

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes
Maldonado”**

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE
PLANTAS**

ANA PAULA RODRIGUES DA SILVA

**Morfometria cromossômica de *Catasetum saccatum* Lindl. x
Catasetum saccatum mutante**

**ALTA FLORESTA
MATO GROSSO – BRASIL
FEVEREIRO – 2022**

ANA PAULA RODRIGUES DA SILVA

**Morfometria cromossômica de *Catasetum saccatum* Lindl. x
Catasetum saccatum mutante**

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Isane Vera Karsburg

ALTA FLORESTA
MATO GROSSO – BRASIL
FEVEREIRO – 2022

SILVA, Ana Paula Rodrigues.

S586m Morfometria Cromossômica de *Catasetum Saccatum* Lindl.
X *Catasetum Saccatum* Mutante / Ana Paula Rodrigues Silva –
Alta Floresta/Cáceres/Tangará da Serra, 2022.

30 f.; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim)

Trabalho de Conclusão de Curso

(Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação Stricto Sensu
(Mestrado Acadêmico) Genética e Melhoramento de Plantas,
Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Multicampi,
Universidade do Estado de Mato Grosso, 2022.

Orientador: Isane Vera Karsburg

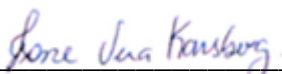
**Morfometria cromossômica de *Catasetum saccatum* Lindl. x
Catasetum saccatum mutante**

ANA PAULA RODRIGUES DA SILVA

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para a obtenção do título de Mestre.

Comissão Examinadora:

BANCA EXAMINADORA



Presidente: Prof. Dr. Isane Vera Karsburg
(Universidade do Estado de Mato Grosso, FACBA – Faculdade de Ciências
Biológicas e Agrárias)



Titular 1: Prof. Dra. Adriana Matheus da Costa de Figueiredo
(Universidade do Estado de Mato Grosso, FACBA – Faculdade de Ciências
Biológicas e Agrárias)



Titular 2: Dra. Priscila Fernanda Simioni
(Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, UENF, Brasil)

Primeiramente a Deus, a toda minha família, em especial aos meus pais Ildo e Rozineide, aos meus amigos de jornada, e a todos que contribuíram de alguma forma para que eu concluísse esse mestrado.

Dedico.

*“Consagre ao Senhor tudo o que você faz,
e os seus planos serão bem-sucedidos.”*

Provérbios 16:3

AGRADECIMENTOS

A Deus, que direciona minha vida, me ama e me conduz pela jornada da vida.

A Universidade Estadual de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT), Campus de Alta Floresta - MT e, ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, por proporcionar a oportunidade de cursar o Mestrado.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) –pelo apoio e bolsa conferida.

A minha orientadora, Prof. Dr. Isane Vera Karsburg por não medir esforços para passar conhecimento, por ser uma mãe com seus orientados e por toda paciência, cuidado e dedicação conferido a mim, foi um grande presente ter a senhora na minha vida.

Aos meus pais, Rozineide Rodrigues Ribeiro e Ildo da Silva, que não mediram esforços para me ajudar durante esse período do mestrado, me apoiando, amparando e sempre incentivando, meu eterno agradecimento.

A Viviane Gouveia Rossi, minha amiga e colaboradora da Unemat que desde o início me incentivou e ajudou no ingresso do mestrado.

A Adriana Figueiredo, minha comadre e amiga, que me orientou na graduação e deu apoio sem medidas para conclusão deste mestrado.

Aos meus amigos do mestrado, Crislei Alves, Mirian Almici, Fabricia Favaretto que se tornaram irmãs e meu maior presente neste período, a amizade de vocês vale ouro! Ao meu amigo e parceiro de Laboratório Renan Colavite que me ajudou e me incentiva todos os dias, ao meu colega Gustavo Brito Bortolan por depositar o material no Orquidário Altaflorestense, a todos meus amigos que me entenderam e me incentivaram neste mestrado, e a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas que enfrentaram a dura missão de ministrar aulas de forma remota, minha eterna gratidão.

BIOGRAFIA

ANA PAULA RODRIGUES DA SILVA, nascida no dia 09 de março de 1997, na cidade de Alta Floresta - MT, filha de Ildo de Silva e Rozineide Rodrigues Ribeiro da Silva. Bacharel e Licenciada em Ciências Biológicas pela Universidade do Estado de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” - UNEMAT, Campus de Alta Floresta - MT no ano de 2019. Em fevereiro de 2020, iniciou o curso de Mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, na linha de pesquisa em Biotecnologia e Recursos Genéticos Vegetais na Universidade do Estado de Mato Grosso - UNEMAT, Alta Floresta, MT.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	19
2. REVISÃO DE LITERATURA	22
2.1. A cultura e cultivo de Orquídeas	22
2.2. Diversidade Ornamental e Mercado da Floricultura	23
2.3. Gênero <i>Catasetum</i> ssp.....	24
2.4. Hibridação	25
2.5. Variação genética.....	25
2.6. Citogenética	26
2.7. Bandeamento Ag- NOR.....	27
3.MATERIALMÉTODOS.....	19
3.1. Caracterização e Material experimental	29
3.2. Citogenética	29
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	31
5. CONCLUSÕES	40
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41

RESUMO

SILVA, Ana Paula Rodrigues da, M.Sc., UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MATO GROSSO “Carlos Alberto Reyes Maldonado”, fevereiro de 2022, **Morfometria cromossômica de *Catasetum saccatum* Lindl. x *Catasetum saccatum* mutante.**

Orientadora: Isane Vera Karsburg

O gênero *Catasetum* é formado pelas espécies que pertencem ao grupo Cymbidieae, muitas destas terrestres. O gênero é o que mais desperta interesses em botânicos, em razão de sua adaptação admirável e ao trimorfismo em suas flores. Estudos relacionados ao número cromossômico para esse gênero apontam grande variação cromossômica, indicando a hibridação como um dos responsáveis pelo aumento da diversidade, fato comumente utilizado para buscar características consideradas de maior aceitação. Diante disso, este trabalho tem como objetivo, realizar a caracterização cromossômica do *Catasetum saccatum* x *Catasetum saccatum* mutante, a partir da análise da morfometria cromossômica para contribuir nos estudos botânicos, evolutivos e de melhoramento genético. Além disso, a variabilidade cariológica dessas plantas gera resultados que podem apresentar possíveis diferenças das espécies a partir dos cromossomos. O estudo foi conduzido no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT) Campus de Alta Floresta - MT, utilizando-se explantes de *Catasetum saccatum* x *Catasetum saccatum* mutante cultivados no Orquidário Altaflorestense da mesma unidade. Para o bloqueio celular, os meristemas radiculares, foram submetidos ao bloqueio em amiprofós-metil (APM) 3 µM durante 15 horas, posteriormente as raízes foram fixadas em metanol:ácido acético (3:1) de solução. Para o preparo das lâminas, os meristemas tratados foram lavados para retirar o excesso de bloqueador, em seguida as raízes foram expostas a digestão enzimática composta por três enzimas em banho maria de 36° C, por 1:30 hrs para posteriormente ser realizado a coloração das lâminas, que foram coradas com solução de Giemsa 5% (Merck KGaA). As observações foram realizadas utilizando Microscópio, e mensuradas através do programa MicroMeasure versão 3.3 (MM). Perante as análises da morfometria cromossômica observamos que a espécie *C. Saccatum* possui um total de 54 cromossomos, e a espécie de *C. saccatum* mutante além das características observadas visivelmente nas flores, possui uma deleção cromossômica no par 2, sendo a perda do satélite em um dos cromossomos, causando o surgimento de 3 estruturas masculinas na planta. Sendo assim a citogenética clássica se faz de extrema necessidade na análise das mutações ocorrentes em espécies.

Palavras-Chave: Orchidaceae; Deleção; Amazônia Meridional.

ABSTRACT

SILVA, Ana Paula Rodrigues da M.Sc., STATE UNIVERSITY OF MATO GROSSO "Carlos Alberto Reyes Maldonado", February de 2022, **Chromosomal morphometry of *Catasetum saccatum* Lindl. x *Catasetum saccatum* mutant.**
Advisor: Isane Vera Karsburg

The genus *Catasetum* is formed by the species that belong to the Cymbidieae group, many of these species are terrestrial, the genus is that most arouses interest in botanists, due to its admirable adaptation and the trimorphism in its flowers. Studies related to the chromosome number for this genus point to a large chromosomal variation, directing hybridization as one of the responsible for the increase in diversity, a fact that can be commonly used to seek characteristics considered to be of greater acceptance. Therefore, this work aims to perform the chromosomal characterization of *Catasetum saccatum* x mutant *Catasetum saccatum* from the analysis of chromosomal morphometry to contribute to botanical, evolutionary and genetic improvement studies. The cariological variability of these plants generates results that may present possible differences between the species based on the chromosomes. The study was carried out at the Laboratory of Cytogenetics and Plant Tissue Culture of the University from State from Mato Grosso "Carlos Alberto Reyes Maldonado" (UNEMAT) Campus of Alta Floresta - MT, using explants of *Catasetum saccatum* x mutant *Catasetum saccatum* cultivated in the Orchidarium Alta Florestense of the same unit. For cell blockage, root meristems were blocked in 3 μ M amiprofos-methyl (APM) for 15 hours, then the roots were fixed in methanol:acetic acid (3:1) solution. To prepare the slides, the treated meristems were washed to remove excess blocker, after which the roots were exposed to enzymatic digestion composed of three enzymes in a water bath at 36°C, for 1:30 hours, for later staining of the slides. slides were stained with 5% Giemsa solution (Merck KGaA). Observations were performed using a Microscope, and measured using the MicroMeasure program version 3.3 (MM). In view of the chromosomal morphometric analysis, we observed that the *C. saccatum* species has a total of 54 chromosomes, and the mutant *C. saccatum* species, in addition to the characteristics visibly observed in the flowers, has a chromosomal deletion in pair 2, with the loss of the satellite in one of the chromosomes, causing the appearance of 3 male structures in the plant. The classical cytogenetics is necessary in the analysis of mutations occurring in species.

Key words: Orchidaceae; Deletion; Southern Amazon.

1. INTRODUÇÃO

As orquídeas são plantas com ampla distribuição geográfica, encontradas com facilidade nos comércios, considerada uma das plantas ornamentais de maior valor e apreciação, notada facilmente na composição de vasos e arranjos florais. Elas, apresentam em sua grande maioria raízes aéreas, característica que facilita a fixação em madeiras, árvores, galhos, substratos, o que é essencial na absorção de nutrientes para o desenvolvimento da planta, classificadas como epífitas, terrestres ou rupícolas, variando de acordo com a espécie (LORENZI E SOUZA, 2001).

Por sua vez, a família Orchidaceae o gênero *Catasetum* ssp., foi descrito por L.C. Richard ex Kunth em 1822, e compreende um conjunto de 127 espécies, dessas 95 são endêmicas, distribuídas em todo território nacional, com destaque para as regiões de floresta Amazônica e Caatinga, pertencente a subfamília Epidendroideae, tribo Cymbidieae, subtribo Catasetinae (PRIDGEON et al, 2009). Assim, Esse gênero se destaca pela capacidade de realizar dimorfismo sexual e o mecanismo de disparo polinário amplamente estudado possuindo polinização cruzada e em alguns raros casos hermafroditismo sendo específico de algumas espécies (MACHNICKI-REIS, 2015). *Catasetum* é formada pelas espécies que pertencem ao grupo *Cymbidieae*, das quais muitas são epífitas e algumas terrestres, o gênero é o que mais desperta interesses em botânicos, por causa de sua adaptação admirável e ao trimorfismo em suas flores (CAOB, 2011; ABRACC, 1998; RAPOSO, 1992).

Atualmente, no Brasil há 105 espécies reconhecidas, sendo a grande maioria presente no bioma amazônico, ganhando destaque entre os gêneros nacionais, com alta valorização no comércio, o que automaticamente, gera intenso cultivo da espécie e certo extrativismo da mesma. As orquídeas do gênero *Catasetum* são plantas ornamentais com grande destaque e encontradas com facilidade em floriculturas, sendo as características peculiares de suas flores o principal motivo da procura (BRESCASIN, 2013; ENGELS, 2016; PEDROSO-DE-MORAES, 2004).

Bem como, *Catasetum saccatum* Lind é uma epífita que cresce sobre galhos em mata ciliares nos ambientes de savana e floresta úmida, possui uma distribuição

endêmica do Brasil, encontrada dos estados de Rondônia, Pará, Amazonas e Mato Grosso, coletada em áreas de transição de Cerrado e Floresta Amazônica (LUZ, 2012). Apresentam preferência por ambientes abertos, com grande iluminação, além disso, uma característica marcante é sua forma e margem fimbriada do labelo, sendo que o florescimento da espécie ocorre entre os meses de março e junho (KOCH E SILVA, 2012).

Ainda nessa vereda, o *Catasetum saccatum* Lind apresenta pseudobulbos fusiformes; folhas plicadas, inflorescência recurvada ou pendente com até 27 flores, pedicelos com 5 cm; flores com segmentos levemente arqueados para frente; sépalas elíptico-lanceoladas, acuminadas, côncavas a sépala dorsal; pétalas semelhantes, um tanto mais acuminadas; labelo ínfero, suborbicular, trilobado, lobo apical reflexos, cobrindo porção saquiforme cônica protuberante para o lado posterior, carnoso, de coloração variável, com diâmetro maior transversal, com calo carnoso distal e dois calos acuminados na borda proximal a coluna, com manchas e pontilhados castanhos, lobos laterais reflexos, fimbriados e lacinados, ou denticulados cuja abertura é reniforme e de margens elevadas, coluna robusta claviforme, ereta, curvada para frente, trigona, ápice rostrado e antenas, as flores grandes e variação de cor (PETINI-BENELLI, 2012; BORGES, 2015).

Então, quando observado os caracteres anatômicos, destaca-se sua cor, podendo ser marrom escuro, verde pintalgado de castanho, sépalas dorsais menores e de coloração mais clara que as pétalas, com coluna claviforme, anteras esbranquiçadas, com um par de políneas amarelas. As inflorescências femininas são verdes, com pétalas e sépalas semicarnosas, labelo súpero, carnoso, e saquiforme com bordas recurvadas (FRIEDMAN, 2015). Silva (2015), nesse sentido, trabalhando características anatômica da espécie de *C. Saccatum* descreve-se uma peculiaridade para essa espécie, citando a presença de pêlos radiculares absorventes com paredes engrossadas e ornamentadas o traço não foi relatado em qualquer outra espécie de Orchidaceae até o momento.

Além disso, estudos relacionados ao número cromossômico para este gênero apontam grande variação cromossômica, indicando a hibridação como um dos responsáveis pelo aumento da diversidade, o qual pode ser comumente utilizado para buscar características consideradas de maior aceitação comercial, ou mais

desenvolvidas para o habitat que estão (MACEDO, 2017). Em estudos citogenéticos na família, uma ausência de informações sobre o número básico de cromossomos, o que dificulta os estudos sobre a evolução cariotípica das espécies, alguns estudos já realizados apontam uma variação entre $n = 27, 28, 54,$ e $81,$ o estudo do número cromossômico faz-se importante para realização de pesquisas sobre melhoramento nessa família, isso é determinante para o entendimento da evolução e da genética, uma vez que constituem o próprio material genético (FÉLIX; GUERRA, 2000; TANAKA; KAMEMOTO, 1984).

Pelo exposto, este trabalho tem como objetivo realizar a caracterização citológica do *Catasetum saccatum* x *Catasetum saccatum* mutante, a partir da análise da morfometria cromossômica com intuito de contribuir para o conhecimento da variabilidade cariológica deste gênero e gerar resultados que possam diagnosticar as possíveis diferenças das espécies a partir dos cromossomos.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. A cultura e cultivo de Orquídeas

A cultura do cultivo de orquídeas no Brasil é um hábito antigo e admirado por diversos públicos. Silva (1986), destaca que as condições climáticas do país favorecem o cultivo de diferentes espécies e que há plantas para cada tipo de clima. Segundo dados da Flora do Brasil (2020), está presente nas todas as regiões territoriais, com dominância na região Amazônica, e encontrada também em países circunvizinhos compreendendo 252 gêneros com 2792 espécies descritas e inúmeros híbridos produzidos.

A priori, dentre as diversas espécies de orquídeas encontradas no Brasil, 27 são endêmicas, com espécies distribuídas por diversos Biomas, com destaque para os gêneros de *Catasetum ssp.*, *Cattleya ssp.*, *Encyclia ssp.* e *Epidendrum ssp.* As orquídeas possuem flores exóticas e de diversas cores, ou junção de cores, sendo comumente encontrada em floriculturas e comércios locais, em que a durabilidade das flores é um dos maiores atrativos nesse ramo comercial, porém, a devastação de habitats naturais coloca algumas de espécies na lista de possível extinção (FARIA, 2015).

A par disso, as Orchidaceae estão entre as famílias mais evoluídas dentro da categoria das plantas presentes no domínio Eukarya, apresentando alta variação no seu número cromossômico, sem certeza de número básico, devido ao ciclo reprodutivo da planta, a grande quantidade de espécies e a complexidade do seu ciclo (FÉLIX, 2001; MONDIN, NETO, 2006).

Nessa verada, o desmatamento e a exploração extrativista acelerada não sustentável é um agravante que coloca em risco as espécies nativas nas florestas, consideradas bio indicadores botânicos de áreas degradadas, pois devido a sua sensibilidade são as primeiras a apresentar sinais de ataques de doenças e pragas oriundos de desequilíbrios ambientais, o mesmo pode ocorrer em estufas, já que o acúmulo de espécies de orquídeas no mesmo ambiente proporciona a proliferação de fitopatógenos (KLEIN, 2008).

Em suma, embora possua características adaptáveis em relação ao seu cultivo e manejo, as orquídeas são suscetíveis aos ataques de fitopatógenos, fato limitante para a produção mundial (DE OLIVEIRA DOMINGUES, 2021). Segundo Santos (2018), existem poucos estudos sobre a diversidade de fungos associados a orquídeas, Tavanti (2016), discorre sobre a importância da identificação dos fitopatógenos e sobre possíveis métodos de controle que auxiliem produtores e profissionais que atuam nesse mercado.

2.2. Diversidade Ornamental e Mercado da Floricultura

É notório o encantamento com a beleza e diversidade das orquídeas, possuem ainda grande valor de mercado, sendo o setor do agronegócio que mais cresceu nos últimos anos, sendo comercializada para diversas finalidades (MOREIRA; BENTO, 2018). Denominada como atividade de produção, venda e distribuição de flores, o mercado ornamental como um todo, gera uma movimentação nacional aproximada de 3,8 bilhões de reais, despertando grande interesse como negócio contemporâneo (JUNQUEIRA,2011).

É certo, que a atividade de floricultura é considerada uma excelente opção para o pequeno produtor, pois oferece oportunidade de otimização de pequenas áreas, através da construção de estufas e cultivos de orquídeas, e pode ser uma atividade da agricultura familiar, sendo uma opção de redução do êxodo rural (TERRA,2013). Pois, o mercado evoluiu exponencialmente e as orquídeas se tornaram alvo deste mercado, despertando o interesse de colecionadores, que em alguns casos podem explorar e coletar espécies de áreas de reserva (ARENAS-DE-SOUZA, 2016).

Ademais, existem diferentes espécies que são coletadas das áreas de reserva, com destaque para o gênero *Catasetum*, contudo o desmatamento da Amazônia intensifica o desaparecimento dos habitats naturais (DA SILVA, 2014). De Paiva Paulino (2021), destaca a produção comercial de mudas como um método de mitigação deste problema ambiental, como também podendo ser uma fonte de renda para produtores.

Segundo Arenas-de-Souza (2017), para uma alta produção comercial ou em escala é indispensável a escolha de bons explantes e o uso de bons substratos que proporcionem condições favoráveis para o desenvolvimento das plantas. Sendo que o sucesso de uma produção está atrelado a um conjunto de fatores como o ambiente que será realizado o cultivo, fatores físicos, químicos e relacionamento ao desenvolvimento da Planta (COOKE, 1999).

2.3. Gênero *Catasetum* ssp.

A formação do termo *Catasetum* é oriundo da junção CATA = para baixo + SETA = cerda ou antena, descrevendo as estruturas filamentosas que crescem a partir da base e que atuam como um gatilho de disparo das políneas, mecanismo essencial para o processo reprodutivo das espécies (HOEHNE, 1933, 1942; SENGHAS, 1991). Segundo Romero (1992), o gênero *Catasetum*, ganha destaque por diversos fatores, dentre eles o dimorfismo sexual e o mecanismo de disparo do polinário, características observadas nitidamente na espécie, com sistema de polinização conhecido e exaustivamente estudado e descrito em trabalhos de Darwin (1877) e de Hoehne (1933).

É inegável que as flores de *Catasetum* podem ser classificadas como incompletas, diclamídeas (heteroclamídeas) e zigomorfas, com flores uni ou bissexuais na mesma inflorescência ou inflorescências distintas (PEDROSO-DEMORAES & ALMEIDA 2005; LACERDA 1993). São plantas perenes, geralmente epífitas ou terrícolas, fusiformes, com pseudobulbos com 1- 6 entrenós, com bainhas. Folhas planas, atenuadas na base e acuminadas ou agudas no ápice. Inflorescência lateral, emergindo da base do pseudobulbo, pendentes ou curvadas em arco. Normalmente encontradas em troncos velhos, com disponibilidade de matéria orgânica e grande exposição de luz (MENDONÇA & LINS, 2000).

Em remate, a taxonômica dos *Catasetum* é oriunda de flores estaminadas, com flores grandes e vistosas, exuberantes por suas cores chamativas, podendo ser hermafroditas ou unissexuadas, com flores masculinas produzindo massas de pólen e, sendo as abelhas os principais polinizadores (SINGER, 2004). Porém, os valores taxonômicos, quando observados historicamente podem levar a distintas

espécies, pela convergência dos caracteres morfológicos em Orchidaceae, agregando maior valor aos estudos de caracteres que não são influenciados pelo meio externo e variações ambientais, valorizando os dados das análises citogenéticas e os dados moleculares, para agregar as classificações taxonômicas e filogenéticas (DRESSLER, 1993).

2.4. Variação genética

A evolução das espécies está relacionada com a variabilidade genética e as ações da seleção natural, assim as alterações nos genótipos, frequências dos alelos, ou no conteúdo genético ao longo do tempo fornecem subsídios e informações referentes a caracterização das espécies, o que é importante para o estudo dos processos evolutivos das espécies, com destaque para a importância dos dados citogenéticos neste processo (GUERRA, 1988; FREITAS, BERED, 2003).

Dessa forma, a variabilidade genética impulsiona o emprego de técnicas que possibilitam a identificação de genótipos superiores, que auxilia na obtenção de resultados positivos no processo de melhoria das plantas (OLIVEIRA, 2004). Os bancos de conservação dos recursos genéticos vegetais são necessários para fornecer material primordial para multiplicação de cada espécie, funções essas atribuídas aos famosos bancos de germoplasma (LIMA,2018).

2.5. Hibridação

Hibridação é a junção de gametas distintos que resulta híbridos heterozigóticos, para um ou mais locos, com intuito de selecionar uma nova linhagem pura de alelos presentes em mais de um genótipo (BESPALHOK,2014). Permite o aparecimento de novas combinações genéticas originárias do cruzamento de dois parentais geneticamente diferentes, que podem ser progênies, populações, clones, espécies (SANTOS,1988).

Ademais, quando se fala das orquídeas observa-se um grande número de hibridação, com mais de 100.000 híbridos gerados por cruzamentos artificiais ou naturais, devido à capacidade dessas espécies cruzarem com espécies similares e

gerarem proles férteis, produzirem novas gerações, se adaptarem e gerarem um novo ciclo, com novas cores e formas, criando novas características para estas espécies (ARNOLD, 2004; MOREIRA E ISAIAS, 2008). É um desafio para os pesquisadores a geração de descendentes férteis, e continuidade de produção de novas gerações de híbridos férteis (OLIVEIRA,2010).

Em síntese, um dos grandes responsáveis pelo aumento da diversidade genética entre as espécies, a hibridação artificial, comum entre os horticultores, que buscam beleza, divergência na morfologia floral, diversidade de fragrâncias, com o objetivo de obterem novas espécies com valores econômicos maiores (NARVÁEZ, 2010; CHINAGLIA, 2011).

2.6. Citogenética

A citogenética clássica desenvolveu-se a partir do início do século passado e acompanhou o aprimoramento de desenvolvimento de técnicas de microscopia, considerada como a parte da genética que engloba os eventos genéticos relacionados ao comportamento cromossômico, com destaque para dois eventos básicos, a mitose e a meiose (MONDIN, 2006). É uma ciência direcionada a conservação dos cromossomos através de técnicas de coloração, onde possibilita a contagem ou análises morfológicas, facilitando o entendimento do processo de divisão celular e modificações em estruturas cromossômicas (SODRÉ, 1999).

Também, é definida ainda como o estudo relacionado ao cromossomo, indiferente da forma que esteja isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, ou aspectos morfológicos, organizacionais, quanto à sua variação e evolução, sendo uma das fontes responsáveis pelo deslumbramento da genética molecular incluindo a biotecnologia e a engenharia genética (SACCHET, 1999). Nesse sentido, os conceitos da citogenética trazem ferramentas utilizadas na distinção de plantas com aspectos morfológicos semelhantes, o que é extremamente útil na caracterização e identificação de espécies e híbridos, trazendo informações que auxiliam diretamente no entendimento das variações genéticas (SILVA, 2014; GUERRA, 2008).

Por sua vez, quando se trata de Orchidaceae as análises citogenéticas são importantes, pois possibilitam a observação das variações entre as espécies,

representando um papel importante nos contextos evolutivos das Orchidaceae (FORNI-MARTINS,2013; DE OLIVEIRA,2014). Mondin e Neto, (2006), destacam que a citogenética vegetal, apresenta ferramentas para o estudo referente as características numéricas, morfologia de cromossomos, tamanho, comportamento meiótico, dentre outros.

2.7. Bandeamento Ag- NOR

O bandeamento Ag-NOR permite compreender que a evolução dos genomas contribui diretamente na relação entre as espécies e na evolução dos gêneros, em parentais híbridos, e ainda contribui para identificar possíveis polimorfismos relacionados a posições de marcadores (MORALES, 2008; SOUSA, 2006).

Além disso, é uma técnica que auxilia a identificação das regiões organizadoras nucleares ativa, que pode ser encontrada nos pares de cromossomos que apresentam os genes rDNA, responsáveis pelos rDNA presentes nos ribossomos e no nucléolo, estas regiões são coradas com nitrato prata, considerados marcadores citogenéticos responsáveis por apresentar padrões que caracterizam espécies distintas (SACCHET,1999). Com o avanço dos estudos da citogenética clássica e o surgimento de novas técnicas, foi possível detalhar melhor os cariótipos, o que pode revelar imperfeições cromossômicas difíceis de serem detectadas sem o emprego das técnicas como bandamento-C, bandamento-NOR, bandamento com fluorocromos CMA, DAPI, entre outras (ZANELA, 2009; OLIVEIRA, 2010; SUMNER, 2003; PEREIRA, 2008).

2.8- Alterações cromossômicas

As alterações cromossômicas são modificações que podem acontecer no material cromossômico, podem ser estruturais ou numéricas, modificando alguma estrutura do cromossomo, ou como o próprio nome já diz, no número de cromossomos da espécie (SANTOS,2022). Segundo Sequeiros (2008), as alterações numéricas acontecem quando há copias do cromossomo, ou o

cromossomo desaparece, as alterações estruturais são devidas a um rompimento ou rearranjo dos cromossomos, envolvendo ganho ou perda de material, que pode ocorrer por duplicação, inserção, inversão, translocação ou deleção.

Bem como, as alterações cromossômicas numéricas podem ser as Poliploidias, que são conjuntos cromossômicos extras, como triplóide (3N), tetraplóide (4N), autopoliploide (várias cópias de um único conjunto de cromossomos), alopóliploide (várias cópias de dois ou mais conjunto de cromossomos) ou aneuploidia (alterações no número básico de cromossomos da espécie sem ser um número exato, a mais frequente é a trissomia do cromossomo 21, popularmente conhecido como causador da Síndrome de Down, porém existem outras trissomias também causadoras de mutações genéticas) (MALUF;RIEGEL,2011; MUSTACHCHI; PERES, 2000).

No caso em tela, as alterações estruturais como já citado acima, ocorre algo no processo de divisão que muda a estrutura desse cromossomo, sendo classificada de acordo com o tipo de modificação ocorrente. Duplicação, quando uma parte do cromossomo se apresenta em dose dupla; inversão, quando a ordem dos genes nos cromossomos está alterada, o que pode ocasionar a produção de proteínas anormais; translocação quando há troca de segmentos cromossômicos entre cromossomos diferentes ou deleção que é caracterizado quando apenas uma parte do cromossomo é perdida (MALU,2011). Porém quando a deleção acontece, os genes não expressam corretamente, o que pode trazer danos ou modificações tanto na expressão fenotípica quanto nas funcionais (MALUF; RIEGEL, 2011).

Por fim, essas alterações podem ocorrer de forma natural ou induzida, de acordo com cada espécie ou com o meio em que se encontram, como em trabalhos com leveduras Xie e cols (2005), constataram que *in vivo* a P-BZ induziu deleção e inserção de nucleotídeos, ao trabalharem com benzeno e seus metabolitos. Estas alterações cromossômicas conhecidas como alterações estáveis tendem a permanecer nas células durante os processos de divisão celular (FERNANDES, 2005).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Caracterização e Material experimental

O estudo foi conduzido no Laboratório de Citogenética da Universidade do Estado de Mato Grosso “Carlos Alberto Reyes Maldonado” (UNEMAT), Cidade Universitária do *Campus* de Alta Floresta – Mato Grosso utilizando-se explantes de *Catsetum saccatum* x *Catsetum saccatum* mutante cultivados no Orquidário.

3.2. Citogenética

Para o bloqueio celular os meristemas radiculares foram submetidos ao bloqueio em amiprofós-metil (APM) 3 µM durante 15 horas, posteriormente as raízes foram fixadas em metanol: ácido acético de solução. O processo de maceração enzimática permite a eliminação da parede celular, realizado pelo pool enzimático, o qual é composto de três enzimas que degradam a pectina, a hemicelulose e celulose, proporcionando degradação da parede celular de forma rápida e mantendo os cromossomos em um ótimo estado de conservação, conforme descrito por Leite (2020).

Em análise última, para o preparo das lâminas, os meristemas tratados foram lavados para retirar o excesso de bloqueador, em seguida adicionado à solução fixadora e mantido em refrigeração, após isto, as raízes foram expostas a digestão enzimática e posteriormente submetidas a banho Maria com temperatura fixa de 36° C, por 1:30 horas, para posteriormente ser realizado a coloração das lâminas. As lâminas foram feitas de acordo com a metodologia descrita por Carvalho e Saraiva (1993), pela técnica de dissociação celular tanto para o *C. saccatum* como para o *C. saccatum* mutante. Assim, as lâminas foram coradas com 5% de solução de Giemsa (Merck KGaA).

3.2.2- Análise do Material

As observações das lâminas foram realizadas em microscópio óptico sob magnitude de 400x, sob a técnica de varredura, sendo feitas 5 lâminas para cada genótipo, contabilizando-se 30 células em metáfase ou prometáfase. As células metáfases foram fotografadas com o uso de objetiva de 100X em um microscópio fotômico binocular (Leica ICC 50), acoplado a um computador e software LAZ EZ V1. 7.0.

Posto isso, as metáfases foram mensuradas pelo programa MicroMeasure versão 3.3 (MM), próprio para análises das medidas cromossômicas.

3.2.3- Morfometria e índice de assimetria cromossômica

A partir das imagens capturadas pelo analisador de imagens, os cromossomos foram mensurados com base em 10 metáfases de cada acesso, obtendo, para a análise morfométrica as seguintes medidas: comprimento total do cromossomo, tamanho do Braço longo e tamanho do braço curto. Para isso, foi utilizado o programa Micromasure for Windows, version 3.3 (Reeves e Tear, 2000). A nomenclatura para a morfologia cromossômica adotada foi a de Levan (1964), revisada por Guerra (1986), efetuada com base na razão entre braços obtida pela fórmula:

$$r = \frac{l}{c}$$

Qual:

r: razão entre braços

l: comprimento do braço longo c: comprimento do braço curto

O índice centromérico foi calculado pela fórmula:

$$ic = (c \cdot 100) / l$$

Em que:

ic: índice centromérico

c: comprimento do braço curto l: comprimento longo

A partir daí, as montagens dos cariótipos foram realizadas, alinhando-se os pares cromossômicos pelos centrômeros em ordem decrescente e numerados,

utilizando o Adobe Photoshop® CC (2015). Foi estimado o índice de assimetria intercromossômica, conforme Zarco (1986). O coeficiente de variação do comprimento cromossômico, o coeficiente de variação do índice centromérico e o índice de assimetria dos cariótipos foram de acordo com Paszko (2006). As expressões empregadas foram:

$$A_2 = \frac{Scl}{Xcl}$$

$$CVcl = A_2 * 100 = \frac{Scl}{Xcl} * 100$$

$$CVci = A_2 * 100 = \frac{Sci}{Xci}$$

$$AI = \frac{CVcl * CVci}{100}$$

Que:

A₂: índice de assimetria intercromossômica

Scl: desvio padrão do comprimento cromossômico

Xcl: média do comprimento cromossômico

CVcl: coeficiente de variação do comprimento cromossômico CVci: coeficiente de variação do índice centromérico

Sci: desvio padrão do índice centromérico

Xci: média do índice centromérico

AI: índice de assimetria

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nas análises realizadas com as espécies em estudos foram encontradas as seguintes observações, a espécie *Catasetum saccatum* possui um cariótipo de 2n=3x=54, (Figura 01 e Figura 02) formando 18 grupos cromossômicos. O primeiro grupo de cromossomos possuem o comprimento total de 6,30 µm o último de 2,82(µm), com uma razão entre os braços variando entre 1,32±1,77(µm), observando também a morfologia cromossômica com 3 metacêntricos e 15 submetacêntricos (3M + 15SM).

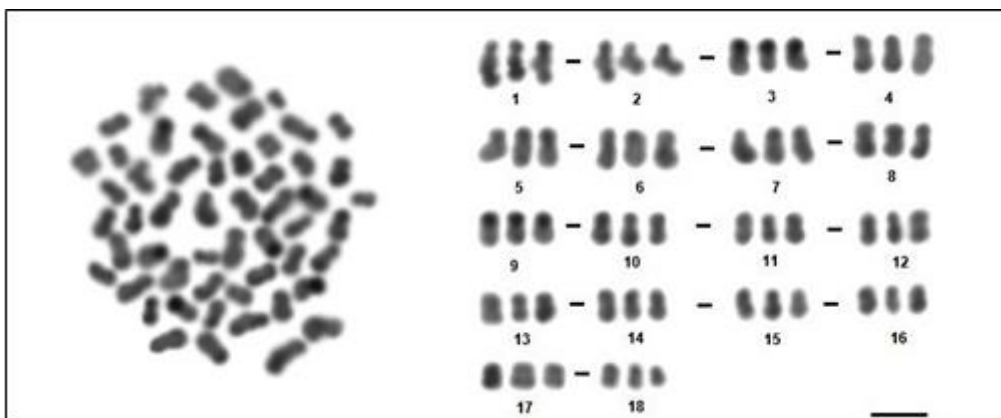


Figura 01 - Metáfase mitótica de *Catasetum saccatum* $2n=3x=54$ cromossomos pré-tratados com $3\mu\text{M}$ de APM por 18 horas e corados com Giemsa 5% por 3 minutos; Grupo Cromossômico 1 e 2 com presença de Satélite. Barra $10\ \mu\text{m}$.

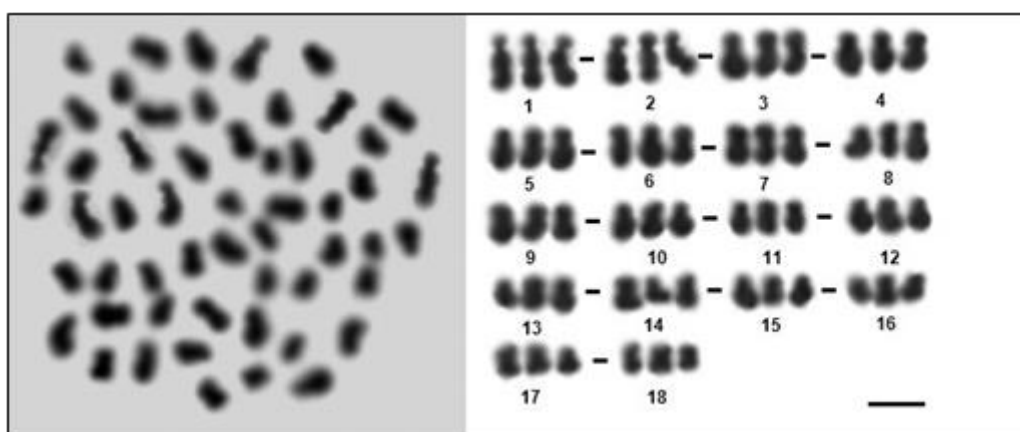


Figura 02- Metáfase mitótica de *Catasetum saccatum*, pré-tratados com $3\mu\text{M}$ de APM por 18 horas a 4°C e submetidos ao bandeamento AgNO_3 por 18 horas a 34°C . Cromossômos com banda NOR positiva na porção telomérica do braço curto, nos grupos cromossômicos (3 e 9). Barra= $10\ \mu\text{m}$.

Na comparação com a espécie mutante podemos observar uma diferenciação visível nas flores (Figura 05), e após a análise do cariótipo observa-se uma deleção presente no Par 2, conforme observado na figura a seguir, sendo primeiramente o Cariótipo de *Catasetum Saccatum* e posterior o *Catasetum Saccatum Mutante*. Silva (2014), trabalhando com a morfometria floral, comparação anatômica e citogenética de 3 espécies de *Catasetum*, aponta que o comprimento do polinário (CPo), largura do polinário (LP) e o número de fímbrias (NF) foram estatisticamente diferentes entre os três tipos de material analisados. Segundo os mesmos autores, o comprimento das fímbrias em *Catasetum* sp. foi estatisticamente diferente das demais, devido a presença de três labelos fimbriados, observando

também a ausência do estipe e viscido, relatando até então que nenhum caso de mutação para este gênero tinha sido descrito na literatura.

Os dados de Borges (2015), corroboram com o presente trabalho, que *Catasetum saccatum* apresenta a classificação cromossômica triplóide, com $2n=3x=54$ cromossomos, com formação de 18 grupos cromossômicos, os quais também apresentou com o bandeamento $AgNO_3$ pela impregnação da prata em proteínas relacionadas à transcrição dos genes rDNA, a NOR ativa na porção telomérica do braço curto dos grupos cromossômicos (Tabela 1).

Tabela 01 - Apresentação da morfologia dos cromossomos metafásicos de *Catasetum saccatum* $2n=3x=54$ cromossomos

Cromossomo	Comprimento Total (μm)	Braço (μm)		IC	R	Morfologia Cromossômica
		Curto (c)	Longo (l)			
1	6,30	2,71	3,59	43,05	1,32	M
2	5,72	2,50	3,22	43,70	1,29	M
3	5,45	2,21	3,24	40,59	1,78	SM
4	4,09	1,80	3,29	35,48	1,86	SM
5	4,91	1,68	3,23	38,22	1,92	SM
6	4,75	1,88	2,86	39,64	1,54	SM
7	4,60	1,75	2,84	38,04	1,62	SM
8	4,45	1,89	2,57	42,27	1,38	M
9	4,31	1,65	2,67	38,12	1,65	SM
10	4,05	1,27	2,77	31,48	2,25	SM
11	3,94	1,42	2,52	35,97	1,79	SM
12	3,83	1,56	2,26	40,76	1,51	SM
13	3,78	1,47	2,32	38,73	1,58	SM
14	3,68	1,36	2,32	36,87	1,79	SM
15	3,55	1,32	2,23	37,22	1,70	SM
16	3,40	1,32	2,08	38,82	1,61	SM
17	3,26	1,17	2,08	36,04	1,81	SM
18	2,82	1,02	1,81	36,17	1,77	SM

IC= Índice centromérico, R= razão entre braços, M= metacêntrico, SM= submetacêntrico.

O gênero *Catasetum* possui um padrão cromossômico, considerado de curtos a médios, pois os padrões de tamanho médio acompanham medidas semelhantes (DA SILVA, 2014). Vieira (2013), observou um padrão de medida de

espécies do gênero *Catasetum* apontando um valor cromossômico de 3.29 ± 2.00 μm para *Catasetum schimidtianum*; $2,05 \pm 0.98$ μm para *Catasetum x altafllorestense*; 4.47 ± 2.04 μm para *Catasetum juruenense*, $3,39 \pm 1.76$ μm *Catasetum fimbriatum*. Gomes (2011), verificou uma variação menor para espécies de *Catasetum longifolium*, com valores de 1.28 ± 0.18 μm . Forni-Martins (2013), analisaram doze espécies de *Catasetum*, em que nove apresentaram $2n=54$, e um $2n=56$.

Nesse passo, a espécie *Catasetum saccatum* mutante, possui um cariótipo de $2n=3x=54$, e no satélite 2, no terceiro Complemento Cromossômico observou-se a perda do satélite, sendo esta deleção a responsável pela estrutura triplicada da parte reprodutiva (Figura 03 e Figura 04). Da Silva (2014), trabalhando características morfológicas e dados morfométricos de espécies de *Catasetum sp.* relata pela primeira vez as principais características da orquídea dessa espécie destacando a beleza rara das flores, com três labelos, e afirmava que até aquele momento não havia relato de mutações para gênero *Catasetum na* literatura.

A par disso, Borges (2015), destaca em seus resultados que três espécies de *Catasetum* apontaram a presença de DNAs satélites, dentre eles o *Catasetum saccatum*, que pode estar relacionado a história evolutiva das espécies, fato confirmado por Plohl (2010), em seus estudos. E destaca que o gênero se encontra em processo evolutivo, o que poderia acarretar variações no número cromossômico básico, translocação, constrição secundária e presença de poliploidia.



Figura 03 - Metáfase mitótica de *Catasetum saccatum* mutante $2n=3x=54$ cromossomos pré-tratados com $3\mu\text{M}$ de APM por 18 horas e corados com Giemsa 5% por 3 minutos; Grupo Cromossômico 1 e 2

com presença de Satélite. Sendo que no satélite 2 no terceiro complemento cromossômico ocorreu perda do satélite. Barra = 10 µm.

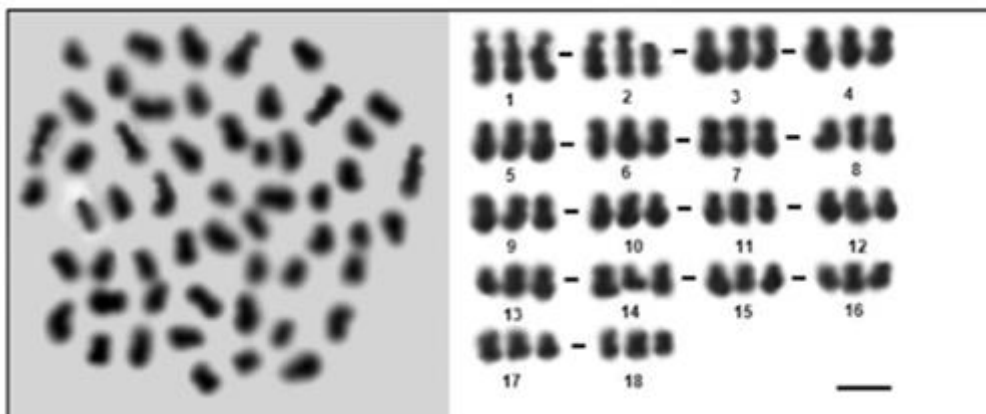


Figura 04 - Metáfase mitótica de *Catasetum saccatum* mutante, pré-tratados com 3µM de APM por 18 horas a 4°C e submetidos ao bandeamento AgNO₃ por 18 horas a 34°C. Cromossômos com banda NOR positiva na porção telomérica do braço curto, nos grupos cromossômicos (3 e 9). Barra= 10 µm.

Os dados morfológicos dos cromossomos em que o Cromossomos 2 apresenta um comprimento total de 5,47 (µm), sendo menor que o cromossomo apresentado na Tabela 01, e o braço curto apresenta 2,25 (µm), também apresentando dados menores, indicando assim a deleção do satélite de um dos cromossomos (Tabela 2).

Tabela 02 - Apresentação da morfologia dos cromossomos metafásicos de *Catasetum saccatum* 2n=3x=54 cromossomos

Cromossomo	Comprimento Total (µm)	Braço (µm)		IC	R	Morfologia Cromossômica
		Curto (c)	Longo (l)			
1	6,30	2,71	3,59	43,05	1,32	M
2	5,47	2,25	3,22	41,13	1,43	M
3	5,45	2,21	3,24	40,59	1,78	SM
4	4,09	1,80	3,29	35,48	1,86	SM
5	4,91	1,68	3,23	38,22	1,92	SM
6	4,75	1,88	2,86	39,64	1,54	SM
7	4,60	1,75	2,84	38,04	1,62	SM
8	4,45	1,89	2,57	42,27	1,38	M
9	4,31	1,65	2,67	38,12	1,65	SM
10	4,05	1,27	2,77	31,48	2,25	SM
11	3,94	1,42	2,52	35,97	1,79	SM
12	3,83	1,56	2,26	40,76	1,51	SM

13	3,78	1,47	2,32	38,73	1,58	SM
14	3,68	1,36	2,32	36,87	1,79	SM
15	3,55	1,32	2,23	37,22	1,70	SM
16	3,40	1,32	2,08	38,82	1,61	SM
17	3,26	1,17	2,08	36,04	1,81	SM
18	2,82	1,02	1,81	36,17	1,77	SM

IC= Índice centromérico, R= razão entre braços, M= metacêntrico, SM= submetacêntrico.

A morfologia cromossômica e os índices de assimetria, podem destacar a importância da metodologia empregada, Fernandes (2019), descreve em seus trabalhos o uso da morfometria e dos índices de assimetria cromossômica, em que foram determinados os índices de assimetria A2 (índice de assimetria intracromossômica) e A1 (índice de assimetria cariotípica) para espécies do gênero *Costus L.*, em que o resultado destas análises demonstram as variações ocorrendo entre as espécies, admitindo um comprimento médio entre os cromossomos e também que um par de uma das espécies estudadas apresentou uma deleção, diferenciando morfologicamente os cromossomos homólogos (metacêntrico e submetacêntrico). Da Silva (2014), trabalhando com diferentes espécies de *Catsetum ssp.* descreve que o índice de assimetria apresentou pouca variação.

Por sua vez, o método empregado no experimento garantiu o sucesso na visualização dos cromossomos e na disposição dos resultados encontrados, metodologia semelhante foi utilizada por Melo (2017), que usou 3 μ M APM por 16 e 17 horas, e a maceração com pool enzimático por 3 horas, para o gênero *Heliconia*. As técnicas de maceração enzimática, dissociação celular e secagem ao ar possibilitam a obtenção de lâminas com cromossomos prometáfísicos e metafísicos espalhados facilitando a observação e o estudo das espécies (CARVALHO,1995). Segundo Fernandes (2019), o corante Giemsa garantiu metáfases com cromossomos uniformemente corados, destacando a eficiência da metodologia e do corante utilizado no trabalho para diferentes espécies em estudo. Técnicas semelhantes de maceração enzimática, dissociação celular, e fixação do material são importantes no acúmulo de células em metáfases o que propicia cromossomos adequados para o sucesso das análises citogenéticas, como já destacava Andras (2000), e Carvalho e Saraiva (1993).

Nessa esteira, Singh (1993), já destacava a importância dos agentes bloqueadores, sendo essenciais para os estudos com cromossomos, pois impedem a formação do fuso, e acumulam o número de metáfases, o uso de agentes inibidores ou antimitóticos como o herbicida aminopropos-metil (APM), 8, hidroxiqueloneína, orizalina e trifluralina bloqueiam os ciclos celulares, a utilização do ATP no bloqueio das células meristemáticas alongam os cromossomos e proporcionam uma compactação adequada para a análise citogenética, esta facilidade é considerada de grande valia, principalmente para os estudos de espécies com cromossomos menores pois auxilia diretamente na classificação dos cromossomos, podendo observar aspectos de constrição primária e secundária (SUMNER, 1990; GUERRA, 1988).

Segundo Ghosh e Pawelets (1993), os cromossomos considerados de boa qualidade para observação e estudo são os caracterizados por estarem distendidos, morfologicamente preservados e retilíneos, a aplicação de soluções fixadoras no processo metodológico como metanol: ácido acético, facilitam este processo, pois tais soluções evitam ataques de endonucleases o que permite maiores detalhes na caracterização dos cariótipos das espécies.

A par disso, as alterações cromossômicas que ocorrem nas espécies podem ser em meio natural como observado nesse estudo, como também em meio artificial como provocados por alguns elementos químicos, essas alterações podem ser de diversas formas (numéricas ou estruturais), sendo a deleção considerada uma das mais severas por perder parte dos cromossomos, perdendo genes que não podem ser recuperados, isto pode resultar na perda de alguma espécie, ou surgimento de novas espécies (Tabela 3), em que compara-se os números cromossômicos de *C. saccatum*, *C. mutante Catasetum ssp.* Estudado por Da Silva (2014), foi considerado um *Catasetum* mutante por apresentar aspectos distintos da espécie de *Catasetum Saccatum* normal.

Tabela 03- Comparação de número Cromossomo encontrados nas espécies de *Catasetum saccatum*, *Catasetum hibrido* e *Catasetum ssp.*

Espécie	Nº Cromossômico	Autor
<i>Catasetum saccatum</i>	2n=3x=54	

<i>Catasetum mutante</i>	$2n=3x=54$	
<i>Catasetum hibrido</i> (<i>Catasetum saccatum</i> Lind x <i>Catasetum pileatum amarelo</i>)	$2n = 54$	BORGES,2014

Mediante a observação da variabilidade entre as espécies de *Catasetum*, foi possível destacar uma característica da família Orchidaceae, a qual é percebida pelo seu grande número cromossômico, que envolve eventos de poliploidia e disploida, sendo a família com maior variação entre os vegetais quando se trata de número cromossômico, sendo o número cromossômico importante para a cooperação de informações importantes sobre as afinidades de uma espécie com outras e juntamente com as demais características citológicas, auxiliando no entendimento de variações genéticas (DA SILVA, 2014; FELIX e GUERRA,2000; CONCEIÇÃO, 2006).

E após acompanhamento do desenvolvimento vegetativo do *Catasetum saccatum* mutante, observou-se em um parental que a flor não desenvolveu sépala dorsal, nem pétalas laterais, tendo dois Labelos na mesma figura observa-se que os botões florais encontram-se invertidos e com uma sépala lateral com uma deformidade, e a haste floral é oriundo da prole com mutação analisada na citogenética, discorrida nesse trabalho (Figura 05).

Entrementes, Petini-Benelli (2016), descreveu em seus trabalhos uma cartilha com imagens detalhando o gênero *Catasetum*, e dentre eles aponta a imagem do *Catasetum albovirens*, *Catasetum x altaflorestense*, *Catasetum atratum*, *Catasetum x canaense*, *Catasetum discolor*, *Catasetum fimbriatum*, *Catasetum fuchsii*, *Catasetum juruenense*, *Catasetum kraenzlinianum*, *Catasetum macrocarpum*, *Catasetum mato-grossense*, *Catasetum osculatum*, *Catasetum Saccatum*.



Figura 05- Prancha de Flores do *Catasetum Saccatum* e *Catasetum Saccatum* Mutante. A- Flores de *Catasetum Saccatum*, B- Haste Floral de *Catasetum Saccatum* Mutante, apresentando deformações. C- Flor de *Catasetum Saccatum* Mutante com mutação visível. D- Estrutura de *Catasetum Saccatum* Mutante apresentando modificações morfológicas em sua estrutura. Fotos: Ana Paula Rodrigues da Silva, Orquidário Altaflorestense da Unemat, Alta Floresta-MT; Gustavo Brito Bertolan, Nova Bandeirantes-MT. (B,C,D).

5. CONCLUSÕES

Dessa maneira, perante as análises da morfometria cromossômica observou-se que a espécie *Catasetum Saccatum* possui um total de 54 cromossomos, e a espécie de *Catasetum* mutante, além das características observadas visivelmente nas flores, possui uma deleção cromossômica, sendo a perda do satélite em um dos cromossomos, o que causou o surgimento de 3 estruturas masculinas.

Consequentemente, as análises citogenéticas fazem-se de extrema eficiência na análise das mutações ocorrentes em espécies de orquídeas.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRACC, *Jornal da ABRACC*: Associação de Brasileira de Catasetíneas. 1998.

ANDRAS, S. C.; HARTMAN, T. P. V.; ALEXANDER, J.; MCBRIDE, R., MARSHALL, J. A.; POWER, J. B.; COCKING, E. C; DAVEY, M. R. Combined PI-DAPI staining (CPD) reveals NOR asymmetric and facilitates karyotyping of plant chromosomes. *Chromosome Research* 8: 387–391, 2000.

ARNOLD, M.L. Natural hybridization and the evolution of domesticated pest and disease organisms. *Molecular Ecology*, v.13, n. 5, p. 997-1007, 2004.

ARENAS-DE-SOUZA, M. D.; KARSBURG, I. V. Substratos alternativos na aclimação de *Catasetum schmidtianum* Miranda e Lacerda (Orchidaceae) micropropagadas. *Revista Biociências*, v. 22, n. 2, p. 36-41, 2016.

ARENAS-DE-SOUZA, M.D.; KARSBURG, I. V. Desenvolvimento vegetativo de espécies micropropagadas e híbridos naturais do gênero *Catasetum* LC Richard ex Kunth (Orchidaceae). *Revista Biociências*, v. 23, n. 2, p. 26-32, 2017.

BESPALHOK, J. C. F.; GUERRA, E. P.; OLIVEIRA, R. Melhoramento de plantas autógamas por hibridação. *Melhoramento de Plantas*. 2007c. p, p. 11-17, 2014.

BORGES, N. M. et al. Determinação do Número Cromossômico do Híbrido *Catasetum Saccatum* Lind X *catasetum Pileatum* Amarelo. *Revista EVS-Revista de Ciências Ambientais e Saúde*, v. 41, p. 113-119, 2015.

BORGES, N. M. Morfometria cromossômica e bandeamento Ag-NOR de seis espécies do gênero *Catasetum* Rich. ex Kunt. 2015.

BRESCANSIN, R. L. ; SOUZA-LEAL, T.; DE MORAES, C. P. Influência de diferentes substratos e concentrações de acetileno na floração de *Catasetum fimbriatum* (C. Morren) Lindl. & Paxton (*Catasetinae*, *Orchidaceae*). *Revista Brasileira de Biociências*, v. 11, n. 2, 2013.

CAOB –Novas Categorias de Julgamento e Listas de Sinônimos das Espécies do Brasil.2011.

CARVALHO, C. R.; SARAIVA, L. S. A new heterochromatin banding pattern revealed by modified HKG banding technique for maize chromosomes. *Heredity*. 70: 515–519, 1993.

CARVALHO,C.R. Desenvolvimento de tecnologia citogenética em milho (*Zea mays*

L.). Viçosa-MG. UFV,1995. 127f. Tese (Doutorado em Genética e melhoramento) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

COOKE, R. B. Estufas e telados. **Revista Oficial do Orquidário**, Rio de Janeiro, v. 13, n. 3-4, p. 94-101, 1999.

CONCEIÇÃO, L. P., OLIVEIRA, A. L. P. C., BARBOSA, L. V. Characterization of the species *Epidendrum cinnabarinum* Salzm. (Epidendroideae: Orchidaceae) occurring in dunas do Abaeté-Salvador, BA Brazil. **Cytologia** 71: 125-129, 2006.

CHINAGLIA, M.; PINHEIRO, F.; BARROS, F.; FORNI-MARTINS, E.; MORAES, A.P. **Abordagens citogenéticas na avaliação de processos de especiação de Epidendrum L. (Orchidaceae)**. In: Reunião Brasileira de Citogenética, São Paulo, v. 2, p. 35, 2011.

DA SILVA, A. B. Morfometria Floral, Comparação anatômica e Citogenética de *Catasetum C. Rich ex Kunt.* Universidade Estadual do Estado de Mato Grosso, Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas). 2014.

DE ALMEIDA MACEDO, W. Número cromossômico do cruzamento de *Catasetum (Dragon's x pileatum)*(Orchidaceae). **Seminários: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 38, n. 1supl, p. 211. 2017.

DE OLIVEIRA, V.M.; BARROS, F.; FORNI-MARTINS, E.R. Chromosome Numbers and Karyotypes of *Catasetum* species (Orchidaceae). **Plant Biosystems-Na Internacional Journal Dealing with all Aspectd of Plant Biology**, v. 148, n. 3, p. 499-507, 2014.

DE OLIVEIRA DOMINGUES, S. C. et al. Ocorrências de fitopatógenos associadas em orquídeas na região da Amazônia Meridional. **Diversitas Journal**, v. 6, n. 1, p. 163-171, 2021.

DE PAIVA PAULINO, M. A. P. Desenvolvimento in vitro de *Cyrtopodium Cachimboense* I. C. Menezes em diferentes níveis de sacarose. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 18844-18860, 2021.

DRESSLER RL. Phylogeny and classification of the orchid family. Portland, USA: Discorides Press. 1993.

ENGELS, M.E. ROCHA, L.C.F. PETINI-BENELLI,A. A New Species of *Catasetum* (Orquidaceae, Epidendroideae, Cymbidieae) From the southern Brazilian Amazon. **Lankesteriana**. 2016.

FARIA, R. T.; COLOMBO, R. C. - **Oncidium: a orquídea em expansão no cenário florícola**. Horticultura Brasileira, v. 33, n. 4, p. 533-533, 2015.

FÉLIX, L.P. **Citotaxonomia de orquídeas do Brasil, com ênfase no gênero *Habenaria Willd.*** Recife, 2001, 214p. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2001.

FELIX, L. P.; GUERRA, M. S. O cariótipo de *Nhotoscordum pulchellum* (Alliaceae) com ênfase na heterocromatina e nos sítios de rDNA. **Boletín de la Sociedad Argentina de Botanica**. 35: 283-289, 2000.

FÉLIX, L. P.; GUERRA, M. Cytogenetics and cytotaxonomy of some Brazilian species of Cymbidioid orchids. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 4, p. 957-978, 2000

FORNI-MARTINS, E.R.; MORAES, A.P.; COSTA, J.Y. e MAEKAWA, V.O. Evolução Cariotípica em Orchidaceae. In: OLIVEIRA, G.X.O.; BANDEL, G.; VEASEY, E.A.; PINHEIRO, J.B.; KOEHLER, S.; AZEVEDO, R.A. (Org.). **Anais 30**. Encontro sobre temas de genética e melhoramento- Evolução, sistemática e biologia de populações de orquídeas. 1ed. Piracicaba: ESALQ/LGN, v. 1, p. 25-32. 2013.

FERNANDES, T. S. **Emprego das aberrações cromossômicas instáveis e micronúcleo no biomonitoramento individual: estudo comparativo**. 2005. 69 f. Tese (mestrado em Tecnologia Energética e Nuclear) Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

FLORA DO BRASIL - **Orchidaceae in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB179>>. Acesso em 15/10/2021.

FLORA DO BRASIL-**Catasetum in Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB11312>>. Acesso em: 15/10/2021.

FRIEDMAN, W. **Associação Brasileira de cultivares de Catacetineas**. Disponível em: <<http://www.orkideas.com.br/especies/default.html>>. Acesso em: 31/01/2022. 2015.

GOMES, C. M. et al. Morfometria Cromossomica de *Catasetum longifolium* C. Rich. ex Kunth. In: **4º Congresso de iniciação científica, Cáceres. Anais, Universidade do Estado de Mato Grosso, CD-ROM**. 2011.

GONÇALVES, R. O. et al. **Estudo de alterações cromossômicas estruturais e numéricas em trabalhadores com intoxicação crônica por benzeno**. 2008. Tese de Doutorado.

GUERRA, M. – **Introdução a citogenética Geral**. São Paulo, Editora Guanabara. p. 135, 1988.

GHOSH, S.; PAWELETZ, N. **Mitosis: Dissociability of its events**. International Review of cytology. V.144. p.217-257, 1993.

JUNQUEIRA, A. H. ; DA SILVA PEETZ, M. Panorama socioeconômico da floricultura no Brasil. **Ornamental Horticulture**, v. 17, n. 2, p. 101-109, 2011.

KOCH, A.K.; SILVA, C.A. **Orquídeas Nativas de Mato Grosso**. Cuiabá: Carlini & Caniato. Editorial, 2012.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas Ornamentais no Brasil**. 3. ed. Nova Odessa: Plantarum, 2001.

LIMA, L. F. et al. Manejo de recursos genéticos vegetais. **Anais da Academia Pernambucana de Ciência Agrônômica**, v. 15, n. 1, p. 109-126, 2018.

FERNANDES, L. et al. Cariótipo e conteúdo de DNA nuclear de quatro espécies do gênero *Costus* L.: uma contribuição citotaxonômica e evolutiva. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 9, p. 72196-72217, 2020.

LUZ et al. Orquídeas de Roraima. 1º edição - Brasília, DF: **Embrapa**, p.181. 2012.

MACHNICKI-REIS, M. et al. O gênero *Catasetum* Rich. ex Kunth (Orchidaceae, Catasetinae) no Estado do Paraná, Brasil. **Hoehnea**, v. 42, n. 1, p. 185-194, 2015.

MALUK, S.W. REIGEL, M. Citogenética Humana. Colaboradores, Rio de Janeiro: Artmed, P.334. 2011.

MALUF, S.W; RIEGEL, M; Rio de Janeiro: Artmed, 2011, 334p.

MELLO, V. S. **Citogética índice meiótico e viabilidade polínica em *Heliconia* ssp.** Alta Floresta: Universidade do Estado de Mato Grosso, 2017. p. 99. (Dissertação – Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

MONDIN, M.; NETO, A. D. Citogenética vegetal enfatizando a família Orchidaceae. **Orchidstudium**, v. 4, p. 24-54, 2006.

MOREIRA, M. L.; BENTO, C. S. Levantamento da produção de flores e plantas ornamentais no caparaó capixaba. **Anais da 30ª Semana Acadêmica do Curso de Agronomia do CCAE/UFES-SEAGRO**, 2018.

MOREIRA, A.S.P.; ISAIAS, R.M.S. Comparative anatomy of the absorption roots of terrestrial and epiphytic orchids. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 51, n. 1, p. 83-93, 2008.

MORALES, A.G. **Evolução cromossômica de espécies de Crotalaria (L.) da seção Hedriocarpaceae, subseção Macrostachyae (Leguminosae- Papilionoideae)**. Piracicaba, 2008. 70 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo, 2008.

MUATACHCHI,Z. PERES,S. **Genética Baseada em Evidências: síndromes e heranças**. São Paulo: CID Editora,p.1299. 2000.

OLIVEIRA, I.G. **Citogenética de espécies brasileiras da subtribo Pleurothallidinae (Orchidaceae: epidendroideae)**. Areia, 2010. 58 p. Dissertação (Mestrado em agronomia) - Universidade Federal da Paraíba/ CCA, Paraíba, 2010.

OLIVEIRA, A. C. et al. Criação de variabilidade genética no caráter estatura de planta em aveia: hibridação artificial x mutação induzida. **Current Agricultural Science and Technology**, v. 10, n. 3, 2004.

OLIVEIRA, I.G. **Citogenética de espécies brasileiras da subtribo Pleurothallidinae (Orchidaceae: epidendroideae)**. Areia, 2010. 58 p. Disertação (Mestrado em agronomia) - Universidade Federal da Paraíba/ CCA, Paraíba, 2010.

PEDROSO-DE-MORAES, C. Análise morfoanatômica do ovário de *Catasetum fimbriatum* Lindl. **Boletim da Coordenadoria das Associações Orquídeas do Brasil (CAOB)**, 3: 75-79. 2004.

PETINI-BENELLI, A. Orquídeas de Mato Grosso: genus *Catasetum* L.C. Rich ex Kunth. 1º ed. Rio de Janeiro: PoD, 2012, p. 130.

PEREIRA, N.P.; VENTURA, K.; JÚNIOR, M.C.S.; SILVA, D.M.; YONENAGAYASSUDA,Y.; PELLEGRINO, K.C.M. Karyotype characterization and nucleolar organizer regions of marsupial species (Didelphidae) from áreas of Cerrado and 54 Atlantic Forest in Brazil. **Genetics na Molecular Biology**, v. 31, n. 4, p. 887-892,2008.

PLOHL, M. Those mysterious sequences of satellite DNAs. **Periodicum Biologorum**, v. 112, n. 4, p. 403-410, 2010.

PRIDGEON, A.M., CRIBB, P.J., CHASE, M.W. & RASMUSSEN, F.N.-**Genera orchidacearum** - Epidendroideae. Oxford University Press Inc., Oxford.2009.

RAPOSO, J. G. **A Etimologia a Serviço dos Orquídeófilos-** Vol. I. Editora Ave-Maria- São Paulo. 1992.

SACCHET, A. M. O. F. Citogenética vegetal: instrumento de pesquisa e ponte como ensino médio e fundamental. In: SACCHET, A. M. O. F. (Org.). **Genética para que te quero?** Porto Alegre: Ed. UFRGS, 1999. p. 87-95.

SANTOS, C. D.; SILVA, R. O.; CANDEIAS, E. L.; VITÓRIA, N. S.; LUZ, E. D. M. BEZERRA, J. L. Diversidade de fungos em espécies nativas e cultivadas de orquídeas no sul da Bahia. **Agrotropica**, Ilhéus, v. 30, n.2, p. 101 –108, 2018.

SANTOS, Vanessa Sardinha dos. "Alterações cromossômicas"; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/biologia/aberracoes-cromossomicas.htm>. Acesso em 19 de Janeiro de 2022.

SILVA, W.- **Cultivo de orquídeas no Brasil**. NBL Editora, 1986.

SILVA, A.B.; KARSBURG, I.V.; DAHMER, N. Número Cromossômico de *Catasetum ciliatum* Barb. Rodr. **Estudos**, Goiânia, v. 41, especial, p. 7-12, 2014.

SILVA, I. V. et al. Uso de marcadores anatômicos de raízes para identificação de espécies em *Catasetum* (Orchidaceae) na região do Portal da Amazônia, MT, Brasil. **Acta Amazônica** , v. 45, p. 21-28, 2015.

SINGER, R.B.; KOEHLER, S. Pollinarium Morphology and Floral Rewards in Brazilian Maxillariinae (Orchidaceae). *Annals of Botany*, v. 93, p. 39-51, 2004.

SINGH, R.J. **Plant Cytogenetics**. Urbana, Illinois University of Illinois. p. 391, 1993.

SOUSA, S.M. **Bandeamento cromossômico em *Lippia alba***. Lavras, 2006. 65 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, Minas Gerais, 2006.

SUMNER, A.T. **The nucleolus and the nucleolus organizer regions (NORs)**. In: SUMNER, A.T (ed). *Chromosomes: Organization and function*. Blackwell Science Ltd, UK, 2003.

SUMNER, A.T. **Chromosomes banding**. London: Unwin Hyman. p.434, 1990.

TANAKA, R.; KAMEMOTO, H. Chromosomes in the orchids: counting and numbers. In: ARDITTI, J. *Orchid Biology: Reviews and Perspectives, III*. Ithaca, New York: **Cor-nell University Press**, p. 323-410, 1984.

TAVANTI, T. R. SOUZA, W. B.; MENDONÇA, R. F.; MORAES, W. B. Identificação de doenças de plantas em amostras recebidas na clínica fitopatológica do CCAE–UFES. **Revista Cultura & Extensão Unemat**. Alta Floresta, v. 1, n. 1, p. 91-101, 2016.

TERRA, S. B. et al. Floricultura: a produção de flores como uma nova alternativa de emprego e renda para a comunidade de Bagé-RS. **Revista Conexão UEPG**, v. 9, n. 2, p. 342-353, 2013.

VIEIRA, A. Citogenética e quantificação de DNA de cinco espécies e um híbrido do

gênero *Catasetum* (Orchidaceae). 2013.

ZANELA, L. **Caracterização cariotípica de quatro espécies Brasileiras de *Alstroemeria* (Alstroemericeae) com as técnicas de FISH, CMA, DAPI e AgNOR.** Campinas, 2009, 96p. Dissertação (Agricultura Tropical e Subtropical) - Instituto Agrônomo, Campina, SP, 2009.