinae (Leguminosae, Papilionoideae, Phaseoleae). **Review Palaeobotany Palynology**, Amsterdam, v. 32, n. 4, p. 317-367, 1981.

KERRIDGE, P. C.; LASCANO, C. E. Leguminosas arbustivas em sistemas de producc33n em el tr33pico. In: PIZARRO, E. A.; CORADIN, L. (Ed.). **Potencial del g33nero Cratylia como leguminosa forrajera**: memorias del Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995. Brasilia: EMBRAPA/CENARGEN/CPAC/CIAT, 1995. p. 98-106.

KUMARI, S.; BIR, S. S. Karyomorphological evolution in Caesalpiniaceae. **Journal of Cytology and Genetics**, Bangalore, v. 24, n. 2, p. 149-163, 1989.

LACKEY, J. A. Tribe 19. Phaseoleae DC. (1825). In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. **Advances in legume systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p. 301-327.

LASCANO, C. E. Calidad Nutritiva y Utilizaci33n de *Cratylia argentea*. In: PIZARRO, E. A.; CORADIN, L. (Ed.). **Potencial del g33nero Cratylia como leguminosa forrajera**: Memorias del Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995. Brasilia: EMBRAPA/CENARGEN/CPAC/CIAT, 1995. p. 83-94.

LEWIS, **Legumes of Bahia**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1987. 369 p.

LIN, J. Y.; TSERNG, K. Y.; CHEN, C. C.; LIN, L. T.; TUNG, T. C. Abrin and Ricin: new anti-tumour substances. **Nature**, London, v. 227, p. 292-293, 1970.

MASS, B. L. Evaluaci33n agron33mica de *Cratylia argentea* (desvaux) O. Kuntze em Colombia. In: PIZARRO, E. A.; CORADIN, L. (Ed.). **Potencial del g33nero Cratylia como leguminosa forrajera**: Memorias del Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995. Brasilia: EMBRAPA/ CENARGEN/ CPAC/CIAT, 1995. p. 62-74.

MAXTED, N.; CALLIMASSIA M. A.; BENNETT, M. D. Cytotaxonomic studies of Eastern Mediterranean *Vicia* species (Fabaceae). **Plant Systematics and Evolution**, Vienna, v. 177, n. 3/4, p. 221-234, 1991.

MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Karyotypic studies on species of *Phaseolus* (Fabaceae: Phaseolinae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 85, n. 1, p. 1-9, Jan. 1989.

- MEYER, D. Análise filogenética de seqüências de DNA. In: AMORIN, D. S. **Elementos básicos de sistemática filogenética**. 2. ed. Ribeirão Preto: Holos Editora, 1997. p. 187-212.
- OLIVEIRA, J. T. A.; RIOS, F. J. B.; VASCONCELOS, I. M.; FERREIRA, F. V. A.; NOJOSA, G. B. A.; MEDEIROS, D. A. *Cratylia argentea*, a possible defensive protein against plant-eating organisms: effects on rat metabolism and gut histology. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v.42, n. 11, p. 1737-1747, Nov. 2004.
- OTERO, J. R. de. **Informações sobre algumas plantas forrageiras**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura. Serviço de Informação Agrícola, 1952. p. 313. (Série didática. 11).
- PAGEL, M. D. Inferring the historical patterns of biological evolution. **Nature**, London, v. 401, n. 6756, p. 877-884, Oct. 1999.
- PAGLIARINI, M. S. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n. 4, p. 997-1002, Dec. 2002.
- PALOMINO, G.; ROMO, G.; ZÁRATE, S. Chromosome numbers and DNA content in some taxa of *Leucaena* (Fabaceae: Mimosoideae). **Cytologia**, Tokyo, v. 60, p. 31-37, 1995.
- PASSOS, L. P.; CARVALHO, M. M.; CAMPOS, O. F. (Ed.). **EMBRAPA Gado de Leite: 20 anos de pesquisa**. Juiz de Fora: EMBRAPA. Centro Nacional de Pesquisa de Gado de Leite – Área de Difusão e Transferência de Tecnologia, 1997.
- PERDOMO, P. **Adaptación edáfica e valor nutritivo de 25 espécies y accesiones de leguminosas arbóreas y arbustivas en dos suelos contrastantes**. 1991. 127 p. Tese (Graduação em Zootecnia) - Universidade Nacional da Colombia - Faculdade de Ciências Agropecuárias, Palmira.
- PIO-CORRÊA, M. **Dicionário das plantas úteis do Brasil**. Rio de Janeiro: Ministério da Agricultura, 1984. v. 2.
- PIZARRO, E. A.; CARVALHO, M. A.; RAMOS, A. K. B. Introducción y evaluación de leguminosas forrajeras arbustivas en el Cerrado Brasileño. In: PIZARRO, E. A.; CORADIN, L. (Ed.). **Potencial del género *Cratylia* como**

leguminosa forrajera: Memórias del Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN/CPAC/CIAT, 1995. p. 40-49.

PIZARRO, E. A.; PEREIRA DA SILVA, G.; SCHULTZE-KRAFT, R.; CORADIN, L. Áreas de ocorrência y recolección de germoplasma de *Cratylia argentea* en los estados de Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais y Tocantins en Brasil. **Pasturas Tropicales**, Cali, v. 19, n. 1, p. 10-15, 1997.

POLHILL, R. M. Classification of the Leguminosae. In: BISBY, F. A.; BUCKINGHAM, J.; HARBORNE, J. B. (Ed.). **Phytochemical dictionary of the leguminosae**. New York: Chapman & Hall, 1994. p. 45-47.

POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. **Advances in legume systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p. 55-409.

POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H.; STIRTON, C. H. Evolution and Systematics of Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Ed.). **Advances in legume systematics**, Kew: Royal Botanical Gardens, 1981. p.1-26.

PRAÇA, M. M. et al. Metodologia para obtenção de PMCs em plantas com flores de tamanho reduzido. In: ENCONTRO MINEIRO DE GENETICISTAS, 6., 2000, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2000.

QUEIROZ, L. P. *Cratylia bahiensis* (Leguminosae: Papilionoideae), a new species from Bahia, Brazil. **Kew Bulletin**, Norwich, v. 49, n. 4, p. 769-773, 1994.

QUEIROZ, L. P. de. **O gênero *Cratylia* Mariust. ex Bentham (Leguminosae: Papilionoideae: Phaseoleae). Revisão taxonômica e aspectos biológicos.** 1991. 128 p. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

QUEIROZ, L. P. de; CORADIN, L. Biogeografia de *Cratylia* e áreas prioritárias para coleta. In: PIZARRO, E. A.; CORADIN, L. (Ed.). **Potencial del género *Cratylia* como leguminosa forrajera:** Memórias del Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN/CPAC/CIAT, 1995. p. 11-15.

QUEIROZ, L. P. de.; CORADIN, L. **O gênero *Cratylia*. Informações taxonômicas e distribuição geográfica.** [S.l.], [200-]. 4 p. (Mimeografiado.).

QUEIROZ, L. P.; SILVA, M. M. da; RAMOS, A. L. B.; PIZARRO, E. A. Estudos reprodutivos de *Cratylia argentea* (Desv.) O. Kuntze e *Cratylia mollis* Mart. Ex Benth. (Leguminosae-Papilionoideae). **Pasturas Tropicales**, Cali, v. 19, n. 1, p. 20-23, ene./mar. 1997.

RODRIGUEZ, I.; GONZÁLEZ, S.; LÓPEZ, V.; ROMERO, A. Una nueva leguminosa forrajera para la Mesa de Guanipa: *Cratylia*. **FONAIAP Divulga**, Caracas, n. 64, p. 19, oct./dic. 1999.

SCHULTZE-KRAFT, R. Leguminous forage shrubs for acid soils in the tropics. In: ELGERSMA, A.; STRUIK, P. C.; MAESEN, L. J. G. van der (Ed.). **Grassland science in perspective**. Wageningen: Wageningen Agriculture University, 1996. p. 67-81. Papers 96-4.

SHAN, F.; YAN, G.; PLUMMER, J. A. Karyotype evolution in the genus *Boronia* (Rutaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 142, n. 2, p. 309-320, 2003.

SOUSA, F. B. de.; OLIVEIRA, M. C. de. Avaliação agronômica do gênero *Cratylia* na região semi-árida do Brasil. In: PIZARRO, E. A.; CORADIN, L. (Ed.). **Potencial del género *Cratylia* como leguminosa forrajera**: Memorias del Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995. Brasília: EMBRAPA/CENARGEN/CPAC/CIAT, 1995. p. 50-52.

SOUZA, M. G. C.; BENKO-ISEPPON, A. M. Cytogenetics and chromosome banding patterns in Caesalpinioideae and Papilionoideae species of Pará, Amazonas, Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 144, n. 2, p. 181-191, Feb. 2004.

SPOTORNO, A. E. Concepts y métodos em cariólogia descriptiva y comparada. In: FERNANDEZ-DONOSO, R. (Ed.). **El núcleo, los cromosomas y la evolución**: Project CHI 81/001 UNDP/UNESCO. Chile: Alfabetá, 1985. p. 135-165.

STEBBINS, G. L. **Chromosomal evolution in higher plants**. London: E. Arnoldo, 1971. 216 p.

SWOFFORD, D. L.; OLSEN, G. J. Phylogeny reconstruction. In: HILLIS, D. M.; MORITZ, C. (Ed.). **Molecular systematics**. Sinauer, Sunderland: Massachusetts, 1990. p. 411-501.

THOSS, K.; ROSS, J. The use of fluorescein isothiocyanate labelled lectins for immunohistochemical demonstration of saccharides. **Experimental Pathology**, Jena, v. 11, p. 155-161, 1975.

TOBGY, H. A. A cytological study os *Crepis fuliginosa* and *C. neglecta* and their F1 hybrid and its bearing on the mechanism of phylogenetic reduction in chromosome number. **Journal of Genetics**, Bangalore, v. 45, p. 67-111, 1943.

TOMS, G. C. Lectins in Leguminosae. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. **Advances in legume systematics**, Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p. 561-577.

UFPE produz remédios inteligentes. **Diário de Pernambuco**. Pernambuco, set. 2001. Disponível em:
<http://www.pernambuco.com?diario?2001/09/23/urbana10_0.html>. Acesso em: 14 mar. 2005.

VARELA, E. S.; LIMA, J. P. M. S.; GALDINO, A. S.; PINTO, L. S.; BEZERRA, W. M.; NUNES, E. D.; ALVES, M. A. O.; GRANGEIRO, T. B. Relationships in Diocleinae (Leguminosae; Papilionoideae) inferred from internal transcribed spacer sequences from nuclear ribosomal DNA. **Phytochemistry**, Oxford, v. 65, n. 1, p. 59-69, Jan. 2004.

VARGAS, S. M. et al. Caracterização meiótica de *C. argentea*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE GENÉTICA, 50., 2004, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Costão do Santinho Resort, 2004.

WATANABE, K.; KING, R. M.; YAHARA, T.; ITO, M.; YOKOYAMA, J.; SUSUKI, T.; CRAWFORD, D. J. Chromosomal cytology and evolution in *Eupatorieae* (Asteraceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 82, n. 4, p. 581-592, 1995.

XAVIER, D. F.; CARVALHO, M. M. Avaliação agronômica da *Cratylia argentea* na Zona da Mata de Minas Gerais. In: PIZARRO, E. A.; CORADIN, L. (Ed.). **Potencial del género *Cratylia* como leguminosa forrajera**: Memorias del Taller sobre *Cratylia* realizado del 19 al 20 de julio de 1995. Brasilia: EMBRAPA/CENARGEN/CPAC/CIAT, 1995. p. 29-39.

ZARCO, C. R. A new method for estimating karyotype asymetry. **Taxon**, Berlin, v. 35, n. 3, p. 526-530, Aug. 1986.