

EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA DE *TACINGA* BRITTON & ROSE (OPUNTIOIDEAE-CACTACEAE)

Autor (1) José Clayton Ferreira Alves; Co-autor (1) José Achilles de Lima Neves; Co-autor (2) Erton Mendonça de Almeida; Co-autor (3) Lânia Isis Ferreira Alves; Orientadora (4) Fabiane Rabelo da Costa Batista

(1) Autor. Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), Centro de Ciências Agrárias e ambientais, Sítio Imbaúba, s/n, Zona Rural, Lagoa Seca, PB, 58117000, Brasil. joseclaytonfalves@hotmail.com

(1-4) Co-autores. Instituto Nacional do Semiárido (INSA), Av. Francisco Lopes de Almeida, s/n, Bairro Serrotão, Campina Grande, PB 58429-970, Brasil. jose.lima@insa.gov.br; erton.almeida@insa.gov.br; lania.alves@insa.gov.br; fabiane.costa@insa.gov.br.

Resumo

O gênero *Tacinga* compreende oito espécies, das quais sete são endêmicas para o leste do Brasil, e uma endêmica do Nordeste da Venezuela. Para tentar entender a diversificação e evolução cariotípica do gênero foram analisadas seis espécies, por meio do bandeamento cromossômico com fluorocromos CMA/DAPI. Em *Tacinga* os números cromossômicos variaram de $2n = 22$ (*T. braunii*, *T. funalis* e *T. palmadora*) a $2n = 66$ (*T. wernerii*), apresentam cariótipos simétricos, cromossomos predominantemente metacêntricos, com tamanho médio variando de 0,95 até 2,68 μm . O padrão de bandas heterocromáticas foi caracterizado pela presença de pelo menos um par cromossômico com bandas CMA⁺/DAPI⁻ terminais conspicuas, frequentemente ligadas e distendidas, além de algumas bandas CMA⁺ intersticiais. Contudo, *T. inamoena*, apresentou três padrões de bandas distintos em três populações analisadas (citótipos). A autopoliploidia e ação dos elementos transponíveis parecem ser os mecanismos que melhor explicam a diversificação e evolução cromossômica em *Tacinga*. Por outro lado, a diversidade morfológica observada entre populações disjuntas de *T. inamoena* pode ser explicada como sendo o produto de trocas genéticas com as demais espécies, parecendo ser, *T. inamoena*, um excelente material para o estudo de complexo de espécies, especialmente, quando se investiga complexos poliplóides em que as espécies tetraploides são mais frequentemente híbridos que parecem relacionados à evolução reticulada.

Palavras-chaves: Autopoliploidia, elementos transponíveis e complexos poliplóides.

Introdução

Tacinga Britton & Rose compreende oito espécies, sendo sete endêmicas do leste do Brasil (Zappi et al., 2017), e apenas uma, *Tacinga lilae* Trujillo & Marisela Ponce, endêmica do Nordeste da Venezuela (Majure & Puente, 2014). São arbustos, subarbustos e lianas, com cladódios complanado ou cilíndricos, geralmente segmentados, possuem abundantes gloquídios em suas aréolas, frutos globosos ou alongados com gloquídios e poucas sementes (Taylor & Zappi, 2004). São importantes componentes da fisionomia do semiárido brasileiro (Nobel & Bobich, 2002), com papel destacado na ecologia e sustentabilidade desses ecossistemas, como fonte de alimento e água para diversos animais, contribuindo para a formação de

(83) 3322.3222

contato@conidis.com.br

www.conidis.com.br

solo sobre inselbergues, permitindo o estabelecimento de varias outras plantas (Taylor & Zappi, 2004). Algumas espécies como *Tacinga braunii* Esteves, *T. saxatilis* subsp. *estevesii* (P.J.Braun) N.P.Taylor & Stuppy, *T. subcylindrica* M.Machado & N.P.Taylor foram enquadradas na categoria ameaçadas de extinção (Zappi et al., 2017).

Em decorrência, provavelmente, ao alto grau de parentesco entre seus representantes mais recentemente derivados, algumas espécies deste gênero (*T. palmadora* e *T. weneri*; *T. inamoena*, *T. saxatilis*; *T. braunii* e *T. funalis*) são morfológicamente muito similares, sendo facilmente confundidos em estado vegetativo (Lambert, 2009). A investigação da composição genética de espécies morfológicamente similares, através da caracterização cromossômica pelo bandeamento CMA/DAPI, permite auxiliar na delimitação de táxons próximos, como nos gêneros *Epidendrum* (Assis et al., 2013) e *Ameroglossum* (Almeida et al., 2016). Cariologicamente, *Tacinga* é pouco estudada, com registros cromossômicos para apenas três espécies: *T. funalis*, com $2n = 22$, *T. inamoena*, $2n = 44$ e *T. palmadora*, $2n = 22$ (Castro et al., 2013; 2016). Todavia, esses trabalhos são restritos a análise de uma única população, sendo necessários estudos envolvendo a análise populacional, notadamente em espécies reconhecidas diversificadas morfológicamente crescendo em simpatria, como *T. inamoena* (Teran & Loayza, 2008).

Neste sentido, o presente trabalho objetivou a caracterização cromossômica das espécies brasileiras do gênero *Tacinga*, através do bandeamento com os fluorocromos CMA/DAPI, visando conhecer os mecanismos que melhor explicam a diversificação e evolução cromossômica em *Tacinga*.

Metodologia

Os exemplares de *Tacinga* (6ssp.), foram coletados, em sua maioria, na região NE do Brasil (Tabela 1). As plantas estão sendo mantidas no Cactário do INSA, com amostras para documentação botânica depositada no Herbário EAN/CCA/UFPB. Para as análises cromossômicas, pontas de raízes, foram pré-tratadas com 8HQ por 20 h a 4° C, fixados em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético) por 2 a 24 h, à temperatura ambiente e estocados a -20 °C no próprio fixador. Para a preparação das lâminas, as raízes fixadas foram lavadas em água destilada, digeridas em solução enzimática e esmagadas em uma gota de ácido acético 45 %, congeladas em nitrogênio líquido para a remoção da lamínula, secas ao ar e envelhecidas por três dias. Após o envelhecimento, as lâminas foram coradas com 10 µL de CMA₃ (0,1 mg/mL) durante 1 h, lavadas em água destilada, secas

ao ar, coradas com 10 μL de DAPI (1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) por 30 min e montadas em glicerol/tampão McIlvaine (pH 7,0) (1:1, v/v). As imagens das melhores células foram capturadas em fotomicroscópio Zeiss, com câmera de vídeo Axio Cam MRC5, usando o *software* Axiovision 4.8. As medições cromossômicas foram realizadas com o auxílio do software Image Tool[®] (<http://ddsdx.uthscsa.edu/DIG/download.htm>). A fórmula cariotípica foram determinadas segundo Guerra (1988).

Resultados e Discussão

Foram analisadas citologicamente de 2-6 indivíduos por população de *Tacinga* Britton & Rose, pertencentes a seis espécies. Em *Tacinga* os números cromossômicos variaram de $2n = 22$ (*T. braunii*, *T. funalis* e *T. palmadora*) a $2n = 66$ (*T. weneri*). Os cariótipos foram relativamente simétricos, com cromossomos predominantemente metacêntricos, e tamanho cromossômico médio variando de 0,95 até 2,68 μm (Tabela 1). O padrão de banda heterocromático foi caracterizado pela presença de pelo menos um par cromossômico com bandas $\text{CMA}^+/\text{DAPI}^-$ terminais conspicuas, que frequentemente encontram-se ligadas e distendidas, além da presença de bandas $\text{CMA}^0/\text{DAPI}^-$ pericentroméricas em todos os cromossomos do cariótipo (Fig. 1a-h). O heteromorfismo de bandas CMA^+ intersticiais foi observado em *T. funalis* (Fig. 1b) e *T. inamoena* (Fig. 1f). Todas as populações analisadas de *T. inamoena*, apresentaram $2n = 44$, mas diferiram quanto a fórmula cariotípica e padrões de bandas heterocromáticas, sendo identificado três citótipos dentro da espécie (Figs. 1d-f).

Uma das hipóteses que poderia explicar a origem e evolução cariotípica de *Tacinga* é a possibilidade de que *Tacinga* e *Brasiliopuntia* descendam de um ancestral comum com $2n = 22$, e por acúmulo de mutações vantajosas selecionadas, *Tacinga* se divergiu em duas linhagens, sendo uma que compreendendo as espécies, *T. funalis*, *T. braunii*, *T. saxatilis* (diploides, $2n = 22$) e *T. inamoena* (tetraplóide, $2n = 44$), e a outra linhagem abrangendo, *T. palmadora* ($2n = 22$), *T. lilae* (tetraplóide, $2n = 44$) e *T. weneri* (hexaploide, $2n = 66$), cujas mutações foram seguidas de eventos de autoploidização em ambas as linhagens. Essa hipótese pode ser suportada pela forte similaridade morfológica, e o padrão de distribuição de bandas CMA^+ entre os táxons de *Tacinga*, bem como, pela filogenia de *Opuntia* s. str. proposta por Majure & Puente (2014) usando genes plastidiais (*matK* e *ycf1*), plastid intergenic spacers (*atpB-rbcL*, *ndhF-rpl32*, *psbJ-petA*, *trnL-F*) e nucleares (*ppc* e ITS). Por outro lado, a diversidade morfológica observada entre populações disjuntas de *T. inamoena* pode ser explicada como sendo o produto de trocas genéticas com as demais espécies, parecendo ser, *T.*

inamoena, um excelente material para o estudo de complexo de espécies, especialmente, quando se investiga complexos poliplóides em que as espécies tetraploides são mais frequentemente híbridos que parecem relacionados a evolução reticulada.

Conclusões

Tacinga é cariológicamente variável, com espécies diploides, tetraploides e hexaploide. A autopoliploidia e ação dos elementos transponíveis parecem ser os mecanismos que melhor explicam a diversificação e evolução cromossômica em *Tacinga*;

Fomento



Referências

- ALMEIDA, E. M.; WANDERLEY, A. M.; NOLLET, F.; COSTA, F. R.; SOUZA, L.G.R.; FELIX, L. P. A New Species of *Ameroglossum* (Scrophulariaceae) Growing on Inselbergs in Northeastern Brazil. *Systematic Botany*. 2016, 41: 423-429.
- ASSIS, F. N. M.; SOUZA, B. Q. C.; MEDEIROS-NETO, E.; PINHEIRO, F.; BARROS-SILVA, A. E.; FELIX, L. P. Karyology of the genus *Epidendrum* (Orchidaceae: Laeliinae) with emphasis on subgenus *Amphiglottium* and chromosome number variability in *Epidendrum secundum*. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 2013, 172: 329-344.
- CASTRO, J. P.; NETO, E. M.; SOUZA, L. G. R.; ALVES, L. I. F.; BATISTA, F. R. C.; FELIX, L. P. CMA band variability and physical mapping of 5S and 45S rDNA sites in Brazilian Cactaceae: Pereskioideae and Opuntioideae. *Brazilian Journal of Botany*. 2016, 39: 613-620.
- CASTRO, J. P.; SOUZA, L. G. R.; ALVES, L. I. F.; SILVA, A. E. B.; GUERRA, M.; FELIX, L. P. IAPT/IOPB chromosome data 15. *Taxon*. 2013, 62: 1073–1083.
- GUERRA, M. S. Introdução à citogenética geral. *Guanabara Koogan: Rio de Janeiro*, 1988.
- LAMBERT, S. *Tacinga*: The hummingbird-pollinated prickly pear. *Cactus and Succulent Journal*. 2009, 81: 156-161.
- MAJURE, L.C.; PUENTE, R. Phylogenetic relationships and morphological evolution in *Opuntia* s.str. and closely related members of tribe Opuntieae, *Succulent Plant Research*. 2014, 8: 9-30.
- NOBEL, P.S.; BOBICH, E.G. Environmental Biology. In: Nobel PS (Ed.). *Cacti: Biology and Uses*. Los Angeles: University of California Press. 2002.
- TAYLOR, N.; ZAPPI, D. *Cacti of Eastern Brazil*. Royal Botanic Gardens, Kew. 2004.
- TERÁN, A; LOAYZA, A. Diversidade genética e morfológica, filogeografia e filogenia de *Tacinga* Britton & Rose (Cactaceae: Opuntioideae), gênero endêmico do bioma caatinga no leste do Brasil. *Boletín de la Sociedad Latinoamericana y del Caribe de Cactáceas y otras Suculentas*. 2008, 5: 4-8.
- ZAPPI, D.; TAYLOR, N.; SANTOS, M.R.; LAROCCA, J. Cactaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB1750>>. 2017.

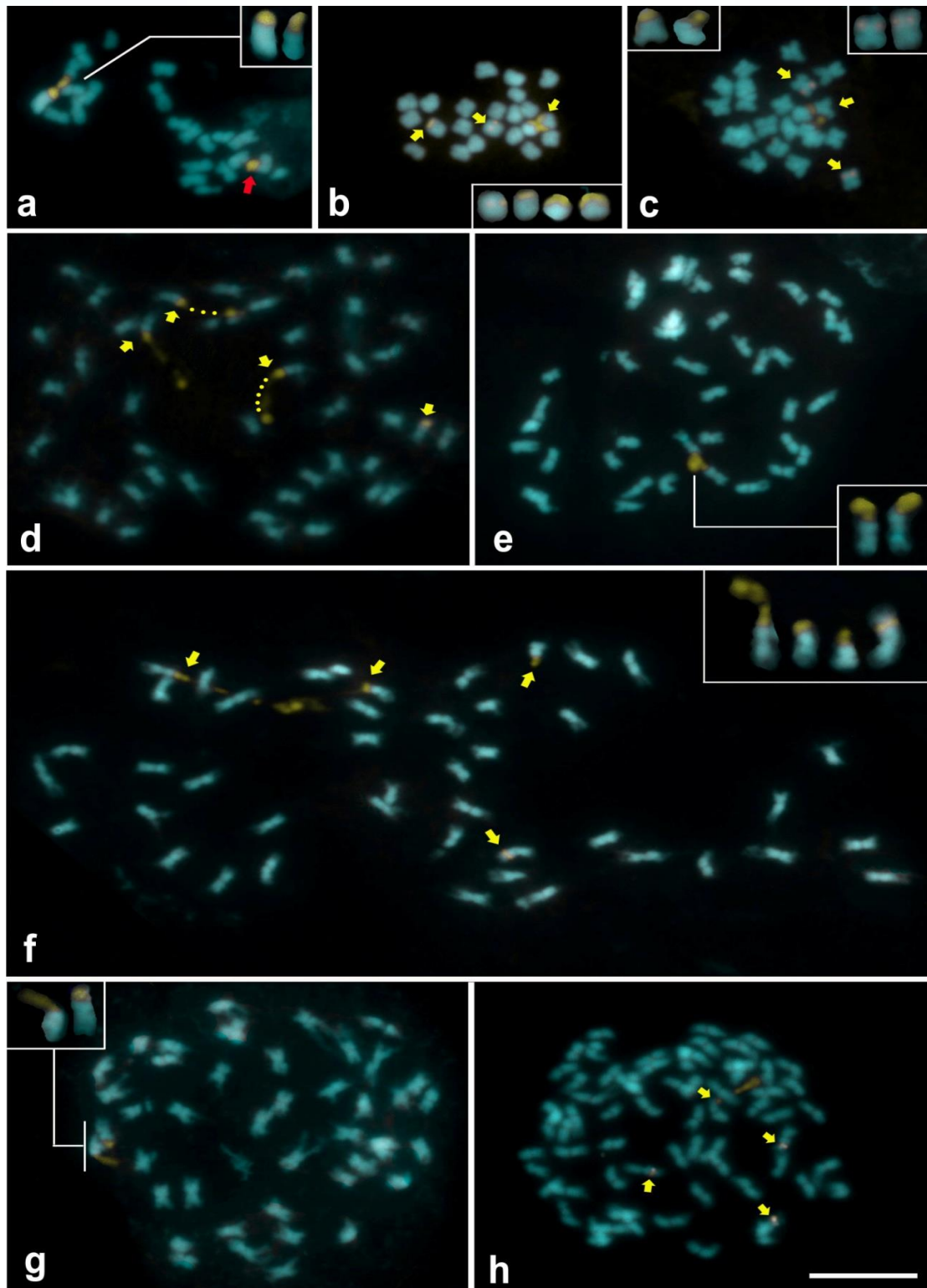


Figura 1: Células metafísicas de *Tacinga* coradas com CMA (amarelo) e DAPI (azul). a. *T. braunii* com $2n = 22$ (2SM + 20M); b. *T. funalis* com $2n = 22$ (22M); c. *T. palmadora* ($2n = 22$, 22M). d-f. *Tacinga inamoena* com $2n = 44$. d. Citótipo 1, com 4SM + 40M coletado em Algodão de Jandaira, PB; e. Citótipo 2, com 12SM + 32M coletado em Morro do Cahapéu, BA. f. Citótipo 3, com 44M coletado em Brejo da Madre de Deus, PE; g. *T. lilae* com $2n = 44$ (44M). h. *T. weneri* com $2n = 66$ (14SM + 52M). Insetos e as setas amarelas destacam bandas CMA⁺ terminais e intercalares. Seta vermelha aponta um bloco CMA⁺ de outra célula. Tracejado em “d” indica a distensão de bandas CMA terminais. A barra em “h” corresponde a 10 μm .

Tabela 1: Lista de espécies analisadas de *Tacinga*, número do coletor, local de coleta, dados cariológicos e contagens prévias.

Taxa	Número do coletor	Local de coleta *	2n	Formula Cariotípica (FC)	Variação do tamanho cromossômico (µm)	Padrões de Bandas**		Contagens prévias***
						CMA ⁺ /DAPI ⁻	CMA ⁰ /DAPI ⁻	
<i>Tacinga braunii</i> Esteves	EMA 2002	Itinga, MG	22	20M + 2SM	1,63 – 3,03	2t	11pe	<u>22</u> (PT)
<i>T. funalis</i> Britton & Rose	EMA 1764	Jacobina, BA	22	22M	1,18 – 1,95	3t+1i	11pe	<u>22</u> (C13; M77; PT)
<i>T. palmadora</i> (Britton & Rose) N.P.Taylor & Stuppy	EMA 1589	Algodão de Jandaira, PB	22	22M	0,80 – 1,11	2t+2i	11pe	<u>22</u> (C16; PT)
<i>T. inamoena</i> (K.Schum.) N.P.Taylor & Stuppy								
Citótipo 1	EMA 1602	Algodão de Jandaira, PB	44	4SM + 40M	0,54 – 1,35	4t	22pe	<u>44</u> (C13; PT)
Citótipo 2	EMA 1753	Morro do Chapéu, BA	44	12SM + 32M	1,49 – 2,67	2t	22pe	<u>44</u> (C13; PT)
Citótipo 3	EMA 1645	Brejo da Madre de Deus, PE	44	44M	1,91 – 3,37	3t+1i	22pe	<u>44</u> (C13; PT)
<i>T. lilea</i> (Trujillo & Marisela Ponce) Majure & R. Puente	INSA S/N	Origem desconhecida	44	44M	1,66 – 2,83	2t	22pe	<u>44</u> (PT)
<i>T. weneri</i> (Eggl) N. P.Taylor & Stuppy	EMA 1779	Morro do Chapéu, BA	66	14SM + 52M	1,20 – 3,61	2t+2i	62pe	<u>44</u> (PT)

* **Local de coleta:** Sigla dos estados brasileiros: PB = Paraíba; PE = Pernambuco; BA = Bahia; MG = Minas Gerais. ****Padrões de bandas heterocromáticas:** i = intersticial; pe = pericentromérica; t = terminal. *** **Contagens prévias:** Números sublinhados referem-se ao o número cromossômico (2n), e os registros prévios para os referidos números encontram-se entre parênteses. Sigla dos registros prévios: C15 = Castro, et al., 2016; C13 = Castro et al., 2013; M77 = Moore, 1977; PT = Presente Trabalho.