



**DETERMINAÇÃO DO NÚMERO DE CROMOSSOMOS DE *Catasetum denticulatum*  
F.E.L. MIRANDA (ORCHIDACEAE)**

MELLO<sup>1</sup>, Vanessa dos Santos de; CARDOSO<sup>2</sup>, Maialu Antunes; BORGES<sup>3</sup>, Nayara Magagnin ; SOARES<sup>3</sup>, Jaqueline Aparecida Gonçalves; KARSBURG<sup>4</sup>, Isane Vera

<sup>1</sup>Bióloga, Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, MT. e-mail: nessa.demello@hotmail.com

<sup>2</sup>Mestranda do Programa de Pós-graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, MT.

<sup>3</sup>Mestranda do Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, MT.

<sup>4</sup>Professora e Doutora, Universidade do Estado de Mato Grosso , Alta Floresta, MT.

*Seção temática:* Genética e Melhoramento vegetal

**Resumo:** A família Orchidaceae constitui-se de uma das mais interessantes famílias de plantas floríferas. Apesar de sua grande variação entre os vegetais, são poucas as informações disponíveis na literatura sobre a caracterização cariotípica das espécies. Objetivou-se determinar o número de cromossomos da espécie *Catasetum denticulatum*. Os meristemas radiculares da espécie, foram submetidos ao tratamento de bloqueio em solução de 3µM de trifluralim durante 16 horas a 4°C, em seguida, as raízes foram lavadas em três trocas em água destilada e fixadas em metanol:ácido acético na proporção 3:1, transferidas para tubos Eppendorf® contendo enzima Pectinase na concentração de 3µM, permanecendo a 35 °C em banho-maria por 5 horas e 30 minutos. As lâminas foram preparadas pela técnica de dissociação celular. As avaliações citológicas mostraram que a espécie *Catasetum denticulatum* tem 2n=54 cromossomos, contribuindo para o conhecimento do gênero e futuros trabalhos de melhoramento, já que não existe outro estudo relacionado à espécie.

**Palavras-chave:** dissociação celular; orquídeas; citogenética

DETERMINING THE NUMBER OF CHROMOSOMES OF *Catasetum denticulatum*  
F.E.L MIRANDA (ORCHIDACEAE)

**Abstract:** The orchid family is made up of one of the most interesting families of flowering plants. Despite its wide variation among plants, there is little information available in the literature about chromosome characterization of species. This study aimed to determine the number of chromosomes of specie *Catasetum denticulatum*. The root meristems species, were subjected to blocking treatment at 3µM solution trifluralim for 16 hours at 4°C, then the roots were washed in three changes of distilled water and fixed in methanol: acetic acid in the ratio 3:1, transferred to Eppendorf tubes containing enzyme Pectinase in the concentration of 3µM, remaining at 35°C in a water bath for 5 hours and 30 minutes. Slides were prepared by cell dissociation technique. Cytological evaluations showed that specie *Catasetum*



*denticulatum* has  $2n = 54$  chromosomes, contributing to the knowledge of the genre and future work of improvement, as there is no other study related species.

**Keywords:** cell dissociation; orchids; cytogenetics

### INTRODUÇÃO

A família Orchidaceae compreende 35.000 espécies distribuídas em 800 gêneros, constituindo uma das mais interessantes famílias de plantas floríferas (FARIA et al., 2012). As orquídeas possuem características que as tornam grandemente atrativas, como a diversidade de variação de cores, curiosas formas e diversos tamanhos, o que potencializa o seu valor no mercado de plantas ornamentais, além de exercerem um importante papel como componente florístico de diversos ecossistemas (FARIA et al., 2012).

Dentre os gêneros encontrados no Brasil, o gênero *Catasetum* Rich. ex Kunth constitui-se em um dos principais, sendo possuidor de espécies com alta valorização em termos comerciais e que se encontram sob intenso extrativismo (JOLY, 1998; PEDROSO-DE-MORAES et al., 2007). Despertam interesse em inúmeros colecionadores, como orquicultores, orquidólogos e zoólogos (BRESCASIN, 2013).

A espécie *Catasetum denticulatum* F.E.L. Miranda possui o epíteto específico *denticulatum* vem do latim, *denticulatus*, que significa pequenos dentes, refere-se à margem do lábio que é denticulada, sendo uma característica importante para distinguir esta espécie de espécies semelhantes (MIRANDA, 1986).

É uma planta epífita, com flores ressupinadas, tépalas creme maculadas de marrom-avermelhado, labelo amarelo, pintalço de vermelho e margens dentilhadas, distribuída na região Norte no Brasil, sendo encontradas no domínio Amazônico, em área antrópica, floresta de terra firme e vegetação sobre afloramentos rochosos (BARROS, 2015).

A citogenética vegetal auxilia na geração de dados referentes aos aspectos cariológicos das espécies, possibilitando o estabelecimento de mapas físicos, auxiliando a produção e o estudo de organismos aneuplóides e poliplóides, identificando possíveis rearranjos cromossômicos estruturais e caracterizando os genomas em alopólíides (JAUHAR, 1996). Além de esclarecer os fundamentos genéticos e citológicos da variabilidade dentro de uma família (MARTINEZ, 1976).

Apesar do aumento do uso de técnicas mais especializadas da citogenética, a análise cromossômica continua sendo a única maneira de observar o genoma de um eucarioto na forma de blocos individualizados de material genético, fáceis de serem mensurados, diferenciados em subunidades e manipulados de diferentes formas, pois de nenhuma outra forma o material genético é tão claramente observado (GUERRA e SOUZA, 2002).

A família Orchidaceae possui uma grande variação entre os vegetais, porém são poucas as informações disponíveis na literatura científica sobre a caracterização cariotípica das espécies, não havendo nenhum registro do número cromossômico da espécie *Catasetum denticulatum*. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo determinar pela primeira vez o número cromossômico da espécie *Catasetum denticulatum* F.E.L. Miranda.



## MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi realizado na Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta, no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais, localizado em Alta Floresta-MT.

Para a contagem do número de cromossomos foram utilizados meristemas radiculares de plantas adultas da espécie *Catasetum denticulatum* obtidas do Orquidário Alta Florestense – *Campus* de Alta Floresta -MT.

As radículas foram submetidas ao processo de bloqueio, permanecendo em solução de trifluralim 3 $\mu$ M durante um período de 16 horas a uma temperatura de 4°C. Em seguida, as raízes foram lavadas em água destilada para remoção do excesso da solução e fixadas em metanol:ácido acético na proporção 3:1 (PA), sendo realizadas três trocas e as amostras armazenadas a 4°C (CARVALHO et al., 2005).

As raízes foram retiradas da solução fixadora e passaram por três lavagens seguidas em água destilada, com duração de 10 minutos cada. Posteriormente, transferidas para tubos do tipo Eppendorf® contendo enzima Pectinase Sigma®, onde permaneceram por 5 horas e 30 minutos a 35°C em banho-maria, após o procedimento, foram hidrolisadas em HCL 5N, por 10 minutos.

A metodologia para o preparo das lâminas foi seguida de acordo com Carvalho e Saraiva (1993), pela técnica de dissociação celular. As lâminas foram coradas com 5% de solução de Giemsa (Merck KGaA) durante 3 minutos, lavadas três vezes em água destilada e colocadas numa placa aquecedora a 50°C durante 5 minutos.

Foram analisadas trinta metáfases, sendo as melhores imagens fotografadas com o uso de objetiva de 100X em um microscópio Fotômico Binocular (Leica ICC 50) acoplado a um computador com software LAZ EZ V1. 7.0.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

As observações das metáfases mitóticas permitiram identificar pela primeira vez que a espécie *Catasetum denticulatum* apresenta complemento com 2n=54 cromossomos (Figura 1). O número cromossômico descrito neste trabalho corrobora com os resultados encontrados para outras espécies do gênero *Catasetum* (BORGES et al., 2014; VIEIRA, 2013).

Os números cromossômicos conhecidos na família Orchidaceae mostram uma grande variação, em *Vandoideae*, 22 espécies de 13 gêneros (*Campylocentrum*, *Catasetum*, *Capanemia*, *Cyrtopodium*, *Galeandra*, *Gomesa*, *Miltonia*, *Oeceoclades*, *Oncidium*, *Rodriguezia*, *Warrea*, *Zygopetalon* e *Zygostates*) foram analisadas e uma ampla gama de números cromossômicos foram encontrados, com complemento de 2n = 24-108 e para algumas espécies um conjunto poliplóide enquanto outras diplóides, com base em x = 7 (DAVIÑA et al., 2007).



Figura 1. Metáfase de *Catasetum denticulatum* com  $2n=54$  cromossomos corados com Giemsa 5% por 3 minutos. Barra = 10  $\mu$ m.

O número cromossômico pode trazer informações importantes sobre as afinidades de uma espécie com outras e, juntamente com as demais características citológicas, auxilia no entendimento de variações genéticas envolvidas na evolução do grupo. Uma vez que os cromossomos constituem o próprio material genético, qualquer alteração nos mesmos é sempre significativa no processo evolutivo das espécies (GUERRA, 1988). As análises citogenéticas podem trazer contribuições no sentido de aumentar a eficiência das estratégias de conservação e mesmo de trabalhos de melhoramento com a espécie (GUERRA, 2000).

### CONCLUSÃO

Pela caracterização citogenética foi possível observar pela primeira vez que a espécie *Catasetum denticulatum* possui  $2n=54$  cromossomos, contribuindo para o conhecimento do gênero e futuros trabalhos de melhoramento, já que não existe nenhum outro estudo relacionado à espécie.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BARROS, F.; VINHOS, F.; RODRIGUES, V.T.; BARBERENA, F.F.V.A.; FRAGA, C.N.; PESSOA, E.M.; FORSTER, W.; MENINI NETO, L.; FURTADO, S.G.; NARDY, C.; AZEVEDO, C.O.; GUIMARÃES, L.R.S. **Orchidaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro.** Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB179>>. Acesso em: 10 ago. 2015.



### III SEMINÁRIO DE BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS AMAZÔNICOS

Conservação de solos na Amazônia Meridional

13 a 16 de outubro de 2015 Alta Floresta-MT Universidade do Estado de Mato Grosso

Cáceres, v. 2, n. 1, 2015

ISSN 2358-5978

- BORGES, N.M.; BOTINI, N.; FARIA, R.B.; SOARES J.; KARSBURG, I.V. Determinação do número cromossômico do híbrido *Catasetum saccatum* Lindl x *Catasetum pileatum* amarelo. **Estudos**, Goiânia, v. 41, p. 113-119, 2014.
- BRESCASIN, R.L.; SOUZA-LEAL, T.; PEDROSO-DE-MORAES, C. Influência de diferentes substratos e concentrações de acetileno na floração de *Catasetum fimbriatum* (C. Morren) Lindl. & Paxton (Catasetinae, Orchidaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 11, n. 2, p. 191-196, 2013.
- CARVALHO, C.R.; SARAIVA, L.S. An air drying technique for maize chromosomes without enzymatic maceration. **Biotechnic & Histochemistry**, Baltimore, v. 68, n. 3, p. 142-145, 1993.
- CARVALHO, J.F.R., CARVALHO, C.R., OTONI, W.C. In vitro induction of polyploidy in annatto (*Bixa orellana*). **Plant Cell Tissue and Organ Culture**, Dordrech, v. 80, n. 1, p. 69-75, 2005.
- DAVIÑA, J.; GRABIELE, M.; CERUTTI, J. C.; HOJSGAARD, D.; ALMADA, R.; INSAURRALDE, I.; HONFI, A. Estudios cromosômicos en orquídeas subtropicales de argentina con valor ornamental. **Agro sur**, Valdivia, v.35, n.2, p.59-61, 2007.
- FARIA, R.T.; ASSIS, A.M.; UNEMOTO, L.K.; CARVALHO, J.F.R.P. **Produção de Orquídeas em Laboratório**. Londrina: Mecenaz, 2012. 124 p.
- GUERRA, M. **Introdução à citogenética geral**. São Paulo: Guanabara, 1988. 132 p.
- GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, Würzburg, v. 120, n. 3/4, p. 339-350, 2000.
- GUERRA, M.; SOUZA, M.J. **Como Observar Cromossomos**: um guia de técnica em citogenética vegetal, animal e humana. São Paulo: Funpec, 2002. 131 p.
- JAUHAR, P. Genome analysis: a prologue. In: JAUHAR, P. **Methods of genome analysis in plants**. Boca Raton: CRC Press, 1996. 157 p.
- JOLY, A.B. **Botânica**: introdução à taxonomia vegetal. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998. 777 p.
- MARTINEZ, A.P. Procedimientos para facilitar el estudio de cromosomas en materiales vegetales difíciles. **Cuadernos G. Biological**, v. 5, n. 3, p. 53-60, 1976.
- MIRANDA, F.E.L. Brazilian *Catasetums*. 1986. Disponível em: <<http://www.epidendra.org/taxones/Catasetum/Catasetum%20denticulatum/Catasetum%20denticulatum%20PROT.pdf>>. Acesso em: 09 jan. 2015.
- PEDROSO-DE-MORAES, C.; MOURA, E.R.R.; SILVA, M.C.; ABDALLA, M.A. As orquídeas e o mercado. **Boletim da Coordenadoria das Associações Orquídeas do Brasil (CAOB)**, Bauru, v. 66, n. 66/67, p. 36-42, 2007.
- VIEIRA, A. **Citogenética e Quantificação de DNA de cinco espécies e um híbrido natural do gênero *Catasetum***. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta, 2013.