




**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA – ÁREA DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS**

**Caracterização Citogenética em Espécies do Gênero
Zephyranthes Herb. (Amaryllidaceae)**

WINSTON JOSÉ PESSOA FELIX

Recife - PE
Junho de 2009



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE AGRONOMIA – ÁREA DE FITOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO MELHORAMENTO GENÉTICO DE PLANTAS

Caracterização Citogenética em Espécies do Gênero
Zephyranthes Herb. (Amaryllidaceae)

Winston José Pessoa Felix

Dissertação a ser apresentada ao Programa de Pós Graduação em Agronomia como um dos pré-requisitos para obtenção do Título Mestre em Melhoramento Genético de Planta

Orientador: Dr. Reginaldo Carvalho (UFRPE)
Co-orientadores: Dr. Péricles A. Melo Filho (UFRPE)
Dr. Leonardo Pessoa Felix (UFPB)
Dr. Nataniel Franklin de Melo (EMBRAPA/CPATSA)

Recife - PE
Junho de 2009



Caracterização Citogenética em Espécies do Gênero
Zephyranthes Herb. (Amaryllidaceae)

Winston José Pessoa Felix

Dissertação a ser apresentada à banca examinadora

Orientador:

Prof. Dr. Reginaldo Carvalho
(UFRPE)

Dra. Ana Christina Brasileiro-Vidal
(UFPE)

Dra. Vivian Loges
(UFRPE)

Dra. Ana Maria Benko Iseppon
(UFPE)

Recife/PE – Junho de 2009

À memória de Pedro Felix Neto, Teresinha Pessoa Felix, meus pais que deram tudo de si e foram tudo para mim.

À Matheus e Pedro, meus dois filhos, que são a perpetuação da minha vida, para quem espero deixar o que tenho de melhor.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

O agradecimento é uma boa hora no qual devemos lembrarmos de tudo e de todos, de maneira sincera e consciente. Deverá ser feito a todos, que por menos que tenham percebido, fizeram parte de uma vitória mais do que merecida.

Ao meu orientador Reginaldo de Carvalho que, mesmo a distancia conseguiu dedicar um tempo necessário para valiosas contribuições;

Aos Co-orientadores P. A. de Melo Filho, L. P. Felix e N. F. de Melo que, acima de tudo foram verdadeiros orientadores e amigos;

Aos laboratórios (GENOMA), Isabel, Clausio, Jaqueline, Lucilha e Kalina; (BIOTECNOLOGIA EMBRAPA-CPATSA), Socorro, Kiria e Angela; (CITOGENÉTICA VEGETAL UFPB-CCA), Filipe, Lania, Marcela, Julianas, Socorro, Marlene e Saulo, que não só pela a ajuda, como também pelo espírito de companheirismo, amizade e solidariedade no transcorrer desse curso;

Ao Dr. Natoniel Franklin de Mello (Chefe Geral da EMBRAPA/SEMI-ÁRIDO), pela a atenção, por ter acreditado e dado à oportunidade de trabalhar ao seu lado;

A Dr^a Julie H. A. Dutilh (UNICAMP), pela grande ajuda, e o carinho concedido, pela identificação de todo o material, por toda sua valiosa contribuição e orientações desse trabalho;

Em especial ao Dr. Leonardo Pessoa Felix, meu irmão e orientador no qual sempre estive ao meu lado, incentivando e apoiando em tudo o que foi possível para que essa conquista se tornasse possível;

A todos os professores do PPGAMGP, pela formação acadêmica, em especial as Prof^a Luciane Vilela, Vivian Loge e Luiza Semi, que se revelaram ótimas pessoas, e de uma dedicação amiga;

A todos meus familiares, principalmente, aos meus pais e irmãos, que sempre estiveram ao meu lado de forma mais que especial, ao longo de toda a minha vida;

A minha grande companheira Andrea Almeida, que está presente comigo em tudo que se faz necessário e que desejo dividir todos os momentos da minha vida;

Em especial a Matheus e Pedro, que estão crescendo junto a mim, sendo uma das principais razões de todos meus esforços, e de ter continuado em frente na minha formação especialização da minha profissão.

SUMÁRIO

SUMÁRIO.....	i
LISTA DE TABELAS.....	iii
LISTA DE FIGURAS.....	iv
Capítulo I.....	1
Resumo.....	2
1. Introdução.....	3
2. Revisão de Literatura.....	4
2.1. Aspectos Botânicos e Melhoramento.....	4
2.1.1. A Família Amaryllidaceae.....	4
2.1.2. O Gênero <i>Zephyranthes</i> Herb.	6
2.1.3. O gênero <i>Zephyranthes</i> e seu uso como ornamental.....	7
2.2. Importância da citogenética no estudo de plantas cultivadas.....	9
2.3. Citogenética do gênero <i>Zephyranthes</i> Herb.	11
3. Referências Bibliográficas.....	15
4. Anexos.....	30
Capítulo II.....	32
Caracterização citogenética de espécies do gênero <i>Zephyranthes</i>	
Herb. (Amaryllidaceae – Hipeastreae).	33
Resumo.....	34
Introdução.....	35
Material e Método.....	36
Resultados.....	37
Discussão.....	40
Referências Bibliográficas.....	44
Capítulo III.....	53
Citogenética de <i>Zephyranthes</i> Herb. (Amaryllidaceae): evolução da	
heterocromatina em diversos níveis de ploidia.....	54
Resumo.....	55
Introdução.....	56
Material e Método.....	57
Resultados.....	58

Discussão.....	59
Referências Bibliográficas.....	67

LISTA DE TABELAS

	Capítulo I.....	2
Tabela 1.	Números cromossômicos em espécies de <i>Zephyranthes</i> registrados na literatura.....	27
	Capítulo II.....	32
Tabela 1.	Número e espécies analisadas de <i>Zephyranthes</i> , locais de coleta, números cromossômicos observados, contagens cromossômicas prévias, referências, fontes bibliográficas, formulas cariotípicas encontradas, comprimento cromossômico total (TCL), comprimento cromossômico médio (CL), índice centromérico médio em percentagem (CI), assimetria intracromossômica.(A ₁), assimetria intercromossômica (A ₂), razão entre o maior e o menor cromossomo (R), categoria de assimetria de Stebbins. (Steb).....	49
	Capítulo III.....	53
Tabela 1.	Espécies analisadas com seus respectivos sinônimos e seus autores de classificação taxonômica, localização da coleta e número de indivíduos analisados.....	63

LISTA DE FIGURAS

	Capítulo I.....	2
Figura 1.	a) Mapa com a distribuição da família Amaryllidaceae no globo terrestre. b) Distribuição dos gêneros <i>Zephyranthes</i> e <i>Habranthus</i> . Adaptado de OLIVEIRA (2006).....	30
Figura 2.	a-d) Detalhes das Flores de <i>Zephyranthes</i> e <i>Habranthus</i> . <i>Z. sylvatica</i> (a-b) e <i>H. itaobinus</i> (c-d).....	31
Figura 3.	Detalhes das Flores de espécies de <i>Zephyranthes</i> . <i>Z. rosea</i> (a); <i>Z. grandiflora</i> (b); <i>Z. aff. rosea</i> (c); <i>Z. candida</i> (d).....	31
	Capítulo II.....	32
Figura 1.	<i>Z. roubustus</i> . a. Metáfase mitótica com $2n=12$; b. Cariograma com quatro pares metacêntrico e dois pares submetacêntricos. <i>Zephyranthes sylvatica</i> . c. Metáfase mitótica com $2n=12$; d. Cariograma com um par metacêntrico e cinco pares submetacêntricos. e. Metáfase mitótica com $2n=12+1B$; f. Cariograma com um par metacêntrico e cinco pares submetacêntricos e um cromossomo supra numerário submetacêntrico; g. Metáfase mitótica com $2n=18$; h. Cariograma com uma trinca metacêntrica e cinco trincas submetacêntricos. Barras equivalem a $10\mu m$	50
Figura 2.	<i>Z. rosea</i> . a. Metáfase mitótica com $2n=24$; b. Cariograma com três pares metacêntricos, sete submetacêntricos e um par acrocêntrico. <i>Z. aff. rosea</i> . c. Metáfase mitótica com $2n=25$; d. Cariograma com quatro pares metacêntricos (par quatro trissômico), cinco submetacêntricos e três pares acrocêntricos. <i>Z. grandiflora</i> . e. Metáfase mitótica com $2n=24$; f. Cariograma com dois pares metacêntricos, cinco submetacêntricos e quatro pares acrocêntricos. Barras em e e f equivale a $10\mu m$	51
Figura 3.	<i>Z. brachyandra</i> . a. Metáfase mitótica com $2n=24+1B$; b. Cariograma com quatro pares metacêntricos, três submetacêntricos e cinco pares acrocêntrico mais um cromossomo B submetacêntrico. <i>Z. candida</i> . c. Metáfase mitótica com $2n=38$; d. Cariograma com nove pares metacêntricos e dez pares. Barra em b equivale a $10\mu m$...	52
Figura 4.	<i>Habranthus itaobinus</i> . a. Metáfase mitótica com $2n=44+1B$; b. Cariograma com cinco pares metacêntricos e doze pares submetacêntricos, cinco acrocêntricos e um cromossomo B metacêntrico. Setas indicam satélites. Barras equivalem a $10\mu m$	52

	Capítulo III.....	53
Figura 1.	Células mitóticas das espécies nativas. (a) <i>Z. robusta</i> , 2n=12, DAPI+/CMA-, DAPI-/CMA+; (b) <i>Zephyranthes</i> sp., 2n=12, CMA+/DAPI-; (c) <i>Z. sylvatica</i> 2n=12, CMA+/DAPI-; (d) <i>Z. sylvatica</i> 2n=18, CMA+/DAPI-; (e) <i>Z. brachyandra</i> com 2n=26, DAPI+/CMA-, CMA+/DAPI-; (F) <i>H. itaobinus</i> , com 2n=44+1B, CMA+/DAPI-	64
Figura 2.	Cariograma das espécies nativas. (a) <i>Z. robusta</i> , 2n=12, DAPI+/CMA-, DAPI-/CMA+; (b) <i>Z. sylvatica</i> 2n=12, CMA+/DAPI-; (c) <i>Z. sylvatica</i> 2n=18, CMA+/DAPI-; (d) <i>Z. brachyandra</i> com 2n=26, DAPI+/CMA-, CMA+/DAPI-.....	65
Figura 3.	Células mitóticas espécies cultivadas. (1-2) <i>Z. rosea</i> com 2n=24, população de Areia,PB CMA/DAPI, respectivamente; (3) <i>Z. rosea</i> população de Belém/PA, com 2n-24 CMA apenas; (4-5) <i>Z. aff. rosea</i> 2n=25, CMA/DAPI respectivamente; (6-7) <i>Z. grandiflora</i> , com 2n-24, CMA/DAPI respectivamente; (8-9) <i>Z. candida</i> , 2n=38, CMA/DAPI respectivamente.....	66

RESUMO - No presente trabalho foram estudados a caracterização citogenética e os padrões de banda CMA/DAPI em sete espécies de *Zephyranthes* e uma de *Habranthus* com o objetivo de avaliar as diferenças cariotípicas entre essas espécies. Todos os indivíduos apresentaram núcleo interfásico reticulado ou semi-reticulado e cariótipo formado por um conjunto de cromossomos metacêntricos, além de cromossomos submetacêntricos e acrocêntricos. *Zephyranthes robusta*, com $2n=12$ e fórmula cariotípica **4M+2SM**, apresentou cariótipo mais simétrico. *Z. sylvatica* apresentou complemento cromossômico formado por $2n=12$ sendo **1M+5SM**, $2n=13$ sendo **1M+5SM+(B)SM** e $2n=18$ formadas por trincas, uma com metacêntricos e cinco apenas com submetacêntricos (**1M+5SM**). Para as espécies cultivadas, *Zephyranthes rosea* Lindl. apresentou cariótipo com $2n=24$ e fórmula cariotípica **4M+7SM+1A**. *Zephyranthes grandiflora* Lindl. apresentou a mesma contagem cromossômica da espécie anterior, sendo que foram observados **2M+5SM+5A**. *Zephyranthes aff. rosea* Lindl., apresentou $2n=25$, sendo **3M+(1M“trinca”) +7SM+1A**. Além disso, pôde-se observar a presença de trissomia no par quatro metacêntrico. *Zephyranthes brachyandra* Herb. apresentou cariótipo com $2n=24+1B$ e fórmula **4M+3SM+5A+1B**. Para *Zephyranthes candida* Herb. observou-se $2n=38$, sendo **9M+5SM+5A**. Em *H. itaobinus* Ravena observou-se variação numérica nas contagens onde na maioria das populações os complementos cromossômicos foram formados por $2n=45$ ou **5M+12SM+5A+(B)M** e em uma única população a espécie apresentou cariótipo com $2n=44$, **6M+12SM+5A+3(B)M**. Foram observadas bandas DAPI subterminais e intersticiais apenas em *Z. robusta* e em *Z. brachyandra*. As demais espécies não apresentaram heterocromatina rica em AT. Nas espécies com $2n=12$ foi observado um bloco CMA⁺ em um par cromossômico de *Z. robusta* e *Zephyranthes* sp., enquanto em *Z. sylvatica* foi observado um pequeno bloco terminal adicional. *Z. rosea* e *Z. grandiflora*, tiveram quatro bandas CMA⁺, enquanto em *Z. brachyandra*, ocorreram oito bandas intersticiais puntiformes, além da RON heterocromática e de um bloco maior no terminal do braço curto do cromossomo B. Em *Z. candida*, observou-se 14 bandas CMA subterminais e em *H. itaobinus*, sete bandas, com forte amplificação diferenciada na RON heterocromática. São discutidas as implicações taxonômicas e a evolução cariotípica para as espécies estudadas.

Palavras chaves - *Zephyranthes*, Bandeamento, Cromossomo B, Trissomia

ABSTRACT – the cytogenetic characteristics and CMA / DAPI band patterns in seven species of *Zephyranthes* and a *Habranthus* were studied in this paper to evaluate the karyotypic differences between these species. All individuals presented reticulated or semi-reticulated interphased nuclei and karyotype formed by a set of metacentric chromosomes, in addition to submetacentric and acrocentric chromosomes. *Zephyranthes robusta*, with $2n = 12$ and karyotypic formula $4M + 2 SM$ presented more symmetrical karyotype. *Z. sylvatica* showed chromosome complement composed of $2n = 12$ being $1M + 5SM$, $2n = 13$ being $1M + 5SM + (B) SM$ and $2n = 18$ formed by cracks, one with metacentric and five with only submetacentric ($1M + 5SM$). For the cultivated species *Zephyranthes rosea* Lindl. presented karyotype with $2n = 24$ and karyotypic formula $4M + 7SM + 1A$. *Zephyranthes grandiflora* Lindl. presented the same chromosome count of the previous species, being observed $2M + 5 SM + 5 A$. *Zephyranthes aff. rosea* Lindl. presented $2n = 25$, being $3M + (1M \text{ "crack"}) + 7 SM + 1 A$. Furthermore, it was observed the presence of trisomy in fourth metacentric pair. *Zephyranthes brachyandra* Herb. presented karyotype with $2n = 24 + 1 B$ and formula $4M + 3 SM + 5 A + 1 B$. In *Zephyranthes candida* Herb. $2n = 38$ was observed with $9M + 5 SM + 5 A$. For *H. itaobinus* Ravenna, a numeric variation in the counts was observed, where in most populations the additional chromosomes were formed by $2n = 45$ or $5M + 12 SM + 5 A + (B) M$ and in a single population the species showed presented karyotype with $2n = 44$, $6M + 12 SM + 5 A + 3 (B)M$. Interstitial and subterminal DAPI bands were observed only in *Z. robusta* and *Z. brachyandra*. The remaining species showed no AT-rich heterochromatin. In species with $2n = 12$ was found a CMA+ block in a chromosome pair of *Z. robusta* and *Zephyranthes* sp., while in *Z. sylvatica* was observed a small additional terminal block. *Z. rosea* and *Z. grandiflora* had four CMA+ bands, while there were eight interstitial pinpoint bands, apart from the heterochromatic RON and a bigger block in the terminal of the short arm of B chromosome in *Z. brachyandra*. In *Z. candida*, there were 14 subterminal CMA bands and in *H. itaobinus*, seven bands with strong differentiated amplification in the heterochromatic RON. Taxonomic implications and the karyotypic evolution are discussed for the species studied.

Key Words - *Zephyranthes*, banding, B chromosome, Trisomy

Capítulo I
Introdução Geral

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Zephyranthes* Herb. compreende 65 espécies de distribuição principalmente neotropical (HUTHCHINSON, 1959; JUDD *et al.*, 1999), das quais, cerca de 50 são nativas da América Tropical e Subtropicais (MEEROW & SNIJMAN, 1998), sendo 36 espécies reconhecidas para o Brasil. Muitas espécies são bastante cultivadas, apresentando flores relativamente pequenas, mas com um grande potencial ornamental (DUTILH, 2005a). O gênero é representado na Região Nordeste por uma única espécie, *Z. sylvatica*, além de *Habranthus bahiensis* Ravena e *H. itaobinus* Ravena (DUTILH, 2006; OLIVEIRA, 2006; ALVES-ARAÚJO, 2007), esses dois últimos sem contagens cromossômicas prévias.

É um grupo cariológicamente variável, com números cromossômicos desde $2n=10$ em *Zephyranthes seubertii* E. P. Hume (DAVIÑA, 2001), até $2n=ca. 200$ em um híbrido horticultural interespecífico (FLORY & SMITH, 1980a). Apresenta registro cromossômico para cinquenta espécies (GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987), com uma variabilidade cariológica que sugere a existência de três número básicos primários: $x = 5, 6$ e 7 (NARANJO, 1974; DAVIÑA & FERNANDEZ, 1989).

Zephyranthes é um gênero taxonomicamente bastante complexo. Para muitos autores deve ser subdividido em dois gêneros: *Zephyranthes sensu strictu*, com flores e estames eretos e *Habranthus* Herb. com flores e estames mais declinados. Esta divisão, porém, nunca se mostrou natural, por haver, em uma mesma espécie, formas intermediárias relativas ao posicionamento das flores e estames (Dutilh, comunicação pessoal). O posicionamento de *Zephyranthes sensu lato*, parece ser suportado com base em estudos da anatomia vegetativa (ARROYO, 1981), além de análises cladísticas com base em morfologia, sequenciamento de genes ribossomais e distribuição geográfica (MEEROW *et al.*, 2000a). Por essa razão, no presente estudo, optou-se por considerar *Zephyranthes* no *sl* pela inexistência de sinapomorfias claras para os dois gêneros (MEEROW *et al.* 2000a, b), embora algumas espécies ainda não recombinadas taxonomicamente estejam mantidas como *Habranthus*.

Das 36 espécies de *Zephyranthes* que ocorrem no Brasil, quatorze tem contagens cromossômicas conhecidas, das quais apenas os registros de $2n=$

12, 12+1B e 18 para *Z. sylvatica*, são conhecidos para a Região Nordeste (FELIX *et al.*, 2007a; FELIX *et al.*, 2008). O gênero é cariológicamente variável devido à variabilidade cromossômica numérica decorrente de eventos de poliploidia, aneuploidia e disploidia, além da ocorrência freqüente de cromossomos Bs (GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987). Apesar de ser freqüente a variação cromossômica numérica intra-específica em espécies cultivadas desse gênero (ver, por exemplo, RAINA & KHOSHOO, 1970) e também entre diferentes populações (DAVIÑA, 2001), são raras as variações numéricas intra-populacionais, com registro confirmado apenas em *Z. sylvatica*, do município de Petrolina em Pernambuco. (FELIX *et al.*, 2008).

No presente trabalho foi estudado o cariótipo através de coloração convencional com Giemsa e bandeamento com fluorocromos em oito espécies de *Zephyranthes*, além de uma espécie de *Habranthus*, cinco delas proveniente do campo, e as demais cultivadas como ornamentais (Tabela 1). Objetivou-se com isso responder as seguintes perguntas: 1. Haverá diferenças cariológicas entre espécies de *Zephyranthes* e *Habranthus* nativas do Nordeste? 2. Será possível utilizar dados de número e morfologia cromossômica na delimitação sistemática de espécies de *Zephyranthes*? 3. Haverá variabilidade numérica intra-específica em representantes nativos e cultivados desses gêneros? 4. Haverá compatibilidade cromossômica entre as espécies estudadas que possibilitem sua utilização em futuros programas de melhoramento?

2. Revisão de Literatura

2.1. Aspectos Botânicos e Melhoramento

2.1.1. A Família Amaryllidaceae

A família Amaryllidaceae compreende cerca de 860 espécies e 59 gêneros, de distribuição principalmente tropical e subtropical, sendo especialmente diversificada na América do Sul e Sul da África, podendo também ser encontrada na região mediterrânea e nas áreas temperadas da Ásia (MEERROW & SNIJMAN, 1998) (Figura 1a). As Amaryllidaceae são

caracterizadas por apresentar bulbos, folhas simples, alternas, lineares e lanceoladas, raramente cilíndrica, inflorescência umbeliformes, flores bissexuais, vistosas, inferovariadas (JUDD *et al.*, 1999), actinomorfas ou ligeiramente zigomorfas, com seis estames, ovário gamocarpelar e fruto do tipo cápsula (ZHANHE & MEEROW, 2001).

Tem sido tradicionalmente considerada como uma família individualizada, mas recentemente foi incluída na família Alliaceae de acordo com o APG II (2003). Todavia, por formar um ramo monofilético do clado Alliaceae + Agapanthaceae e Aliaceae, optou-se por manter esta família separada (STEEVENS, 2001, em diante; MEEROW *et al.*, 2007). As relações filogenéticas internas dos membros das Amaryllidaceae parecem ter uma estreita relação com a distribuição geográfica dos grupos, sendo freqüente a ocorrência de endemismos regionais e de espécies crípticas, muitas delas com problemas de delimitação, tanto em nível de espécies como de categorias taxonômicas superiores (MERROW & SNIJMAN, 1998). A família é subdividida em 15 tribos monofiléticas, algumas delas exclusivas do Continente Americano (RAVEN & AXELROD, 1974; ARROYO & CUTLER, 1984; MERROW, 1985; MEEROW *et al.*, 1999).

Além de dados morfológicos, moleculares e fitogeográficos tradicionalmente utilizados para inferir relações filogenéticas e delimitação taxonômica, dados palinológicos e de citogenética são amplamente empregados na caracterização das Amaryllidaceae. Na região Nordeste, por exemplo, os gêneros *Hippeastrum*, *Habranthus*, *Zephyranthes* e *Nothoscordum*, puderam ser delimitados através da morfologia polínica (ALVES-ARAÚJO, *et al.*, 2007). Dados de número e morfologia cromossômica suportaram fortemente a inclusão de *Rhodophiala cipoana* no gênero *Hippeastrum*, com base em análise de ITS1 e ITS2, pelo fato desta espécie apresentar $2n=22$, um número característico de *Hippeastrum* e raro em *Rhodophiala* (MEEROW *et al.*, 2000a). Este número foi anteriormente considerado primitivo no âmbito da família Amaryllidaceae e em relação às Amaryllidaceae americanas, todo o clado Andeano, formado pelas tribos Eucharideae, Eustephieae, Hymenocallideae, e Stenomessaeae, é caracterizado pelo número diplóide $2n=46$ (MEEROW *et al.*, 1999). Contudo, de acordo com Guerra (2008), números cromossômicos devem ser analisados

cuidadosamente, pois tanto podem representar uma característica plesiomórfica amplamente distribuída em um clado, ou essa característica poderá ser recorrente em diversos ramos de uma árvore filogenética e, nesse caso, não é filogeneticamente informativa.

2.1.2. O gênero *Zephyranthes* Herb.

O gênero *Zephyranthes* Herb. ou mesmo *Habranthus* Herb., são conhecidas popularmente como “lírios do campo”, possuem flores relativamente pequenas e de ciclo curto (LORENZI & SOUZA, 1999). São caracterizadas por apresentar bulbos, folhas simples, alternas, lineares a lanceoladas, raramente cilíndricas, inflorescência umbeliformes, flores bissexuais, vistosas, inferovariadas (JUDD *et al.*, 1999), actinomorfas ou ligeiramente zigomorfas, com seis estames, ovário gamocarpelar e fruto do tipo cápsula (DAVIÑA, 2001). Apresentam folhas delgadas e longas, flores solitárias, podendo ser pequenas, médias ou grandes, simples ou dobradas, com grande variedade de coloração, desde vermelha a rósea ou branca a lilás em diversas tonalidades (GILMAN, 1999).

Em sua revisão Herbert (1837), separou *Habranthus* de *Zephyranthes* por possuir flores eretas, segmentos tepalinos sub-iguais, estames de dois tamanhos, inseridos na base dos segmentos do perigônio, estilete ereto ou sub-ereto. Por sua vez, *Habranthus* teria inflorescência com uma ou mais flores, flores inclinadas, segmentos do perianto sub-iguais, estames com quatro comprimentos diferentes, inseridos na face do tubo do perigônio; estilete declinado ou curvo (HERBERT, 1837, *apud* OLIVEIRA, 2006).

O gênero compreende um número estimado entre 50 (MEERROW & SNIJMAN, 1998) e 65 espécies (HUTHCHINSON, 1959; JUDD *et al.*, 1999) nativas da América tropical e subtropical (MEERROW & SNIJMAN, 1998) (Figura 1b). Destas, 36 espécies são reconhecidas para o Brasil (Dutilh, comunicação pessoal), muitas delas, como *Z. rosea*, *Z. grandiflora*, *Z. atamasco* e *Z. robusta*, já melhoradas e muito apreciadas como ornamentais ().

Assim como outros gêneros de Amaryllidaceae, *Zephyranthes* apresenta problemas de delimitação taxonômica. Para autores como Arroyo (1981) os gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes* deveriam ser considerados congêneros,

por possuírem anatomia muito parecida e algumas sobreposições de caracteres morfológicos florais. Esse tipo de variabilidade morfológica, pode ser observado, muitas vezes, em uma única espécie (DAVIÑA, 2001).

2.1.3. O gênero *Zephyranthes* e o seu uso como ornamental

O consumo e a utilização de flores e plantas ornamentais nativas brasileiras é uma atividade econômica que vem sendo desenvolvida por pequenos produtores distribuídos em quase todo território nacional, produzindo desde flores e folhagens de corte e de vaso, mudas de plantas ornamentais para uso em paisagismo e jardinagem, material de propagação vegetativa, sementes, bulbos e partes vegetativa (CASTRO *et al.*, 2005).

O gênero *Zephyranthes* apresenta grande potencial de uso como ornamental, pois além da sua beleza natural, apresenta fácil dispersão, grande número de sementes férteis e duas formas de propagação: sexuada e assexuada (DUTILH, 2005 a, b). Além de ser amplamente utilizado no paisagismo, prestando-se para a formação de maciços sobre o gramado e bordaduras, em canteiros ou em vasos, adapta-se muito bem a jardins rupícolas. De acordo com a variedade e o clima em que está inserido, pode florescer durante a primavera, o verão ou outono, normalmente após dias fortes de chuva (GILMAN, 1999). Tem grande variabilidade genética, genótipos com de diferentes formas tamanhos e cores, que variam do vermelho-escuro até o branco, em cores puras ou mescladas (GRAZIANO, 2007).

Outro fator que potencializa a utilização de *Zephyranthes* como ornamental e também para o melhoramento é a ocorrência de poliploidia em diversas espécies, algumas delas provenientes de hibridização interespecíficas (FLORY & SMITH, 1980 a, b). A ocorrência de poliploidia e de variação cromossômica numérica são observadas em diversos estudos no gênero *Zephyranthes*, tanto em populações naturais (DAVIÑA, 2001) como em híbridos cultivados (FLORY & SMITH, 1980 a, b). Estes últimos, parecem estar relacionados a hibridação interespecífica seguida de poliploidia, um importante mecanismo da evolução, uma vez que a duplicação cromossômica restaura a fertilidade nos híbridos, regularizando o pareamento meiótico (STEBBINS, 1971; SOLTIS *et al.*, 2003). Para Bueno *et al.* (2001), as vantagens decorrentes do

uso dos híbridos é a manifestação da heterose ou aumento do vigor híbrido, observada na maioria dos cruzamentos interespecíficos, possibilitando o aparecimento de plantas cultivadas que representam verdadeiros reservatórios de genes úteis. Dessa maneira, complementam-se as características comerciais da espécie cultivada, com um ou mais fatores desejáveis provenientes do material selvagem.

Outra consideração importante sobre a hibridização interespecífica relaciona-se a ampla variabilidade genética geralmente liberada nas gerações subseqüentes (SOLTIS & SOLTIS, 1999). Embora as dificuldades sejam enormes para as transferências de genes, existe um grande potencial de utilização da hibridização interespecífica e, apesar dos problemas, a imensa variabilidade ^{gênica} já justifica sua tentativa (FERNANDO *et al.*, 2005). Para Siqueira *et al.* (1988) a maioria dos genes de resistência a patógenos do tomateiro cultivado (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tem sido transferida via cruzamentos com espécies silvestres, especialmente *L. peruvianum* (RIBEIRO & GIORDANO, 2001).

O gênero *Zephyranthes* tem sido empregado como doador do gene de resistência “zca” contra uma ampla gama de insetos da ordem *Aphids*, retirado de *Z. candida* e transferido via *Agrobacterium tumefaciens* para diferentes culturas (PANG *et al.*, 2004). Outras características, como a resistência à seca, apresentadas pelas espécies desse gênero, poderão ser utilizadas e transferidas para outras espécies do gênero ou transpostas para outros grupos de *Amaryllidaceae* ornamentais filogeneticamente relacionadas (DAVIÑA, 2001).

O melhoramento genético é o principal processo que transforma um componente da biodiversidade em um recurso genético e finalmente em um produto com valor econômico no mercado, gerando renda as populações locais. Estudos cariológicos possibilitam a identificação de homeologias cromossômicas, indicando assim possíveis espécies que possam ser utilizadas em programas de hibridização tradicionais e mesmo em projetos de biotecnologia, como por exemplo, na combinação de protoplastos (GUERRA, 1988). Além disso, o conhecimento detalhado do cariótipo permite inferir dados sobre os processos de evolução cariotípica, relações filogenéticas e delimitação taxonômica em plantas (GUERRA, 2000; PEDROSA & GUERRA, 2004), especialmente por tratar-se de um caráter bastante estável. No seu uso

mais simples, para o melhoramento de plantas, dados cromossômicos evitam insucessos na condução de trabalhos de conservação, multiplicação e uso de germoplasma (PEÑALÓZ, 2005).

2.2. Importância da citogenética no estudo de plantas cultivadas

O uso de técnicas citogenéticas em espécies cultivadas tem fornecido informações importantes ao melhoramento genético em diversos grupos de plantas por permitir a localização física de certos marcadores diretamente nos cromossomos. Comumente, a análise citogenética convencional é realizada em cromossomos metafásicos mitóticos corados com Giemsa, carmim acético ou outro corante clássico. Em uma análise deste tipo, aspectos como o número e comprimento dos cromossomos, razão entre braços cromossômicos, padrão de condensação e de coloração, além de características físicas adicionais, como presença e posição de constrição secundária e cromossomos satelitados, podem fornecer informações valiosas para comparar espécies ou identificar variações inter e intra-específicas (GUERRA *et al.*, 1997).

Em Oxalidaceae, Azkue (2000) detectou alterações morfológicas e numéricas entre seus representantes. A verificação de variações nos números básicos ($x = 5, 6, 7, 8, 9$ e 11) das espécies do gênero *Oxalis* foi muito importante para o estabelecimento das relações filogenéticas, visto que a subdivisão do mesmo em seções encontra-se baseada em dados morfológicos.

Analisando convencionalmente espécies pertencentes ao gênero *Erigeron* (Asteraceae), Nishikawa & Sato (2003) evidenciaram variações numéricas ($2n = 18$ ou 27) na espécie *E. thunbergii* subsp. *grabratus* var. *heterotricus* e consideraram-na ($2n = 27$) triplóide de base $x = 9$.

Entretanto, muitas vezes os padrões cromossômicos revelados pelas chamadas “colorações convencionais” não são suficientes para a análise detalhada de um cariótipo, especialmente se este apresentar simetria entre os cromossomos ou se os cromossomos forem pequenos em medidas micrométricas. Por outro lado, técnicas de coloração cromossômica diferencial têm contribuído grandemente para estudos cromossômicos comparativos em nível inter e intra-específico, interpretação de alterações cromossômicas, etc. (GILL *et al.*, 1991, SUMNER, 2003). Diversas metodologias foram

desenvolvidas com este fim como o bandeamento C, a coloração com nitrato de prata (AgNO_3), coloração com fluorocromos base-específicos e a hibridização *in situ* (BENNETT & LEITCH, 2005).

Especificamente, o uso dos corantes fluorescentes base-específicos tem revelado divergências estruturais e propriedades químicas (regiões AT e GC) da heterocromatina nos cromossomos homólogos, auxiliando no estudo comparativo intra e interpopulacional. Os fluorocromos são corantes que apresentam propriedades fluorescentes e especificidade a determinadas seqüências de bases no DNA alvo. Dentre os que possuem afinidade pelas bases adenina e timina (AT) destacam-se o 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), Hoechst 33258 e a quinacrina. Já a cromomicina A_3 (CMA), o iodeto de propídeo (IP) e a mitramicina apresentam afinidade por regiões ricas em guanina e citosina (GC). Outros como distamicina A (DA) e a actinomicina D (AMD) podem ser empregados como contra-corantes visando potencializar o contraste durante a visualização de um fluorocromo primário (SCHWEIZER, 1976; SUMNER, 1990; KIM *et al.*, 2002).

A caracterização citogenética da heterocromatina constitutiva realizada a partir de colorações empregando-se fluorocromos pode auxiliar na caracterização de espécies e variedades. Analisando seis espécies de *Citrus* através do emprego dos fluorocromos DAPI e CMA, Guerra (1993) verificou divergências quantitativas e heteromorfismo no padrão de bandas das espécies. Divergências no padrão de bandas DAPI também foram observadas na espécie *Dioclea virgata* quando comparadas a outras espécies da subfamília Papilionoidae (SOUZA & BENKO-ISEPPON, 2004).

O tratamento com fluorocromos base-específicos CMA e mitramicina, por exemplo, podem ser empregados para a detecção das regiões organizadoras de nucléolos (RON's) visto que estas regiões são normalmente flanqueadas por regiões de heterocromatina constitutiva ricas em pares de bases GC (SALVADORI *et al.*, 1995). Em *Allium communtatum* (Aliaceae) a aplicação seqüencial das técnicas CMA/DAPI e nitrato de prata (AgNO_3) revelaram que as marcações com o fluorocromo CMA encontravam-se adjacentes às RON's desta espécie (BESENDORFER *et al.*, 2002).

As RONS são sítios cromossomais de seqüências de DNA repetidos em tandem que codificam RNAr 45S (5.8S-18S-26S). Citologicamente, estas

regiões são normalmente localizadas como constrições secundárias de cromossomos profásicos a metafásicos, sendo responsáveis pela formação dos nucléolos, na interfase anterior, e passíveis de serem detectadas pela impregnação das proteínas nucleolares aderidas nessa região com nitrato de prata (HOWELL & BLACK, 1980; RUFAS *et al.*, 1982).

Melo & Guerra (2003) utilizaram sondas de DNAr 45S e 5S para investigar as relações filogenéticas e os níveis de ploidia entre espécies do gênero *Passiflora*. Os autores concluíram que, em geral, o número e a localização dos sítios de DNAr 45S foram representativos para inferir que o número diplóide $2n=12$ representa o provável genoma ancestral com número básico $x=6$ para o gênero e que as demais espécies apresentariam os números diplóides secundários $2n=18$, $2n=20$ e $2n=24$ com números básicos $x=9$, $x=10$ e $x=12$, respectivamente. A análise citogenética realizada em diversas espécies de *Citrus* empregando o bandeamento com corantes fluorescentes CMA e DAPI e hibridização *in situ* com sondas de DNAr 5S e 45S, demonstrou que a maioria das espécies estudadas são híbridos interespecíficos com pelo menos um par cromossômico heteromórfico em seus cariótipos. Por outro lado, a espécie *C. medica*, var. 'cidra Etrog' foi considerada uma das prováveis espécies ancestrais do gênero por apresentar homomorfismo cromossômico em todo seu cariótipo (CARVALHO *et al.*, 2005). Os dados obtidos pelos autores auxiliaram também na discussão sobre questões filogenéticas do grupo.

2.3. Citogenética do gênero *Zephyranthes* Herb.

A família Amaryllidaceae apresenta na sua grande maioria, cromossomos grandes, uma característica favorável em estudos de citogenética e citotaxonomia (NARANJO, 1969). Dentre as Amaryllidaceae, o gênero *Zephyranthes* pertence a um grupo cariologicamente variável, com números desde $2n=10$ em *Zephyranthes seubertii* E. P. Hume (DAVIÑA, 2001), até $2n=ca. 200$ em um híbrido horticultural interespecífico (FLORY & SMITH, 1980a). O gênero é relativamente bem estudado em termos cariológicos, apresentando registro cromossômico para cerca 54 espécies (Tabela 2 Anexo), o que corresponde a quase totalidade dos táxons conhecidos.

Apesar ser um caráter estável em plantas, ocorrem variações cromossômicas numéricas intra-específicas em diferentes populações naturais, especialmente em plantas bulbosas como no gênero *Urginea* Kunth, da família Liliaceae (TALAVERA *et al.*, 1995), em *Ornithogalum tenuifolium* Goiron (Hyacinthaceae) (STEDJE, 1989), em plantas com cromossomos holocêntricos, como no gênero *Carex* (Dill.) Linn das *Cyperaceae* (LUCENÑO, 1993), ou em dicotiledôneas como em *Turnera sidoides* (SOLIS NEFFA *et al.*, 2002). Em Amaryllidaceae, Wahlstrom & Laane (1989) encontraram $2n=22$ e $2n=23$ em *Crinum zeylanicum* L. além de diferenças intra-específicas na morfologia dos cromossomos em várias outras espécies desse gênero. Em uma população de *Hippeastrum* sp., Dutilh (1989) observou indivíduos com $2n=22$ e com $2n=22+1B$, estes últimos, com 11 bivalentes e 1 monovalente na meiose. Estudos detalhados do comportamento meiótico e o efeito dos cromossomos extranumerários na descendência de cruzamentos de *Hippeastrum* foram realizados por ISING (1990, 1991) e Ising & Wide-Anderson (1991). Alterações cromossômicas numéricas em plantas são consequência de alterações na meiose que resultam em aneuploidias (alteração no cariótipo que é acompanhada de ganho ou perda de um a poucos cromossomos), disploidias (alteração numérica em poucos cromossomos, mas sem ganho nem perda de material genético) e poliploidia, onde se tem a multiplicação de todo o conjunto euplóide (STEBBINS, 1971; GUERRA, 1988, SYBENGA, 1992). Em Amaryllidaceae, esses fenômenos têm sido amplamente registrados nos gêneros *Crinum*, *Hippeastrum* e *Zephyranthes*, entre outros.

No gênero *Zephyranthes*, além das alterações numéricas acima relacionadas, ocorrem mixoplóides (BHATTACHARYYA, 1972) e cromossomos supranumerários em varias espécies (GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987, DANIÑA, 2001). Todavia, o registro de mixoploidia em *Z. mesocloa* por BHATTACHARYYA (1972), aparentemente, é devido ao efeito do rompimento da membrana celular durante o processo de separação cromossômica (NARANJO, 1969), o que também pode ter contribuído para vários registros cariológicos contraditórios no gênero. Todavia, os registros cromossômicos de algumas espécies como *Z. aff. mesocloa*, com $12+1B$, *Z. brasiliensis*, com $49+1B$, *Z. grandiflora*, com $67+1B$, *Z. chlorozolen*, com $72+1B$ (GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987), *Z. candida* com $2n=38$, 40 e 41 (RAINA

& KHOSHOO, 1970) e *Z. sylvatica*, com $2n=12+1B$ (FELIX *et al.*, 2008) são bem documentadas e exemplificam a grande variabilidade cromossômica numérica do gênero. Além disso, em várias espécies desse gênero, é comum a existência de polimorfismos cromossômicos decorrentes de alterações estruturais, especialmente em híbridos artificiais interespecíficos (FLORY & SMITH, 1980b; DAVIÑA, 2001).

A ocorrência de cromossomos supranumerários é comum no gênero *Zephyranthes* (GREZERSTEIN & NARANJO, 1987; GUERRA, 2000). Contudo, a origem dos cromossomos Bs parece ser diversificada, não sendo produto de um único evento evolutivo, existindo fortes indícios de que se originariam a partir de fragmentos cêntricos de um cromossomo A, de irregularidades meióticas com formação de univalentes, com migração preferencial para um dos pólos, ou do retardo anafásico na divisão meiótica (GUERRA, 1988). Evidências nesse sentido têm sido acumuladas através de estudos desenvolvidos em diversas espécies, tanto animais como vegetais, quer seja a partir de autossomos ou de cromossomos sexuais (CAMACHO *et al.*, 2000). Em *Crepis* (Asteraceae), foi detectada a ocorrência de sítios de DNAr 45s nos cromossomos Bs, sugerindo que esses cromossomos poderiam terem sido originados a partir de cromossomos As possuindo RONS (GREEN, 1990). Estudos com marcadores moleculares e citomoleculares (FISH e GISH), confirmaram que em *Crepis capillaris* os cromossomos Bs foram realmente originados a partir de As, embora não tenha sido evidenciada sua origem a partir do único cromossomo A portador de RON dessa espécie (JAMILENA *et al.*, 1994). Em espécies neotropicais do gênero *Cestrum* (Solanaceae), foi observada a ocorrência de segmentos heterocromáticos em cromossomos Bs que não foram detectados nos cromossomos As, sugerindo uma origem independente destes últimos ou de uma evolução independente dos Bs a partir de um cromossomo A ancestral (FREGONEZI *et al.*, 2004).

Outra evidência da origem de Bs a partir de cromossomos As, é a formação de multivalentes ocasionado pelo pareamento de um ou mais Bs com um cromossomo A em híbridos artificiais de *Agropyron* (CHEN *et al.*, 1993).

Em espécies de angiospermas do Nordeste do Brasil, a ocorrência de variação cromossômica numérica intraespecífica é um evento raro. Em 44 espécies de orquídeas Cymbidioide (FELIX & GUERRA, 2000), ou na

subfamília Aurantioideae das Rutaceae (GUERRA *et al.*, 2000), por exemplo, não ocorreu nenhuma variação numérica intraespecífica. Esse tipo de variação numérica tem sido observado apenas em citótipos poliplóides de espécies muito relacionadas, como no gênero *Emilia* das Asteraceae (GUERRA & NOGUEIRA, 1990) e em raças geográficas isoladas de *Passiflora misera* H.B.&K. (MELO *et al.*, 2001).

Embora exista um número razoável de espécies poliplóides de *Zephyranthes*, poucos estudos abordaram diretamente as suas origens. No geral, a identificação de parentais em poliplóides híbridos não é comum, sendo mais factível sua identificação em espécies híbridas recentes (SOLTIS & SOLTIS, 1999; SOLTIS *et al.*, 2003). Em Solanaceae, o uso de técnicas de GISH, em células somáticas de raiz de *Nicotiana tabaccum* ($2n = 4x = 48$) e de *N. sylvestris* ($2n = 2x = 24$), confirmaram ser resultados de halopoliploides naturais (BENNETT, 2004). No gênero *Trapogon* (Asteraceae), a origem híbrida dos halopoliplóides *T. mirus* e *T. miscellus*, a partir de três espécies de *Trapogon* introduzidas nos Estados Unidos, foi claramente demonstrada com a utilização de FISH (SOLTIS *et al.*, 2004). No gênero *Zephyranthes*, ocorrência de poliplóides e de cromossomos Bs pode ter sido consequência da hibridização interespecífica, algumas vezes intergenéricas, especialmente entre os gêneros *Habranthus*, *Rhodophiala* Presl. e *Zephyranthes* (FLORY, 1958).

Em *Zephyranthes* e em outras Amaryllidaceae, a extensa variação em número e morfologia cromossômica possibilita o emprego de características da coloração convencional como ferramenta citotaxonômica. Recentemente, estudos de assimetria cromossômica e conteúdo de DNA em espécies do gênero *Hippeastrum* (Amaryllidaceae) do continente Sul Americano, apresentaram diferenças interespecíficas nos cariótipos que foram refletidas no conteúdo 2C de DNA (POGGIO *et al.*, 2007). Tamanhos cromossômicos, e formulas cariotípicas básica, constituem importantes dados para a sistemática e filogenia nos estudos de plantas (BENNETT & LEITCH, 2005). A maioria das espécies de *Zephyranthes* apresenta cariótipos formados por um ou poucos pares metacêntricos longos e os demais menores, com centrômeros medianos, submedianos, subterminais e terminais (FLORY, 1977). Esse padrão cariotípico também foi observado em *Zephyranthes sylvatica*, a única espécie do gênero

citologicamente estudada para o Nordeste do Brasil (GUERRA, 2000; FELIX *et al.*, 2007b, 2008).

No presente trabalho foram estudadas oito espécies de *Zephyranthes*, cinco delas proveniente do campo, e as demais cultivadas como ornamentais utilizando técnicas de coloração convencional do Giemsa e bandeamento com fluorocromos. Também foi incluído no estudo, *Habranthus itaobinus*, uma espécie provavelmente congênica, porém ainda não combinada para o gênero *Zephyranthes*. Esse estudo teve como objetivo caracterizar os cariótipos dessas espécies, buscando identificar os possíveis mecanismos envolvidos na evolução cromossômica do gênero e estabelecer possíveis relações cariológicas entre essas espécies, bem como entre *Habranthus* e *Zephyranthes*.

3. Referências Bibliográficas

ALVES-ARAÚJO, A.; SANTOS, F. DE A. DOS; ALVES, M. Caracterização palinológica de espécies de Amaryllidaceae *sensu stricto* ocorrentes no nordeste brasileiro. **Acta Botânica Brasílica**. 21(4): 967-976. 2007.

APG II. **An updated of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants**: Botanical Journal of The Linnean Society, 141: p.399-436, 2003.

ARROYO, S. C. **Systematic, Anatomical studies on Amaryllidaceae, including morphological cytological and phytogeographical considerations**. 1981. 238f. Tese (Ph Doctor Botany) - Department of Botany, University of Reading. Reading.

ARROYO, S. C.; CUTLER, D. F. *Zephyranthes seubertii*, nombre más antiguo para *Z. stellaris* (Amaryllidaceae). **Kurtziana**, Cordoba, v.25, p.183-186, 1984.

AZKUE, D. Chromosome diversity of South America *Oxalis* (Oxalidaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 132, p. 143-152, 2000.

BENNETT, M. D. Perspectives on polyploidy in plants – ancient and neo. **Biological Journal of the Linnean Society**. v.82, p.411–423, 2004.

BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms: progress, problems and prospects. **Annals of Botany**. London. v. 95, p.45–90, 2005.

BESENDORFER, V.; SAMARDZIJA, M.; ZOLDOS, V.; SOLIC, M. E.; PAPES, D. Chromosomal organization of ribosomal genes and NOR-associated heterochromatin, and NOR activity in some populations of *Allium commutatum* Guss. (Alliaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 139, p. 99–108, 2002.

BHATTACHARYYA, N. K. Chromosome inconstancy in *Zephyranthes mesochloa* Baker. **Cytologia**, Japão, v.37, p. 423-433, 1972.

BUENO, L. C. S.; MENDES, A. N. G.; CARVALHO, S. P. Hibridação interespecífica. **Melhoramento Genético de Plantas: Princípios e Procedimentos**. UFLA, ED. 2, 2001, 179p.

CAMACHO, J. P. M.; SHARBEL, T. F.; BEUKEBOOM, L. W. B-chromosome evolution. **The Royal Society**, London, v.355, p.163-178, 2000.

CARVALHO, R.; SOARES, W. S.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; GUERRA, M. The relationships among lemons, limes and citron: a chromosomal comparison. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 109, n. 1-3, p. 276-282, 2005.

CASTRO, C. E. F.; CARBONEL, S. A. M.; MAIA, M. S. D.; COSTA, A. F. Floricultura. 1º Ed. Campinas. 48p. (CONSEPA, SÉRIE REUNIÕES TÉCNICAS 1), 2005.

CHEN, Q.; JAHIER, J.; CAUDERON, Y. The B chromosome system of Inner *Mongolian agropyron* Gaertn. **Hereditas**, Lund, Suecia, v.119, p.53-58, 1993.

DAVIÑA, J. R. **Estudios citogeneticos en algunos generos argentinos de Amaryllidaceae**. 2001. Cordoba. Tese (Doutorado) - Universidade Nacional de Cordoba.

DAVIÑA, J. R.; FERNÁNDEZ, A. karyotype and meiotic behavior in *Zephyranthes* (Amaryllidaceae) from South America. **Cytologia**, Tóquio, Japão, v.54, p.269-274. 1989.

DUTILH, J. H. A. Amaryllidaceae. In: BARBOSA, M. R.; SOTHES, C.; MAYO, S.; GAMARRA-ROJAS, C.F.L.; MESQUITA, A. C. Checklist das plantas do Nordeste Brasileiro: Angiospermas e Gymnospermas. (Eds): Ministério de Ciência e Tecnologia. Brasilia, 2006. 156p.

DUTILH, J. H. A. As coloridas açucenas brasileiras. Campinas: Sociedade Brasileira de Floricultura e Plantas Ornamentais. p. 4 (Boletim Informativo, 1), 1989.

DUTILH, J. H. A. Morphological variation in a population of *Hippeastrum* Herb. **Herbertia**, EUA, v.45, p.152-155, 1989.

DUTILH, J. H. A. Ornamental bulbous plants of Brazil. **Acta Horticulturae**, v. 683, p.37-42, 2005a.

DUTILH, J. H. A. Amaryllidaceae. In: WANDERLEY, M. G. L. et al. Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo. São Paulo: FAPESP: RiMa, p. 244-256, 2005b.

FEDOROV, A.M.A. (Ed.). **Chromosome numbers of flowering plants**. Germany Leningrad: Komarov Botanical Institute, 1974.p. 926.

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

FELIX, W. J. P.; DUTILH, J. H. A.; ALMEIDA, A.; FELIX, L. P. Variação cromossômica numérica Intraespecífica em *Zephyranthes sylvatica* Baker no semi-árido do Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 291-293, 2007a.

FELIX, W. J. P.; ALMEIDA, A.; MELO, N. F. DE.; FELIX, L. P. Citogenética de duas espécies de *Zephyranthes* Herb. (Amaryllidaceae – Hipeastreae) cultivadas. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 294-296, 2007b.

FELIX, W. J. P.; DUTILH, J. H. A.; MELO, N. F. DE.; ALMEIDA, A.; FELIX, L. P. Intrapopulational chromosome number variation in *Zephyranthes sylvatica* Baker (Amaryllidaceae: Hippeastreae) from northeast Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.32, n.2, p.371-375, 2008.

FERNANDO, D. D.; LONG, S. M.; SNIEZKO, R. A. Sexual reproduction and crossing barriers in white pines: the case between *Pinus lambertiana* (sugar pine) and *P. monticola* (western white pine). **Tree Genetics & Genomes**. 1: 143–150, 2005.

FLORY, W. S. A cytological study of the genus *Habranthus*. **The Nucleus**, New York, v.2, p.267-280, 1958.

FLORY, W. S. Overview of chromosome evolution in the Amaryllidaceae. **The Nucleus**, New York. v.20, p.70-88, 1977.

FLORY, W. S.; SMITH, G. L. High chromosome number in several *Zephyrantheae* taxa. **Plant Life**, Reino Unido. v.36, p.63-72, 1980 a.

FLORY, W. S.; SMITH, G. L. The chromosomes of *Habranthus martinezii*, *H. robusta*, and their F₁ hybrid. **Plant Life**, Reino Unido. v.36, p.54-62, 1980 b.

FREGONEZI, .N. J; ROCHA, C.; TOREZANB; J. M. D.; VANZELA, A. L. L. The occurrence of different Bs in *Cestrum intermedium* and *C. strigilatum* (Solanaceae) evidenced by chromosome banding. **Cytogenet Genome Res** 106:184–188, 2004.

GILMAN, E. F. *Zephyranthes* spp. **Cooperative Extnsion Service University of Florida**. v.621, p.1-4, 1999.

GILL, B. S.; FRIEBE, B.; ENDO, T. R. Standard karyotype and nomenclature system for description of chromosome bands and structural aberrations in wheat (*Triticum aestivum*). **Genome**, v. 34, p. 830-839, 1991.

GOLDBLATT, P. (Eds) **Index to plant chromosome numbers 1975-1978**. Missouri Bot. Gard. St. Louis, Missouri: 1981. v.5, 488p.

GOLDBLATT, P. (Eds) **Index to plant chromosome numbers 1979-1981**. Missouri Bot. Gard. St. Louis, Missouri:, 1984. v.8, 424p.

GOLDBLAT, P. (Ed.) **Index to plant chromosome number for 1975-1978, 1979-1981, 1982-1983**. St. Louis U.S.A.: Missouri. Bot. Garden. 1981-1984-1985.

GOLDBLATT, P. & D. E. JOHNSON. (Eds) **Index to plant chromosome numbers 1986-1987**. St. Louis, Missouri: Missouri: Bot. Gard. 1990. v.30, 239p.

GOLDBLATT, P. & D. E. JOHNSON. (Eds) **Index to plant chromosome numbers 1988-1989**. St. Louis, Missouri: Missouri Bot. Gard.. 1991. v.40, 234p.

GOLDBLATT, P. & D. E. JOHNSON. (Eds) **Index to plant chromosome numbers 1990-1991**. St. Louis, Missouri: Missouri Bot. Gard.. 1994. v.51, 262p.

GOLDBLATT, P. & D. E. JOHNSON. (Eds) **Index to plant chromosome numbers 1996-1997**. St. Louis, Missouri: Missouri Bot. Gard.. 2000. v.81, 188p.

GREIZERSTEIN, E. J.; NARANJO, C. A. Estudios cromosomicos en especies de *Zephyranthes* (Amaryllidaceae). **Darviniana**, Argentina, v.29, p.169-186, 1987.

GREEN, D. M. Muller's ratchet and the evolution of supernumerary chromosomes. **Genome**, Canada, v.33, p.818-824, 1990.

GUERRA, M S. **Introdução a Citogenética Geral**. Rio de Janeiro: Editora Guanabara. 1988. 142p.

GUERRA, M.; NOGUEIRA, M. T. M. The cytotaxonomy of *Emilia* spp. (Asteraceae: Senecioneae) occurring in Brazil. **Plant Systematic Evolution**, Australian, v.170, p.229-236, 1990.

GUERRA, M. Cytogenetics of Rutaceae. V. High chromosomal variability in *Citrus* species revealed by CMA/DAPI staining. **Heredity**, Edinburgh, v. 71, p. 234-241, 1993.

GUERRA, M.; PEDROSA, A.; SILVA, A. E. B.; CORNELIO, M. T. M.; SANTOS, K.; SOARES, W. D. Chromosome number and secondary constriction variation in 51 accessions of a *Citrus* germplasm bank. **Revista Brasileira de Genética**, v. 20, n. 3, p. 489-496, 1997.

GUERRA, M. Chromosome number variation and evolution in monocots. *In*: **Monocots: Systematics and Evolution** (K. L. WILSON; D. A. MORRISON (Eds.). Sydney CSIRO Publishing, Collingwood. 2000. p.1 27-136.

GUERRA, M., SANTOS, K. G. B., SILVA, E. B.; EHRENDORFER, F. Heterochromatin banding patterns in Rutaceae – Aurantioideae – a case of parallel chromosomal evolution. **American Journal of Botany**, USA, v.87, p. 735-747. 2000.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**. v.120, p.339–350, 2008.

HOWELL, W. M.; BLACK, D. A. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. **Experientia**, v. 36, p. 1014-1015, 1980.

HUTCHINSON, J. **The families of flowering plants**. Oxford: Clarendon Press, 1959.

ISING, G. Unexpected effects of a B chromosome in *Hippeastrum*. **Hereditas**, v.112, p.4-5, 1990.

ISING G. *Hippeastrum pardinum* crossed to a white *H. hybridum*. II. Backcrosses of the triploid hybrid to white or red *H. hybridum*. **Herbertia**, v. 47 (1&2), p.33-50, 1991.

ISING, G. E. K.; WIDE-ANDERSSON. *Hippeastrum pardinum* crossed to a white *H. hybridum*. I. Segregation of the B chromosome. **Herbertia**, v.47 n. 1-2, p.11-32, 1991.

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

JAMILENA, M.; RUIZ REJÓN, C; RUIZ REJÓN, M. A molecular analysis of the origin of the *Crepis capillaris* B chromosome. **Journal of Cell Science**, London, v.107, p.703-708, 1994.

KIM, E. S.; PUNINA, E.O; RODIONOV, A. V. Chromosome CPD (PI/DAPI)- and CMA/DAPI-banding patterns in *Allium cepa* L. **Russian Journal of Genetics**, v. 38, n. 4, p. 392-398, 2002.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas Ornamentais no Brasil - arbustiva, herbáceas e trepadeiras**. 2 ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 1123p, 1999.

LUCEÑO, M. Chromosome studies on *Carex* L. section *Mitratae* Kükenth. (Cyperaceae) in the Iberian Peninsula. **Cytologia**, Tóquio, Japão, v.5, p.321-330, 1993.

MEEROW, A. W. Notes on Florida *Zephyranthes*. **Herbertia**. v.41, p.86-94, 1985.

MEEROW, A. W.; SNIJMAN, D. A. Amaryllidaceae. In: **III Floqering Plants. Monocotyledons. Liliae (except Orchidaceae)**. (K. KUBITZKI) (Eds.) Springer, 1998. p.83-110.

MEEROW, A. W.; FAY, M. F.; CHASE, M. W.; GUY, C. L.; LI, Q.-B. The new phylogeny of Amaryllidaceae. **Herbertia**, v.54, p.180-203. 1999.

MEEROW, A. W.; FAY, M. F.; CHASE, M. W.; GUY, C. L.; LI, Q.; SNIJMAN, D.; YANG, S. Phylogeny of Amaryllidaceae: molecules and morphology. *In*: **Monocots: Systematics and Evolution**. Sydney: (K. L. WILSON; D. A. MORRISON (Eds.)). Collingwood, CSIRO Publishing, 2000 (a). p. 372-386.

MEEROW, A. W.; GUY, C. L.; LI, Q.; YANG, S. Phylogeny of the American Amaryllidaceae based on nrDNA ITS sequences. **Systematic of Botany**, v.25, p.708-726, 2000 (b).

MEEROW, A. W. REVEAL, J. L. SNIJMAN, D. A. DUTILH, J. (1793) Proposal to conserve the name *Amaryllidaceae* against *Alliaceae*, a “superconservation” proposal. **Taxon**. 56 (4): 1300–1301, 2007.

MELO, N. F.; CERVI, A. C.; GUERRA, M. Karyology and cytotaxonomy of the genus *Passiflora* L. (Passifloraceae). **Plant Systematics and Evolution**, Sydney, v.226, p.69-84, 2001.

MELO, N. F.; GUERRA, M. Variability of the 5S and 45S rDNA sites in *Passiflora* L. species with distinct base chromosome numbers. **Annals of Botany**, v. 92, p. 309-316, 2003.

NARANJO, C. A. Cariotipos de nueve especies argentinas de *Rhodophiala*, *Hippeastrum*, *Zephyranthes* y *Habranthus* (Amaryllidaceae). **Kurtziana**, Cordoba, v.5, p.67-87, 1969.

NARANJO, C. A. Karyotypes of four Argentine species of *Habranthus* and *Zephyranthes* (Amaryllidaceae). **Phython**, Argentina, v.32, p.61-71, 1974.

NISHIKAWA, T.; SATO, K. Chromosome numbers of *Erigeron miyabeanus* Tatew. & Kitam. (Asteraceae) and the alien taxa from Hokkaido, northern Japan. **Bulletin of the National Science Museum**. Serie B. v. 29. p. 145-148, 2003.

OLIVEIRA, R. S. de. Flora da Cadeia do Espinhaço: *Zephyranthes* Herb. & *Habranthus* Herb. (Amaryllidaceae). 163p. 2006.

PANG, Y. SHEN , G. QI , H. TAN , F. SUN , X. TANG, K. Transgenic Tobacco Expressing *Zephyranthes candida* Agglutinin Showing Enhanced Resistance to Aphids. **Engineering in Life Sciences**. v.4, p.155-159, 2004.

PEDROSA, A.; GUERRA, M. Contribuições da FISH para a citogenética de plantas. In: Marcelo Guerra. (Org.). **FISH: conceitos e aplicações na citogenética**. 1 ed. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2004, 33-60p.

PEÑALÓZ, A. D. P. de S. **Curso de Citogenética Aplicada a Recursos Genéticos Vegetais**. Documentos/EMBRAPA RECURSOS GENETICOS E BIOTECNOLOGIA, 0102-0110; 154, 2005, 89p.

POGGIO, L.; GONZÁLEZ, G.; NARANJO, C. A. Chromosome studies in *Hippeastrum* (Amaryllidaceae): variation in genome size. **Botanical Journal of the Linnean Society** London. v.155 , p.171–178, 2007.

RAINA, S. N.; KHOSHOO, T. N. Cytogenetics of tropical bulbous ornamentals VI: chromosomal polymorphism in cultivated *Zephyranthes*. **Caryologia**, Itália, v.2, p.217-227, 1970.

RAVEN, P. H.; AXELROD, D. I. Angiosperm Biogeography and Past Continental Movements. **Ann. of the Missouri Bot. Garden**. v.61 n.3, p. 539-673, 1974.

RIBEIRO, C. S. DA. C.; GIORDANO, L. DE. B. Método de obtenção de híbridos interespecíficos entre *Lycopersicon esculentum* e *L. peruvianum* Pesquisa agropecuaria brasileira, Brasília, v. 36, n. 5, p. 793-799, 2001.

RUFAS, J. S.; ITURRA, P.; DE SOUZA, W.; ESPONDA, P. Simple silver staining procedure for the localization of nucleolus and nucleolar organizers under light and electron microscopy. **Arch. Biol.**, v. 93, p.267-276, 1982.

SALVADORI, S.; DEIANA, A. M.; COLUCCIA, E.; FLORIDIA, G.; ROSSI, E.; ZUFFARDI, O. Colocalization of (TTAGGG)_n telomeric sequences and ribosomal genes in Atlantic eels. **Chromosome Research**, v. 3, p. 54–58, 1995.

SCHWEIZER, D. Reverse fluorescent chromosome-banding with Chromomycin and DAPI. **Chromosoma**, v. 58, n. 4, p. 307-324, 1976.

SIQUEIRA, W. J.; FONSECA, M. I. S.; SONDAHL, M. R. Regeneração de plantas híbridas entre *Lycopersicon esculentum* e *L. peruvianum* a partir de calos com dois anos de cultura *in vitro*. **Bragantia**, Campinas, v. 47, p. 1- 8, 1988.

SOLIS NEFFA, V. G; FERNADEZ, A. Karyotypic studies in *Turnera sidoides* complex (*Turneraceae*, *Leiocarpae*). **American Journal of Botany**, USA, v. 89, n.4, p. 551-558, 2002.

SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. **Tree**. v. 14, p348-352, 1999.

SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; TATE, J. A. Advances in the study of polyploidy since *Plant speciation*. **New Phytologist**. 161: 163-191, 2003.

SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S.; CHRIS PIRES, J.; KOVARIK, A. JENNIFER A. TATE, J.A.; MAVRODIEV, E. Recent and recurrent polyploidy in *Tragopogon* (*Asteraceae*): cytogenetic, genomic and genetic comparisons. **Biological Journal of the Linnean Society**, 82: 485–501, 2004.

SOUZA, M. G. C.; BENKO-ISEPPON, A. M. Cytogenetics and banding patterns on *Caesalpinioideae* and *Papilionioideae* native from Pará, Amazonas, Brasil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, Londres, v. 144, n. 1, p. 181-191, 2004.

STEBBINS, G. L. Chromosomal evolution in higher plants. London: Edward Arnold, 1971.

STEDJE, B. Chromosome evolution within the *Ornithogalum tenuifolium* complex (*Hyacinthaceae*), with special emphasis on the bimodal karyotypes. **Plant Systematic and Evolution**, v.166, p.79-89, 1989.

STEVENS, P. F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 9, June 2008 [and more or less continuously updated since]." <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.

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

SUMNER, A.T. **Chromosomes: Organization and Function**. Blackwell Publishing Limited, 2003, 304 p.

SYBENGA, J. **Cytogenetics in plant breeding**. New York: Springer-Verlag, 1992. 469p.

TALAVERA, S.; ORTIZ, P. L.; ARISTA, M.; BASTIDA, Y. F. Estudio cariosistemático de algunas monocotiledóneas bulbosas de Marruecos. **Lagascalia**, v.18, p.83-104, 1995.

WAHLSTROM, R.; LAANE, M. M Chromosome analyses in African *Crinum* species (*Amaryllidaceae*). **Hereditas**, v.91, p.183-206, 1989.

ZHANHE, J. MEEROW, A. W. AMARYLLIDACEAE. **Flora of China** 24: 264–273, 2001.

Tabela 1. Números cromossômicos em espécies de *Zephyranthes* registrados na literatura

Espécies	Mitose	Meiose	Índice	Material Referido
<i>Z. ackermannia</i> M. Roem.	36		Fedorov (1974)	Flag, Flory (1962)
<i>Z. ajax</i> Spreng.	42		Fedorov (1974)	Tandon, Kapoor 1961
	≈43,44			Flory 1940b, 1941, 1943
	48			Tandon, Meenakshi 1965
.	48		Index 1990-1991	Vijayavalli & Mathew, 1990c
<i>Z. albiella</i> Traub	18		Fedorov (1974)	Flag, Fory 1962
<i>Z. atamasco</i> (L.) Herb.	24		Fedorov (1974)	Flory 1940b, 1943
<i>Z. bifolia</i> (Aublet) Roem.	60		Fedorov (1974)	Flory 1959a
	60		Index 1975-1978	Flory et al. 1976
<i>Z. bakeriana</i> Morong	12		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
<i>Z. brasiliensis</i> Traub	69+B		Fedorov (1974)	Traub 1963
	49, 49+		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
,	1B			
<i>Z. brazosensis</i> Traub	49,55-59		Fedorov (1974)	Coe 1954
	72		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
<i>Z. candida</i> Herb.	36		Fedorov (1974)	Hosono (Kihara et al. 1931)
	38			Nagao S., Takusagawa 1932
				Inariyama 1937
				Satô D. 1938, 1942
				Flory 194b, 1943
				Yokouchi 1963
	40			Tandon, Meenakshi 1965
	26			Delay 1947
	38		Index 1975-1978	Mehra & Sachdeva 1976b
	24, 36, 38,		Index 1986-1987	Nandi 1973
	42, 49			
	32, 38, 40	18+1S	Index 1996-1997	Devi & Borua, 1996
	38			Ma, Y. et al., 1997
	48		Index 2000-2003	Zemskova&Sveshnikova, 1999
<i>Z. cardinalis</i> C.H. Wright	≈ 66		Fedorov (1974)	Flagg, Flory 1962
<i>Z. carinata</i> Herb.	46		Fedorov (1974)	Nagao S., Takusagawa 1932
	48			Inaryama 1937, Flory 1941, 1943, 1959 ^a , Yokouchi 1964.
	48		Index 1975-1978	Mehra & Sachdeva 1976b
<i>Z. citiana</i> Baker	47		Index 1990-1991	González et al., 1980
<i>Z. citrina</i> Baker,	48		Fedorov (1974)	Flory 1959 ^a , Flagg, Flory 1962.
	48		Index 2000-2003	Randha et al., 2003
<i>Z. clintiae</i> Traub	48		Fedorov (1974)	Flagg 1960
<i>Z. chlorosolen</i> (Herb) Dietr.	72 + 1B		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
<i>Z. concolor</i> (Lindl.) Benth. & Hook. f.	110		Index 1988-1989	Palomino & Santiago 1988
<i>Z. drummondii</i> D. Don	48		Fedorov (1974)	Coe 1954, Flagg, Flory 1962.
<i>Z. filifolia</i> Herb. Ex kranzlin	53		Index 1975-1978	Naranjo 1974

Tabela 2. Continuação...

Espécies	Mitose	Meiose	Índice	Material Referido
<i>Z. fosteri</i> Traub	48		Fedorov (1974)	Flagg, Flory 1962
<i>Z. flava</i> (Lindl.) Herb.	28,42,48		Index 2000-2003	Thoibi Devi&Boura, 1997
<i>Z. grandiflora</i> Lindl.	24		Fedorov (1974)	Tandon, Kapoor, 1961, Kapoor, Tandon 1964b Kapoor, Tandon 1963b Tandon, Meenakshi 1965 Coe 1954
	24,36			
	24,48			
	48			
	67 + 1B		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
	48		Index 1988-1989	Sveshnikova & Zemskova 1988
	23		Index 1990-1991	Vijayavalli & Mathew, 1990c
	24		Index 1996-1997	Devi & Borua, 1997
<i>Z. herbertiana</i> D. Diertr.	48		Fedorov (1974)	Flagg, Flory 1962
	48, 60, 68, 72		Index 1975-1978	Flagg & Flory 1976
<i>Z. insularum</i> Hume ex Moldenke	28		Fedorov (1974)	Flory 1959 ^{a, b} , Flagg, Flory 1962
<i>Z. jonesii</i> (Cory) Traub	48, 72		Index 1975-1978	Flagg & Flory 1976
	24		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
<i>Z. kurtzii</i> A.T. Hunz. & Coc.	12		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
<i>Z. lancasteri</i> Traub	48		Fedorov (1974)	Kapoor, Tandon 1964b, Tandon, Meenakshi 1965
<i>Z. lindleyana</i> Herb.	24		Fedorov (1974)	Satô D. 1938, 1942 Flory 1943.
	48			Fernandes A. 1929 - 1930,1931, Flagg, Flory 1962
	~99			La Cour (D. 1955)
<i>Z. longifolia</i> Hemsl.	46		Fedorov (1974)	Flory 1940b, 1943 Coe 1954
	48(24,44- 50)			
<i>Z. macrosiphon</i> Baker	46		Fedorov (1974)	Flory 1941
	46, ~48			Flory 1943
	48			Flagg, Flory 1962
	48		Index 1988-1989	Sveshnikova & Zemskova 1988
<i>Z. mesochloa</i> Herb	48		Fedorov (1974)	Sharma A. K., Ghosh 1954b, Sharma A. K. 1956a
	24		Index 1975-1978	Batacharyya 1972
	12 + 1B		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
<i>Z. aff. mesochloa</i> Herb	12	6Gam	Index 1988-1989	Daviña & Fernández 1989
	48		Index 1990-1991	Vijayavalli & Mathew, 1990c
<i>Z. minima</i> Herb.	20, 21		Index 1975-1978	Naranjo 1974
<i>Z. nervosa</i> (H. B. K.) Herb.	24		Fedorov (1974)	Flory 19959a,b Flagg, Flory 1962

Tabela 2. Continuação...

Espécies	Mitose	Meiose	Índice	Material Referido
<i>Z. puertorciensis</i> Traub	25		Fedorov (1974)	Flory 1995b Flagg, Flory 1962
	26		Index 1990-1991	González et al., 1980
<i>Z. pulchella</i> J. G. Smith	48		Fedorov (1974)	Flory 1940b, 1943
	48		Index 1975-1978	Flagg & Flory 1976
	48		Index 1988-1989	Sveshnikova & Zemskova 1988
<i>Z. refugiensis</i> Jones	48		Fedorov (1974)	Jones F. B. 1961
	46, 48		Index 1975-1978	Flagg & Flory 1976
<i>Z. robusta</i> Baker,	12		Fedorov (1974)	Flory 1937b Sato D. 1938, 1942, Sharma A. K., Ghosh 1954b
<i>Z. rosea</i> Lindl.	24		Fedorov (1974)	Sharma A. K., Ghosh 1954b, Flory 1959a, Flagg, Flory 1962
	24		Index 1986-1987	Nandi 1973
	48		Index 1988-1989	Sveshnikova & Zemskova 1988
	24		Index 1990-1991	Vijayavalli & Mathew, 1990c
	27			González et al., 1980
	48		Index 2000-2003	Zemskova&Sveshnikova, 1999
<i>Z. sessilis</i> Herbert.	48		Index 1988-1989	Sveshnikova & Zemskova 1988
<i>Z. simpsonii</i> Chapman	48		Fedorov (1974)	Flory 1940b, 1943
<i>Z. smallii</i> (Alex.) Traub	53, 54, 58, 70, 72		Index 1975-1978	Flagg & Flory 1976
	24		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
<i>Zephyranthes</i> sp.1	30, 31	15Gam	Index 1988-1989	Daviña & Fernández 1989
<i>Zephyranthes</i> sp.2	40		Index 1988-1989	Daviña & Fernández 1989
<i>Zephyranthes</i> sp.3	50	25Gam	Index 1988-1989	Daviña & Fernández 1989
<i>Z. stellaris</i> Rav.	20		Index 1986-1987	Greizerstein & Naranjo 1987
	20			
<i>Z. aff. stellaris</i> Rav.			Index 1988-1989	Daviña & Fernández 1989
<i>Z. taubertii</i> Harms,	12		Fedorov (1974)	Satô D. 1938, 1942, Sharma A. K., Ghosh 1954b,
<i>Z. texana</i> Herb.	24		Fedorov (1974)	Pace 1913, Sato D. 1938, 1942
<i>Z. traubii</i> (Hayward)	24		Fedorov (1974)	Coe 1954, Flagg, Flory 1962
	24	12Gam	Index 1975-1978	Flagg & Flory 1976
<i>Z. treatiae</i> S. Wats.	24		Fedorov (1974)	Flory 1969
	12		Index 1988-1989	Sveshnikova & Zemskova 1988
<i>Z. tubispatha</i> Herb.	24		Fedorov (1974)	Tandon, Meenakshi 1965
	24			Flory 1941, 1943, 1958
	24		Index 1979-1981	Lakshmi 1980
<i>Z. verecunda</i> Herb.	22		Fedorov (1974)	Sharma A. K., Jash 1958
	24			La Cour 1952 (D. 1955)
	48			Flory (Flagg 1960)

4. Anexos



■ *Amaryllidaceae*

a



■ *Zephyranthes*

■ *Zephyranthes e Habranthus*

b

Figura 1. a) Mapa com a distribuição da família Amaryllidaceae no globo terrestre. b) Distribuição dos gêneros *Zephyranthes* e *Habranthus*. Adaptado de OLIVEIRA (2006).

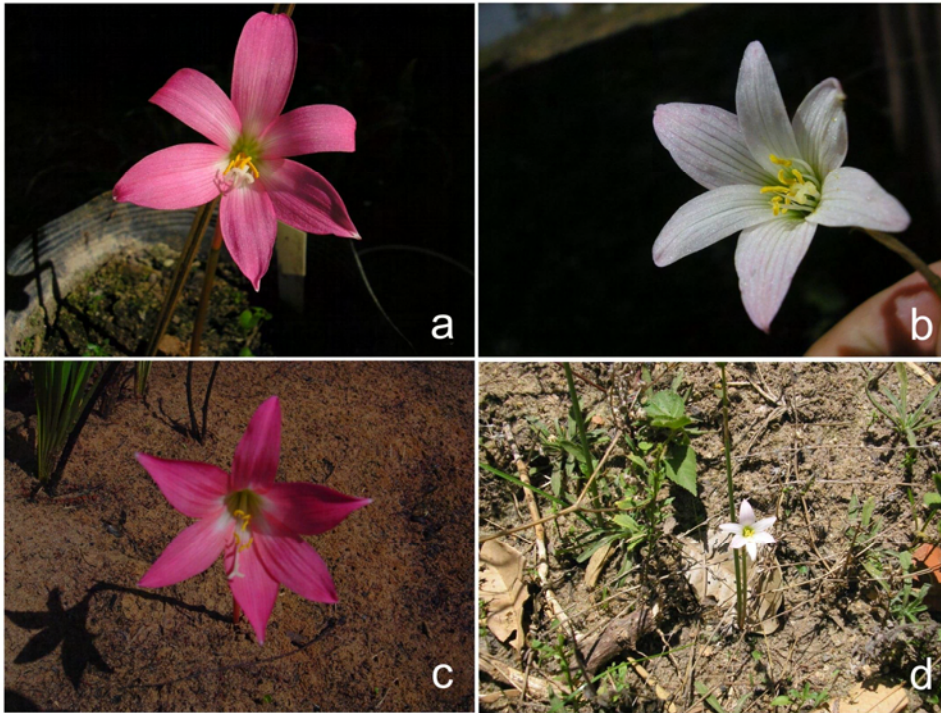


Figura 2. a-d) Detalhes das Flores de *Zephyranthes* e *Habranthus*. *Z. sylvatica* (a-b) e *H. itaobinus* (c-d).

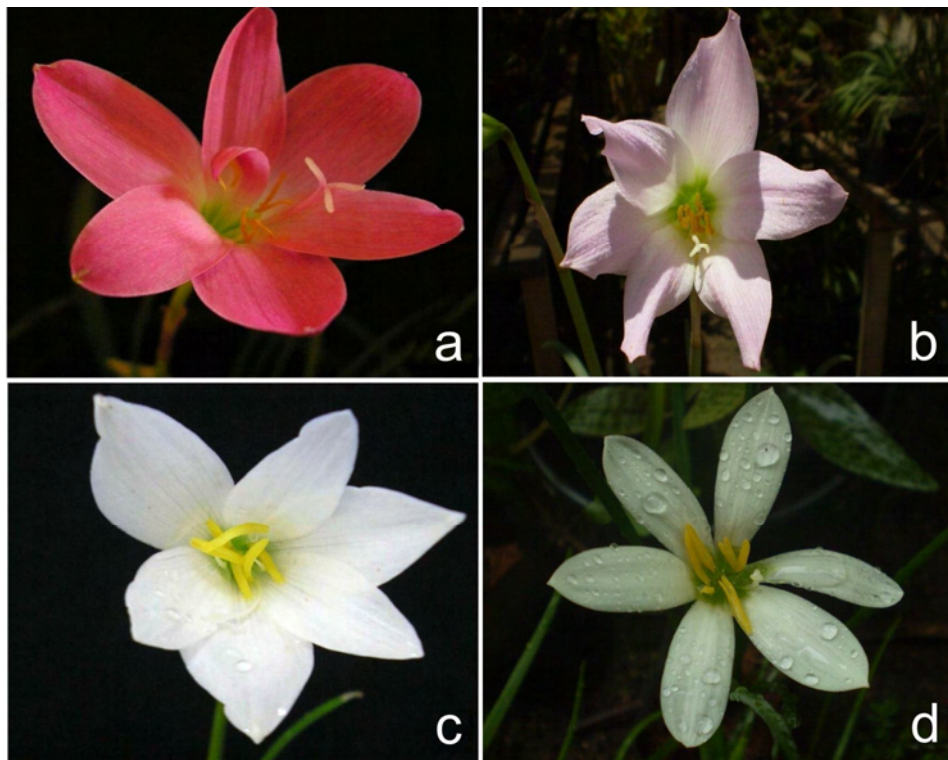


Figura 3. Detalhes das Flores de espécies de *Zephyranthes*. *Z. rosea* (a); *Z. grandiflora* (b); *Z. aff. rosea* (c); *Z. candida* (d).

**Caracterização citogenética de espécies do gênero *Zephyranthes* Herb.
(Amaryllidaceae – Hipeastreae).**

Winston José Pessoa Felix⁽¹⁾, Leonardo Pessoa Felix⁽²⁾; Nataniel Franklin de Melo⁽³⁾; Julie H. A. Dutilh⁽⁴⁾ e Reginaldo de Carvalho⁽¹⁾.

⁽¹⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, PE - Recife, Brasil, CEP.52171-900. E-mail: winstonpessoa@yahoo.com.br, reginaldo.ufrpe@gmail.com

⁽²⁾ Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Areia, PB, Brasil CEP. 58397-000. E-mail: lpfelix@hotmail.com

⁽³⁾ Laboratório de Biotecnologia - Embrapa Semi-Árido – BR 428, Km 152 – Zona Rural – Caixa Postal 23 – Petrolina, PE – Brasil – CEP. 56302-970. E-mail: nataniel@cpatsa.embrapa.br

⁽⁴⁾ Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Caixa Postal 6109, Campinas, SP, Brasil, CEP. 13084-971. E-mail: capitani@unicamp.br

Resumo- O presente trabalho consistiu no estudo de caracterização cromossômica estrutural e numérica das espécies do gênero *Zephyranthes* Herb. comumente cultivadas como ornamentais, incluindo as únicas espécies nativas descritas para Região Nordeste do Brasil, *Zephyranthes sylvatica* Back e *Habranthus itaobinus* Ravena. Todos os indivíduos apresentaram núcleo interfásico reticulado ou semi-reticulado e cariótipo formando por um conjunto de cromossomos metacêntricos, além de cromossomos submetacêntricos e acrocêntricos. Em *Zephyranthes robusta*, foram observadas nas células somáticas $2n=12$ e fórmula cariotípica $4M+2SM$, representando o cariótipo mais simétrico entre as espécies. *Z. sylvatica* apresentou complementos cromossômicos formados por $2n=12$ sendo $1M+5SM$, $2n=13$ sendo $1M+5SM+(B)SM$ e $2n=18$ formadas por trincas sendo $1M+5SM$. A espécie cultivada *Zephyranthes rosea* Lindl., apresentou $2n=24$, sendo $4M+7SM+1A$. *Zephyranthes grandiflora* Lindl., apresentou a mesma contagem cromossômica da anterior, sendo que foram observados $2M+5SM+5A$. *Zephyranthes aff. rosea* Lindl., apresentou $2n=25$, sendo $4M+7SM+1A$. Além disso, pode-se observar a presença de trissomia no par quatro metacêntrico. Em *Zephyranthes brachyandra*, foram observadas células com $2n=26$ e fórmula cariotípica $4M+7S+2A$. *Zephyranthes candida* Herb., apresentou $2n=38$ e fórmula $9M+5SM+5A$. Em *H. itaobinus* observou-se variação numérica nas contagens, sendo que a maioria das populações apresentou complemento cromossômico formado por $2n=45$, sendo $5M+12SM+5A+(B)M$ e em uma única população a espécie apresentou cariótipo com $2n=44$, $6M+12SM+5A+3(B)M$. São discutidos os mecanismos envolvidos na formação desses cariótipos, a partir dos dados de assimetria cromossômica. No seu conjunto, os dados do presente trabalho, confirmam apenas parcialmente contagens prévias para os epítetos, e aumenta ainda mais a variabilidade cariológica anteriormente registrada para o gênero.

Termos para indexação: Assimetria cromossômica, Cromossomo B e Variabilidade Cariológica.

Abstract — This work consisted of studying the structural and numerical chromosomal characterization of species from the genus *Zephyranthes* commonly cultivated as ornamentals, including the only native species found in the Northeast of Brazil: *Zephyranthes sylvatica* Back *Habranthus itaobinus* Ravenna. All individuals presented reticulated or semi-reticulated interphased nucleus and karyotype formed by a set of metacentric chromosomes, in addition to submetacentric and acrocentric ones. In *Zephyranthes robusta*, $2n = 12$ and karyotypic formula $4M + 2 SM$ were observed in the somatic cells, representing the most symmetrical karyotype among species. *Z. sylvatica* presented chromosome complements formed by $2n = 12$ being $1M + 5 SM$, $2n = 13$ being $1M + 5 SM + (B) SM$ and $2n = 18$ formed by cracks being $1M + 5 SM$. The cultivated species *Zephyranthes rosea* Lindl. presented $2n = 24$, with $4M + 7 SM + 1A$. *Zephyranthes grandiflora* Lindl. presented the same chromosome count of the previous one, being observed $2M + 5SM + 5A$. *Zephyranthes aff. rosea* Lindl., presented $2n = 25$, being $4M + 7 SM + 1A$. Moreover, it can be observed the presence of trisomy in fourth metacentric pair. In *Zephyranthes brachyandra*, cells were observed with $2n = 26$ and karyotypic formula $4M + 7 S + 2 A$. *Zephyranthes candida* Herb., presented $2n = 38$ and formula $9M + 5 SM + 5A$. In *H. itaobinus* there was numeric variation in counts, with most of populations presenting chromosome complement formed by $2n = 45$, being $5M + 12 SM + 5 A + (B) M$ and a single population, the species presented karyotype with $2n = 44$, $6M + 12SM + 5 A + 3 (B) M$. Mechanisms involved in these karyotypes formation are discussed from chromosomal imbalance data. Altogether, data in present work, partially confirm counts prior to the epithets, and further increases the karyological variability previously reported for the genus.

Index terms: - chromosome symmetry, B chromosome and karyological variability.

Introdução

O gênero *Zephyranthes* compreende aproximadamente 65 espécies de distribuição neotropical (HUTHCHINSON, 1959; JUDD *et al.*, 1999), das quais, 36 são reconhecidas para o Brasil. Muitas delas são bastante apreciadas como ornamentais, apresentando flores relativamente pequenas e de ciclo curto (LORENZI & SOUZA, 1999). Algumas delas, como *Z. grandiflora*, são utilizadas em tratamentos fitoterápicos (KAI *et al.*, 2006) espécies como *Z. candida*, *Z. atamasco* e outras utilizadas como ornamentais, são doadoras de genes de resistência para afídeos e homóptera (PANG *et al.*, 2004).

É um grupo cariológicamente variável, com números cromossômicos desde $2n=10$, em *Zephyranthes seubertii* E. P. Hume (DAVIÑA, 2001), até $2n=ca. 200$ em um híbrido horticultural (FLORY & SMITH, 1980a). Apresenta registro cromossômico para cerca de cinquenta espécies, sendo comum ocorrência de espécies numericamente instáveis, o que pode influenciar o seu fenótipo (COE, 1954). Espécies como *Z. candida* com $2n=38, 40$, e 41 (RAINA & KHOSHOO, 1971) e *Zephyranthes selberti* da Argentina com $2n=10, 20, 30$ e 40 (DAVIÑA & FERNANDEZ, 1989), exemplificam essa variabilidade. Além disso, em várias espécies, é comum a existência de heteromorfismos cromossômicos nos cariótipos decorrentes de alterações estruturais (RAINA & KHOSHOO, 1971; FELIX *et al.*, 2008). A variabilidade cariológica no gênero tem sugerido a existência de três números básicos primários: $x = 5$, $x=6$ e $x=7$ (NARANJO, 1974; DAVIÑA & FERNANDEZ, 1989). A maioria das espécies apresenta cariótipos formados por um ou poucos pares metacêntricos longos e os demais menores, com centrômeros medianos, submedianos, subterminais e terminais (FLORY, 1977).

Zephyranthes candida, *Z. grandiflora*, *Z. robusta*, *Z. rosea*, *Z. brachyandra* e são espécies cultivadas no Brasil, com um grande potencial ornamental (DUTILH, 2005). As três primeiras são nativas das regiões Sul e Sudeste do Brasil, enquanto *Z. rosea* é considerada nativa da América Central e do Caribe, mas é espontânea no Sul e Sudeste do Brasil e *Z. brachyandra* ocorre na Argentina. *Z. candida* é uma espécie numericamente variável, com registros cariológicos desde $2n=24$ a $2n=49$, atualmente restritos a populações da Argentina (DAVIÑA, 2001) ou cultivadas. *Z. rosea* e *Z. grandiflora*, são menos variáveis e têm eventos de poliploidia e aneuploidia relacionados a evolução de seus cariótipos (DAVIÑA, 2001). Já *Z. robusta* e *Z. brachyandra* são numericamente estáveis, com registros de $2n=12$ e 24 , respectivamente. O gênero é representado na Região Nordeste por uma única espécie, *Z. sylvatica*, além de *Habranthus bahiensis* Ravena e *H. itaobinus* Ravena (DUTILH, 2006;

OLIVEIRA, 2006; ALVES-ARAÚJO, 2007), estas duas últimas geralmente incluídas nos limites genéricos de *Zephyranthes* (Dutilh, comunicação pessoal). Para *H. bahiensis* e *H. itaobinus*, não são conhecidos registros cariológicos prévios e para *Z. sylvatica*, foi realizado recentemente um estudo cariotípico, onde observou-se a ocorrência de citotipos com $2n=12$, 13 e 18 em uma única população (FELIX *et al.*, 2008).

O presente trabalho teve como objetivo caracterizar o cariótipo de seis espécies cultivadas de *Zephyranthes* (*Z. candida*, *Z. grandiflora*, *Z. robusta*, *Z. rosea*, *Z. aff. rosea* e *Z. brachyandra*), através de coloração convencional, comparando-os com dados prévios da literatura. Além desses, são descritos os cariótipos de várias populações de duas espécies nativas da Região Nordeste do Brasil (*Z. sylvatica* e *Habranthus itaobinus*), visando comparar estes dados entre si e com informações prévias da literatura, buscando identificar variações numéricas e estruturais envolvidas na formação e manutenção desses cariótipos.

Material e Método

Das espécies cultivadas, *Z. rosea* e *Z. aff. rosea*, foram obtidas em jardins domésticos nas cidades de Areia, Estado da Paraíba e Belém, Estado do Pará, enquanto *Z. grandiflora* foi coletada de uma população espontânea no Jardim Botânico de São Paulo. *Z. rosea* apresenta flores vermelho-claras a róseas, bem abertas com tubo curto, estames eretos, todos de um mesmo tamanho e estilete declinado, enquanto *Z. aff. rosea* difere da primeira por apresentar flores de coloração branca e tépalas mais largas. *Z. grandiflora*, tem flores com lilás-claras e *Z. candida* possui flores brancas, eretas e folhas semi-cilíndricas. *Z. robusta* e *Z. brachyandra* foram obtidas de plantas cultivadas no Instituto Agrônomo de Campinas, São Paulo, enquanto *Z. candida* foi gentilmente cedida por um colecionador particular. As duas espécies nativas da Região Nordeste, foram coletadas no campo em várias populações. A tabela 1 sumariza os dados de campo e as principais características dos cariótipos de todas as espécies estudadas. Todo o material foi cultivado no jardim experimental do laboratório de citogenética vegetal do Centro de Ciências Agrárias (CCA) da Universidade Federal da Paraíba (UFPB). Materiais testemunhos foram herborizados e incorporados ao acervo do Herbário Prof. Jayme Coelho de Moraes (EAN) do CCA/UFPB.

Para as análises citológicas foram utilizadas pontas de raízes jovens pré-tratadas durante 4-8h com 8-hidroxiquinoleína 0,002 M, posteriormente fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético glacial) durante 3 a 24 horas e estocadas em freezer até posterior análise. As raízes foram inicialmente lavadas duas vezes por 5 minutos em água destilada à temperatura

ambiente, hidrolisadas por 20 minutos em ácido clorídrico 5N, esmagadas em ácido acético 45%, congeladas em nitrogênio líquido para remoção da lamínula e coradas convencionalmente com Giemsa 2% (GUERRA, 1983). Para contagem e identificação da morfologia cromossômica, apenas as células fechadas, e cromossomos com centrômero claramente visível, foram consideradas, contadas e tirada as medias dos tamanhos.

Para identificar a posição do centrômero foi adotada a terminologia sugerida por Guerra (1986): Metacêntrico (M), Submetacêntrico (SM), Acrocêntrico (A) e Telocêntrico (T), definida numericamente pela razão de braços (r), obtida a partir da relação entre o braço longo (l) e o braço curto (c) e pelo índice centromérico (ic). A assimetria do cariótipo foi estimada, a partir da classificação de Stebbins (1971) e dos índices de Romero Zarco (1986) com base em medições de três células bem espalhadas. Foram tomadas medidas do comprimento cromossômico total (TCL), comprimento cromossômico médio (CL), calculado o índice centromérico médio (CI) e a razão entre o maior e o menor cromossomo (R).

Resultados

Todas as espécies apresentaram células com núcleos interfásicos reticulados e semirreticulados e cariótipo formado por um conjunto de cromossomos metacêntricos a submetacêntricos e por um número menor de cromossomos acrocêntricos, com redução gradual no tamanho e na morfologia cromossômica. Entretanto, diferentes espécies tiveram fórmulas cariotípicas distintas, embora, algumas vezes, tenham coincidido em relação ao nível de ploidia.

Em *Zephyranthes robusta*, foram observadas células somáticas com $2n=12$ e fórmula cariotípica 4M, 2SM (Tabela 1, Figura 1 a-b). Os pares metacêntricos mediram em media $17,7\mu\text{m}$ no par maior e $14,43\mu\text{m}$ nos pares menores, os submetacêntricos variaram gradativamente de tamanho, desde $13,75$ a $11,1\mu\text{m}$. A espécie apresentou comprimento cromossômico total de $169,02\mu\text{m}$, comprimento cromossômico médio de $14,08\mu\text{m}$, razão do maior para o menor cromossomo de 1,67 vezes e um índice centromérico equivalente a 39,93%, com assimetria intracromossômica de 0,31 e intercromossômica de 0,13. A espécie foi incluída na categoria 2B da classificação de Stebbins (1971), que corresponde a cariótipos simétricos.

Em *Zephyranthes sylvatica* foi confirmada a ocorrência de três citotipos, com $2n=12$, $12+1B$ e 18 em uma análise de 48 indivíduos de Petrolina, estado de Pernambuco (FELIX *et*

al., 2008). Todavia, em três indivíduos de Pariconha, foram observados sempre $2n=12$. No citotipo com $2n=12$, o par metacêntrico foi heteromórfico com $14\mu\text{m}$ no cromossomo maior e $12\mu\text{m}$ no menor, Os pares submetacêntricos variaram gradativamente de tamanho, de 10 a $6\mu\text{m}$. Esses indivíduos apresentaram comprimento cromossômico total de $107,61\mu\text{m}$, comprimento cromossômico médio de $8,96\mu\text{m}$, razão do maior para o menor cromossomo de 2,25 vezes e um índice centromérico equivalente a 31,82%, com assimetria intracromossômica de 0,50 e intercromossômica de 0,45, incluída na categoria 2B da classificação de Stebbins (1971). Nos citotipos com $2n=13$ e $2n=18$, as características do cariótipo foram idênticas aquelas observadas no citotipo diplóide normal, exceto pela presença de um pequeno cromossomo B metacêntrico medindo $4\mu\text{m}$ e pela formação de trincas ligeiramente heteromórficas para o tamanho cromossômico, no triplóide (Tabela 1, Figuras 1a-f).

Em *Zephyranthes rosea*, foram observadas células somáticas com $2n=24$ e fórmula cariotípica 4M, 7SM, 1A (Tabela 1, Figura 1 a-b). Os pares metacêntricos mediram em média $7,7\mu\text{m}$ no par maior e 5,6 a $4\mu\text{m}$ nos pares menores, os submetacêntricos variaram gradativamente de tamanho, desde 6 a $3,5\mu\text{m}$ e o acrocêntrico, cerca de $5,0\mu\text{m}$. A espécie apresentou comprimento cromossômico total de $113,6\mu\text{m}$, comprimento cromossômico médio de $4,73\mu\text{m}$, razão do maior para o menor cromossomo de 1,8 vezes e um índice centromérico equivalente a 40,41%, com assimetria intracromossômica de 0,38 e intercromossômica de 0,22. A espécie foi incluída na categoria 2B da classificação de Stebbins (1971), que corresponde a cariótipos relativamente simétricos.

Zephyranthes aff. rosea apresentou células somáticas com $2n=25$ e cariótipo formado por quatro pares metacêntricos, cinco submetacêntricos e três pares acrocêntricos. Os quatro primeiros pares mediram $10,4\mu\text{m}$ no par maior e 5,6 a $3,8\mu\text{m}$ nos cromossomos menores, estes últimos formando provavelmente um conjunto trissômico morfologicamente idêntico. O conjunto de cromossomos submetacêntricos foi formado por dois pares maiores ($8,8$ e $8,4\mu\text{m}$, respectivamente) e três menores ($6,8$ a $5,7\mu\text{m}$). A espécie apresentou $164,23\mu\text{m}$ de comprimento cromossômico total, $6,56\mu\text{m}$ de comprimento cromossômico médio; razão do maior para o menor cromossomo de 2,5 vezes e um índice centromérico de 35,44%. A assimetria intracromossômica foi de 0,40 enquanto o valor da assimetria intercromossômica foi de 0,23, incluída na categoria 2B da classificação de Stebbins (1971).

Em *Zephyranthes grandiflora*, também foram observadas células somáticas com $2n=24$, porém cariótipo com dois pares metacêntricos, cinco submetacêntricos e cinco pares acrocêntricos (Figura 1 c-d). Os dois pares metacêntricos mediram em média de $10,25$ a

9,08 μ m, os submetacêntricos de 7,45 a 4,42 μ m e os acrocêntricos, de 6,8 a 4,8 μ m. A espécie apresentou comprimento cromossômico total de 154,11 μ m, comprimento cromossômico médio de 6,42 μ m, razão do maior para o menor cromossomo de 2,66 vezes e um índice centromérico equivalente a 32,56%, com assimetria intracromossômica de 0,38 e intercromossômica de 0,36. A espécie foi incluída na categoria 2B da classificação de Stebbins (1971), que corresponde a cariótipos relativamente simétricos.

Em *Zephyranthes brachyandra*, foram observadas células somáticas com $2n=26$ e fórmula cariotípica 4M, 3SM, 5A + 1B SM (Tabela 1, Figura 3 a e c), com um par de satélites observado nos braços curtos do par acrocêntrico 11. Os pares metacêntricos mediram em média 7,7 μ m no par maior e 5,6 a 4 μ m nos pares menores, os submetacêntricos variaram gradativamente de tamanho, desde 6 a 5 μ m, o acrocêntrico, cerca de 5,0 μ m e o B, 3 μ m. A espécie apresentou comprimento cromossômico total de 113,6 μ m, comprimento cromossômico médio de 4,73 μ m, razão do maior para o menor cromossomo de 1,8 vezes e um índice centromérico equivalente a 40,41%, com assimetria intracromossômica de 0,38 e intercromossômica de 0,21. A espécie foi incluída na categoria 2C da classificação de Stebbins (1971), que corresponde a cariótipos relativamente simétricos.

Em *Zephyranthes candida*, foram observadas células somáticas com $2n=38$ e cariótipo com nove pares metacêntricos e, dez submetacêntricos (Figura 2 g-h). Os nove primeiros mediram em média de 5,91 a 3,28 μ m, enquanto os pares submetacêntricos variaram gradativamente de tamanho, desde 6,9 a 3,1 μ m. A espécie apresentou comprimento cromossômico total de 155,26 μ m, comprimento cromossômico médio de 4,31 μ m, razão do maior para o menor cromossomo de 2,16 vezes e um índice centromérico equivalente a 42,13%, com assimetria intracromossômica de 0,27 e intercromossômica de 0,16 e foi incluída na categoria 2A da classificação de Stebbins (1971).

Para *Habranthus itaobinus*, seis populações apresentaram $2n = 44 + 1B$, com cinco pares metacêntricos, doze submetacêntricos e cinco pares acrocêntricos (Figura 4 a-c), em todos os indivíduos analisados. Os pares metacêntricos mediram 19 a 10 μ m nos três maiores e 9 a 5 μ m no metacêntrico menor, os pares submetacêntricos variaram de 9 a 4 μ m, os acrocêntricos de 6 a 3 μ m e o cromossomo supranumerário, 2 μ m, com comprimento cromossômico total de 386,23 μ m, comprimento cromossômico médio de 5,26 μ m, razão do maior para o menor cromossomo de 5,08 vezes e um índice centromérico equivalente a 34,31%, com assimetria intracromossômica de 0,44 e intercromossômica de 0,25. A espécie foi incluída na categoria 2B da classificação de Stebbins (1971). Para esta espécie, uma única

população (Carnaúba dos Dantas, RN), apresentou cariótipo com $2n=44+3Bs$ em todos os quatro indivíduos estudados e fórmula cariotípica idêntica às demais populações, exceto pelo número maior de Bs metacêntricos com $2\mu\text{m}$. Essas populações apresentaram comprimento cromossômico total de $399,32\mu\text{m}$, comprimento cromossômico médio de $8,49\mu\text{m}$, razão do maior para o menor cromossomo de 6,14 vezes e um índice centromérico equivalente a 35,83%, com assimetria intracromossômica de 0,43 e intercromossômica de 0,24. A espécie também foi incluída na categoria 2B da classificação de Stebbins (1971).

Discussão

Todas as espécies com dados cariológicos prévios, tiveram seus números cromossômicos confirmados apenas parcialmente, exceto *Z. robusta* que teve a única contagem prévia de $2n=12$ confirmada (DA) e *Z. brachyandra*, com $2n=24+1B$, que divergiu da única contagem prévia para a espécie de $2n=24$ (DAVIÑA, 2001). Os dois cariótipos foram notavelmente similares, divergindo basicamente pela presença, na população brasileira, de um cromossomo supranumerário. Estudando a meiose em populações da Argentina dessa espécie, Daviña (2001) observou irregularidades em sua meiose, como a ocorrência de cromossomos retardatários e pontes anafásicas. Em *Z. sylvatica*, apenas a população de Petrolina, Pernambuco, que já havia sido previamente estudada apresentou citotipos com cromossomos supra-numerários e indivíduos triplóides. A outra população estudada, do estado de Alagoas, apresentou $2n=12$ em todos os indivíduos. Essa discrepância pode ser devida ao reduzido número de indivíduos estudados (seis), quando comparados aos 48 indivíduos de Petrolina, indicando que o citotipo diplóide tem mais sucesso adaptativo às condições locais. Nesta espécie, os indivíduos com $2n=18$ não apresentaram diferenças morfológicas claras em relação aos diplóides, indicando uma origem autotriplóide para esses indivíduos. Autopoliplóides são geralmente originados pela formação acidental de gametas não reduzidos, os quais após fecundarem gametas normais originariam as formas triplóides (STEBBINS, 1971; GRANT, 1989; BRETAGNOLLE & THOMPSON, 1995). A ocorrência de três indivíduos triplóides parece indicar que autotriplóides sejam relativamente frequentes nessa população. A esterilidade nesses híbridos poderia ser contornada através de produção agâmica de sementes como em *Z. brasiliensis* Traub (GREIZERTEIN & NARANJO, 1987). Em *Nothoscordum gracile* (Aiton) Stearn (como *N. fragrans*) (Alliaceae), um heterozigoto estrutural com $2n=19$, a esterilidade tem sido contornada pela extensa propagação através da produção conjunta de embriões adventícios e de embriões sexuais (DYER, 1967). Embora a

autopoliploidia seja tradicionalmente considerada rara na natureza (GRANT, 1989), dados indicam que esse evento parecem ser mais freqüentes (SOLTIS *et al.*, 1999), e com uma importância maior para a evolução cariológica das plantas em geral, do que comumente se supunha (ver STEBBINS, 1971; GRANT, 1989).

Cromossomos Bs em *Zephyranthes*

Entre as espécies estudadas, cromossomos Bs foram observados em *Z. sylvatica*, *Z. brachyandra* e *Habranthus itaobinus*, embora a distribuição desses cromossomos supranumerários entre os indivíduos de uma mesma população tenha mostrado diferentes padrões entre essas espécies. Em *Z. sylvatica*, de um total de 48 indivíduos, apenas cinco foram portadores de um cromossomo B, enquanto em *H. itaobinus*, todos os 76 indivíduos de seis populações estudadas portaram um cromossomo supra-numerário, enquanto na população de Carnaúba dos Dantas, RN, todos os indivíduos apresentaram 3Bs. Em ambos os casos, os cromossomos supranumerários, foram ligeiramente heteropicnóticos em relação aos demais cromossomos do complemento. Já em *Z. brachyandra*, o cromossomo B ocorreu em oito indivíduos cultivados. Cromossomos Bs apresentam três propriedades universais (JONES & HOUBEN, 2003; CAMACHO, 2000): 1), não são imprescindíveis à vida do hospedeiro; 2), São originários de cromossomos As da mesma ou de outra espécie; 3), são claramente diferenciados dos cromossomos As, com os quais não recombina. Essas características levaram diversos autores a considerarem Bs como genomas parasitas. Na presente amostra, o cromossomo B observado em *Z. sylvatica*, parece se encaixar perfeitamente na definição geral de cromossomos Bs, dada sua freqüência ocasional em uma única população. Contudo, em *H. itaobinus*, o cromossomo B parece ter alguma importância adaptativa, uma vez que todos os indivíduos estudados foram portadores de pelo menos um cromossomo acessório. Em *Allium schoenoprasum* (Alliaceae), uma família relacionada às Amaryllidaceae, a presença de um cromossomo B proporcionou uma melhora na germinação das sementes (PLOWMAN & BOUGOURD, 1994). Contudo, em algumas espécies onde os Bs são claramente parasíticos, sua manutenção no genoma e o aumento no seu número é obtido por deriva meiótica, onde ocorre uma segregação preferencial do B em uma das fases da meiose ou mitose de pólen (JONES & HOUBEN, 2003). A identificação de um único cromossomo B em poucos indivíduos de *Z. sylvatica* favorece a hipótese do cromossomo B parasítico, enquanto em *H.*

itaobinus, a persistente presença de um B em todos os indivíduos analisados dessa espécie, parece suportar a idéia de uma função adaptativa desse cromossomo.

O reconhecimento de cromossomos Bs algumas vezes é dificultado quando esses cromossomos ocorrem aos pares, como em *Brachycome dichromosomatica* da família Asteraceae, onde foi possível reconhecer dois pares de Bs utilizando sondas Bs específicas (HUOUBEN *et al.*, 1997). Em *Cestrum intermedium* (Solaceae), os cromossomos Bs exibiram grandes blocos heterocromáticos terminais, que não foram observados em cromossomos Bs de duas outras espécies (FREGONEZI *et al.*, 2004). Na presente amostra, os cromossomos Bs não apresentaram bandas heterocromáticas que permitissem uma diferenciação em relação aos demais cromossomos (dados não mostrados), mas a clara diferenciação de tamanho relativa aos demais cromossomos do complemento, facilita seu reconhecimento como cromossomos supranumerários.

Variação cromossômica numérica

Os gêneros *Zephyranthes* e *Habranthus* são bastante variáveis em termos de número cromossômico, sendo considerados gêneros polibásicos, com $x=5, 6$ e 7 , para o primeiro (DARLINGTON & WYLIE, 1955; DAVIÑA & FERNÁNDEZ, 1989) e $x=6, 7, 9, 11, 13$ e 15 , para o segundo (DARLINGTON & WYLIE, 1955; NARANJO, 1969). Na presente amostra, $x=6$ ocorreu em todas as espécies analisadas de *Zephyranthes*, sendo *Z. robusta* e *Z. sylvatica*, diplóides, *Z. rosea*, *Z. aff. rosea*, *Z. grandiflora* e *Z. brachyandra*, tetraplóides e *Z. candida*, com $2n=38$, um hexaplóide com disploidia ascendente. A única espécie cuja contagem cromossômica divergiu desse número básico, foi *Habranthus itaobinus*, um hexaplóide com $x=7$ com disploidia ascendente. Um aspecto interessante da variação cromossômica observada no presente trabalho ocorreu em *Z. aff. rosea* com $2n=25$, nesse caso um trissômico, um fenômeno freqüentemente observado em *Zephyranthes*. Em um estudo envolvendo 12 indivíduos de três diferentes populações norte-americanas de *Z. brazosensis*, foram observados $2n=48, 55, 56, 58$ e 59 (COE, 1954), enquanto em populações argentinas de *Z. grandiflora* também ocorreram $2n= 23, 24, 36, 48$ e $67+1B$ (GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987). Um exemplo extremo de variação numérica é observado em *Z. candida*, com registros de $2n=38$ (presente trabalho), $24, 36, 38, 39, 40, 41, 42$ e 49 (Tabela 1). Esses polimorfismos intra-específicos, muitas vezes são relacionados à existência de espécies crípticas resultantes de alterações numéricas ou estruturais levando a formação de barreiras de isolamento reprodutivo (GRANT, 1989). Em uma população da Argentina desta espécie, foi

observado $2n=38$ na maioria dos indivíduos, e $2n=39$ em três outros, devido à ocorrência de trissomia em um dos pares metacêntricos menores (NARANJO, 1969). Aneuploidias são geralmente consideradas deletérias, embora em *Z. aff. rosea* e nas populações argentinas de *Z. rosea*, essa trissomia aditiva parece ser pelo menos neutra para essas espécies. Indivíduos aneuplóides são geralmente estéreis pela formação de gametas desbalanceados na meiose. Em *Zephyranthes* e gêneros relacionados, é provável que citotipos aneuplóides sejam mantidos através da reprodução assexuada, como em *Z. texana*, uma espécie tetraplóide, onde a célula mãe do megásporo não sofre divisão reducional, originando diretamente um embrião apomítico (BROWN, 1951).

A grande variação cromossômica numérica observada em *Habranthus* e *Zephyranthes* dificulta o reconhecimento do número básico primário desses gêneros (FLORY, 1977). Todavia, uma análise rápida da variação cromossômica numérica observada na literatura (NARANJO, 1969; GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987; FLORY & SMITH, 1980a; DAVIÑA, 2001), fica claro que a maioria das espécies de *Zephyranthes* e *Habranthus* possui número básico primário $x=6$, sendo provável que variações displóides no estoque ancestral dessas espécies tenham originado números básicos secundários como $x=5, 6, 9, 11, 13$ e 15 . Além disso, a frequente ocorrência de números mais elevados nesse gênero, como observado no presente trabalho em *Z. grandiflora*, *Z. candida*, e *H. itaobinus* derivaram-se de números secundários mais elevados. De um ponto de vista estritamente cariológico, é difícil inferir relações filogenéticas entre as espécies desses dois gêneros, com base unicamente nos números e morfologia cromossômicas. Um estudo filogenético abrangendo um número representativo de espécies desses dois gêneros poderia contribuir para o entendimento evolução cariotípica nesse grupo de plantas.

Tamanhos cromossômicos, e formulas cariotípicas básica, constituem importantes instrumentos para compreensão da sistemática e filogenia em diversos grupos de plantas (BENNETT & LEITCH, 2005). No gênero *Lapeirousia* (Iridaceae), por exemplo, mecanismos de fusão cêntrica parece ter desempenhado um papel fundamental na diferenciação dos cariótipos de *L. avasmontana* e *L. coerulea*, neste caso com redução de $2n=16$ para $2n=8$ acompanhada por redução na assimetria (GOLDBLATT, 1990). Por outro lado, em espécies do gênero *Hippeastrum* (Amaryllidaceae) nativas do continente Sul Americano, parece haver uma equitativa perda ou ganho na quantidade de DNA que mantém a uniformidade cariotípica característica do gênero (POGGIO *et al.*, 2007). Em *Zephyranthes*, onde os números cromossômicos são altamente variáveis, não foram observadas grandes discrepâncias na assimetria cariotípica. Contudo, em espécies com números mais elevados,

como em *Z. candida* e *H. itaobinus*, parece haver um ligeiro acréscimo na assimetria cariotípica. No geral, acredita-se que cariótipos mais simétricos e com baixos números cromossômicos representam estágios mais primitivos na evolução de um determinado grupo de plantas (STEBBINS, 1971). Em *Zephyranthes*, entretanto, a assimetria cariotípica parece não desempenhar um papel importante na evolução cariotípica do gênero.

Referências Bibliográficas

ALVES-ARAÚJO, A.; SANTOS, F. DE A. DOS; ALVES, M. Caracterização palinológica de espécies de Amaryllidaceae *sensu stricto* ocorrentes no nordeste brasileiro. **Acta Botânica Brasília**. 21(4): 967-976. 2007.

BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms: progress, problems and prospects. **Annals of Botany**. London. v. 95, p.45–90, 2005.

BRETAGNOLLE, F & THOMPSON, J.D. Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants *New Phytologist*. **129**, 1-22, 1995.

BROWN, W. V. Apomixis in *Zephyranthes texana* Herb. **American Journal of Botany**, 38: 697-702, 1951.

COE, G. E. Chromosome numbers and morphology in *Habrathus* and *Zephyranthes*. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**. v.81, p.141-148, 1954.

DAVIÑA, J. R. **Estudios citogenéticos en algunos generos argentinos de Amaryllidaceae**. 183f. Tese (Doctor en Ciencias Biológicas) - Universidade Nacional de Cordoba, Cordoba, Argentina, 2001.

DAVIÑA, J. R.; FERNÁNDEZ, A. karyotype and meiotic behavior in *Zephyranthes* (Amaryllidaceae) from South America. **Cytologia**, Tokyo, v.54, p.269-274. 1989.

DUTILH, J. H. A. Amaryllidaceae. In: BARBOSA, M. R.; SOTHES, C.; MAYO, S.; GAMARRA-ROJAS, C. F. L.; MESQUITA, A. C. Checklist das plantas do Nordeste

Brasileiro: Angiospermas e Gymnospermas. (Eds): Ministério de Ciência e Tecnologia. Brasília, 2006. 156p.

DUTILH, J. H. A. Ornamental bulbous plants of Brazil. **Acta Horticulturae**, V.683, p.37-42, 2005.

DYER, A. E. The maintenance of structural heterozygosity in *Nothoscordum fragans* Kunth. *Caryologia* v.20, p.287-308, 1967.

FEDOROV, A.M.A. (Ed.). **Chromosome numbers of flowering plants**. Germany Leningrad: Komarov Botanical Institute, 1974. 926 p.

FELIX, W. J. P.; DUTILH, J. H. A.; MELO, N. F. DE.; ALMEIDA, A.; FELIX, L. P. Intrapopulational chromosome number variation in *Zephyranthes sylvatica* Baker (Amaryllidaceae: Hippeastreae) from northeast Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.32, n.2, p.371-375, 2008.

FLORY, W. S. Overview of chromosome evolution in the Amaryllidaceae. **The Nucleus**, Berlin, v.20, p.70-88, 1977.

FLORY, W. S.; SMITH, G. L. High chromosome number in several *Zephyrantheae* taxa. **Plant Life**, Stanford, Conn., US, v.36, p.63-72, 1980 (a).

FREGONEZI, J. N; *et al.* The occurrence of different Bs in *Cestrum intermedium* and *C. strigilatum* (Solanaceae) evidenced by chromosome banding. **Cytogenet Genome Res**, New York, v. 106, p.184–188, 2004.

GOLDBATT, P. **Cytological Variability in the African Genus Lapeirousia (Iridaceae-Ixioidae)**. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, Vol. 77, No. 2. (1990), pp. 375-382. 1990.

GOLDBLAT, P. (Ed.). **Index to plant chromosome number for 1975-1978, 1979-1981, 1982-1983**. St. Louis, Missouri. Botanical Garden. 1985. v.13, 264p.

GOLDBLATT, P.; JOHNSON, D. E. (Eds.). **Index to plant chromosome numbers 1986-1987**. St. Louis, Missouri. Botanical Garden. 1990. v.30, 239p.

GOLDBLATT, P.; JOHNSON, D. E. (Eds.). **Index to plant chromosome numbers 1988-1989**. St. Louis, Missouri. Botanical Garden. 1991. v.40, 234p.

GOLDBLATT, P.; JOHNSON, D. E. (Eds.). **Index to plant chromosome numbers 1990-1991**. St. Louis, Missouri. Botanical Garden. 1994. v.51, 262p.

GRANT, V. Especiación Vegetal. 1ª Edición. Versión española E. C. Herre y H. E. D. Garcia. Noriega Editores, México, 1989.

GREIZERSTEIN, E. J.; NARANJO, C. A. Estudios cromosomicos en especies de *Zephyranthes* (Amaryllidaceae). **Darwiniana**, Buenos Aires, v.29, p.169-186, 1987.

GUERRA, M. S. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan *et al.* **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v.9, p.741-743, 1986.

GUERRA, M. Uso de Giemsa na citogenética vegetal: comparação entre a coloração simples e o bandeamento. *Ciência e Cultura*. 35: 190-193. 1983

HOUBEN, A.; LEACH, C.R.; VERLIN, D.; ROFE, R.; TIMMIS, J.N. A repetitive DNA sequence common to the different B chromosomes of the genus *Brachycome*. **Chromosoma**. 106:513 – 519, 1997.

HUTCHINSON, J. **The families of flowering plants**. Oxford: Clarendon Press, 1959. 792p.

JONES, N.; HOUBEN, A. B chromosomes in plants: escapees from the A chromosome genome? *Trends in Plant Science*, 8: 417-423, 2003.

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

KAI, G.; LU, Y.; QIAN, Z. YO; LUO, N.; ZHOU. G.; TANG, K. Molecular characterization and expression analysis of a gene encoding mannose-binding lectin from bulb of *Zephyranthes grandiflora*. **Biologia, Bratislava**, v.61 p.671-677, 2006.

LORENZI, H.; SOUZA, H. M. **Plantas ornamentais no Brasil**: arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 2 ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 1999. 1123p.

MOORE, R. J. (Ed). Index to plant chromosome number 1967-1971. **Regnum Vegetabile**. Utrecht, Holanda, v. 90, p.1-539, 1973.

MOORE, R.J. (Ed). **Index** to plant chromosome number 1967-1971. **Regnum Vegetabile**. Utrecht, Holanda, v. 96, p. 1-157, 1977.

NARANJO, C. A. Cariotipos de nueve especies argentinas de *Rhodophiala*, *Hippeastrum*, *Zephyranthes* y *Habranthus* (Amaryllidaceae). **Kurtziana**, Cordoba, v.5, p.67-87, 1969.

NARANJO, C. A. Karyotypes of four Argentine species of *Habranthus* and *Zephyranthes* (Amaryllidaceae). **Pythion**, Argentina, v.32, p.61-71, 1974.

OLIVEIRA, R. S. de. Flora da Cadeia do Espinhaço: *Zephyranthes* Herb. & *Habranthus* Herb. (Amaryllidaceae). 163p. 2006.

PANG, Y. SHEN , G. QI , H. TAN , F. SUN , X. TANG, K. Transgenic Tobacco Expressing *Zephyranthes candida* Agglutinin Showing Enhanced Resistance to Aphids. **Engineering in Life Sciences**. v.4, p.155-159, 2004.

PLOWMAN, A.B.; BOUGOURD, S.M. Selectively advantageous effects of B-chromosomes on germination behavior in *Allium schoenoprasum* L. **Heredity** 72: 587–593, 1994.

POGGIO, L.; GONZÁLEZ, G.; NARANJO, C.A. Chromosome studies in *Hippeastrum* (Amaryllidaceae): variation in genome size. **Botanical Journal of the Linnean Society** London. v.155, p.171–178, 2007.

RAINA, S. N.; KHOSHOO.; T. N. Cytogenetics of tropical bulbous ornamentals VI: chromosomal polymorphism in cultivated *Zephyranthes*. **Caryologia**, Firenze, v.2, p.217-227, 1971.

SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. **Tree**. v.14, p348-352, 1999.

STEBBINS, G. L. **Chromosomal evolution in higher plants**. California: Addison-Wesley Publishing Company, 1971. 216 p.

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

Tabela 1. Número e espécies analisadas de *Zephyranthes*, locais de coleta, números cromossômicos observados, contagens cromossômicas prévias, referências, fontes bibliográficas, formulas cariotípicas encontradas, comprimento cromossômico total (TCL), comprimento cromossômico médio (CL), índice centromérico médio em porcentagem (CI), assimetria intracromossômica.(A₁), assimetria intercromossômica (A₂), razão entre o maior e o menor cromossomo (R), categoria de assimetria de Stebbins. (Steb).

Espécies analisadas	Procedência e N ^o indivíduos	N ^o cromossômico	Contagens prévias (2n)	Referência	Formula cariotípica	TCL	CL	CI	A ₁	A ₂	R	Steb.
<i>Z. robusta</i>	IAC,SP (5)	2n=12	2n=12	DA00	4M,2SM	169,02	14,08	39,93	0,31	0,13	1,67	1B
<i>Z. sylvatica</i> Backer	Petrolina,PE(40)	2n=12	2n=12,13,18	FX08	1M,5SM	107,61	8,96	31,82	0,50	0,22	2,25	2A
<i>Z. sylvatica</i> Backer	Petrolina,PE(05)	2n=12+1B	2n=12,13,18	FX08	1M,5SM+(B)SM	108,81	8,36	33,47	0,47	0,22	2,71	2A
<i>Z. sylvatica</i> Backer	Petrolina,PE(03)	2n=18	2n=12,13,18	FX08	1M,5SM	195,60	10,86	32,17	0,48	0,22	2,36	2A
<i>Z. sylvatica</i> Backer	Pariconhas,AL(06)											
<i>Z. rosea</i> Lindl.	Areia, PB(15)	2n=24	2n=24	M73, M74, M77, F74, GJ90, GJ94	4M, 7SM, 1A	113,6	4,73	40,41	0,38	0,18	1,8	2A
<i>Z. rosea</i> Lindl.	Belém, PA(23)	2n=24	2n=26 2n=27 2n=28+2f 2n=48	M77 GJ94 M77 GJ91								
<i>Z. aff. rosea</i>	Areia,PB(25)	2n=25			4M, 7SM,1A	164,23	6,56	35,44	0,40	0,23	2,5	2A
<i>Z. grandiflora</i> Lindl.	São Paulo, SP(8)	2n=24	2n=24, 36, 48 2n=48 2n=67 + 1B 2n=23	F74, GJ00, GJ90, GJ91,GJ94	2M,5SM,5A	154,11	6,42	32,56	0,48	0,23	2,66	2B
<i>Z. brachyandra</i>	IAC,SP (8)	2n=24+1B	24	DA01	4M3SM5A	328,87	12,64	34,38	0,46	0,21	2,65	2C
<i>Z. candida</i> Herb.	Campina Grande, PB(10)	2n=38	2n=24 2n=26 2n=36 2n=38 2n=39 2n=40 2n=41 2n=42 2n=49	GJ90 F74 F74, GJ90 M73, M74, M77, F74, G81, G85, GJ90 M73 M73, M74, F74 M73, M74, GJ90 GJ90	9M,10SM	155,26	4,31	42,13	0,27	0,16	2,16	2A
<i>Habranthus itaobinus.</i>	Guarabira,PB(20)	2n=44+1B			5M,12SM,5A,1(B)M	386,23	5,26	34,31	0,44	0,25	5,08	2B
<i>Habranthus itaobinus.</i>	Areia,PB(20)	2n=44+1B										
<i>Habranthus itaobinus.</i>	Esperança,PB(10)	2n=44+1B										
<i>Habranthus itaobinus.</i>	Pocinhos,PB(08)	2n=44+1B										
<i>Habranthus itaobinus.</i>	Campina Grande,PB(10)	2n=44+1B										
<i>Habranthus itaobinus.</i>	Surubim,PE(08)	2n=44+1B										
<i>Habranthus itaobinus.</i>	Carnauba dos Dantas,RN.(08)	2n=46+1B			6M,12SM,5A,1(B)M	399,32	8,49	35,83	0,43	0,24	6,14	2B

Legenda – IAC – Instituto Agronômico de Campinas; SP – Estado de São Paulo; PE - Estado de Pernambuco; AL - Estado de Alagoas; PB - Estado da Paraíba; PA - Estado do Pará; RN - Estado do Rio Grande do Norte.

Fontes bibliográficas — F74 - FEDOROV, 1974; G85 - GOLDBLATT, 1985; GJ90 - GOLDBLATT & JOHNSON, 1990; GJ91 - GOLDBLATT & JOHNSON, 1991; GJ94 - GOLDBLATT & JOHNSON, 1994; M73 - MOORE, 1973; M74 - MOORE, 1974; M77 – 1977; DA,00 – DAVIÑA, 2000; FX08 – FELIX *et al.*, 2008.

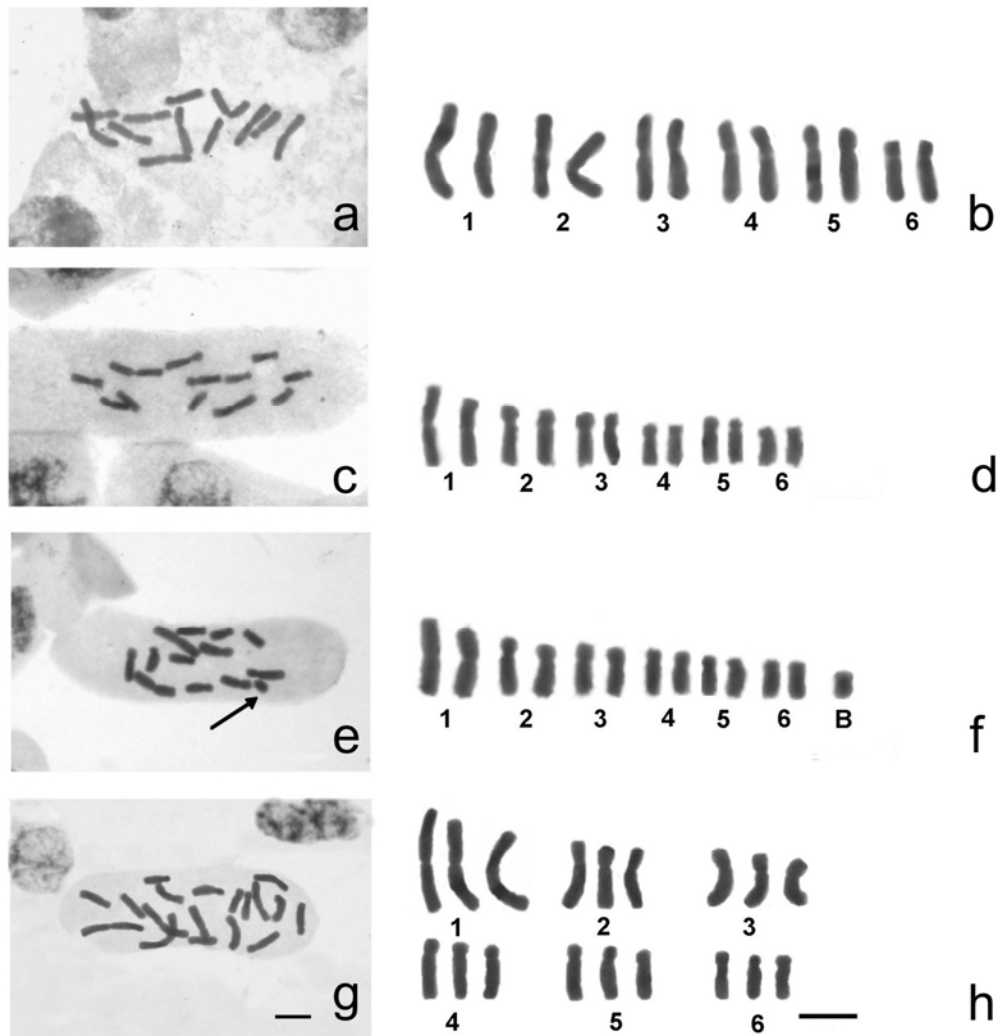


Figura 1. *Z. robusta*. **a.** Metáfase mitótica com $2n=12$. **b.** Cariograma com quatro pares metacêntrico e dois pares submetacêntricos. *Zephyranthes sylvatica*. **c.** Metáfase mitótica com $2n=12$. **d.** Cariograma com um par metacêntrico e cinco pares submetacêntricos. **e.** Metáfase mitótica com $2n=12+1B$. **f.** Cariograma com um par metacêntrico e cinco pares submetacêntricos e um cromossomo supra numerário submetacêntrico. **g.** Metáfase mitótica com $2n=18$; **h.** Cariograma com uma trinca metacêntrica e cinco trincas submetacêntricos. Barras equivale a $10\mu\text{m}$.

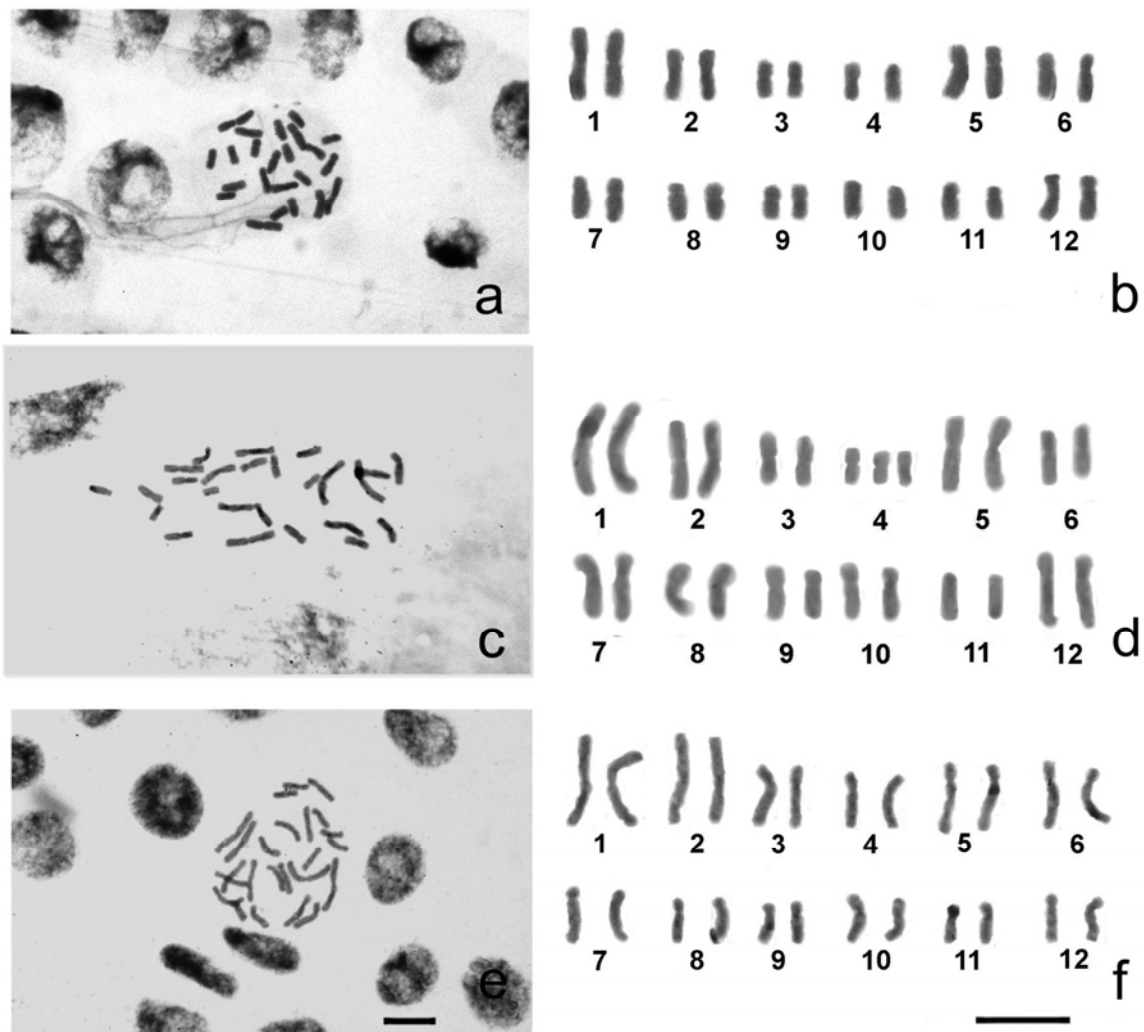


Figura 2. *Z. rosea*. **a.** Metáfase mitótica com $2n=24$. **b.** Cariograma com três pares metacêntricos, sete submetacêntricos e um par acrocêntrico. *Z. aff. rosea*. **c.** Metáfase mitótica com $2n=25$; **d.** Cariograma com quatro pares metacêntricos (par quatro trissômico), cinco submetacêntricos e três pares acrocêntricos. *Z. grandiflora*. **e.** Metáfase mitótica com $2n=24$. **f.** Cariograma com dois pares metacêntricos, cinco submetacêntricos e quatro pares acrocêntricos. Barras em **e** e **f** equivale a $10\mu\text{m}$.

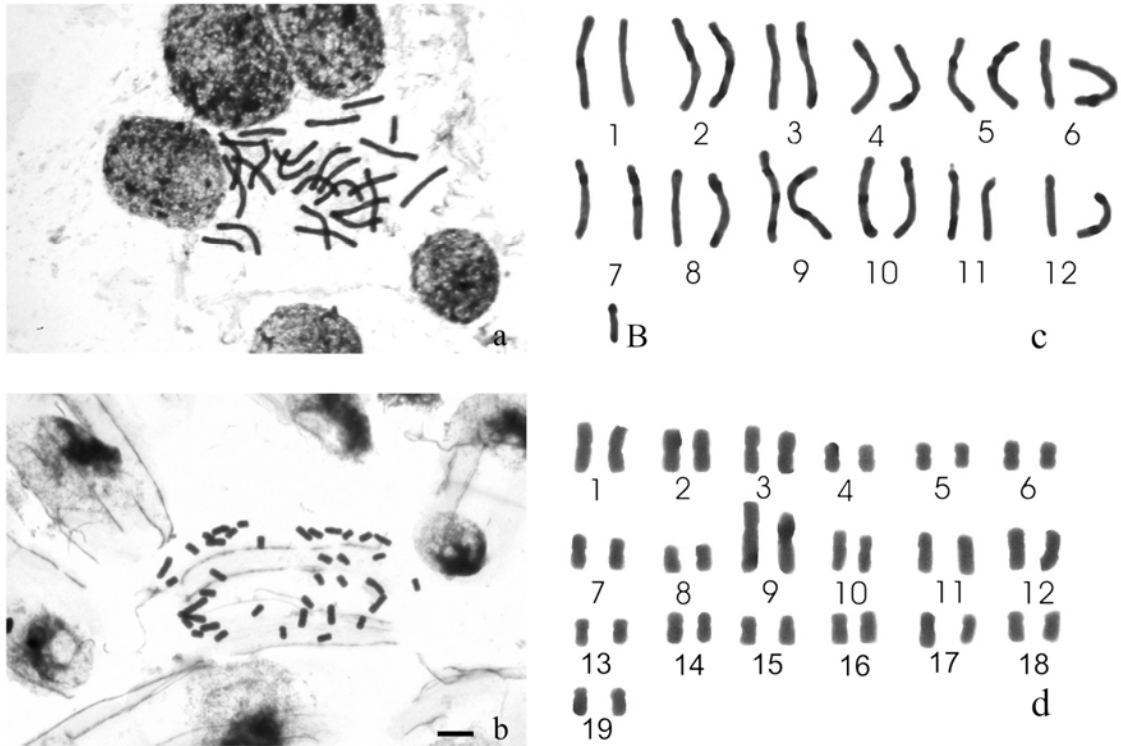


Figura 3. *Z. brachyandra*. **a.** Metáfase mitótica com $2n=24+1B$. **b.** Cariograma com quatro pares metacêntricos, três submetacêntricos e cinco pares acrocêntricos mais um cromossomo B submetacêntrico. *Z. candida*. **c.** Metáfase mitótica com $2n=38$ **d.** Cariograma com nove pares metacêntricos e dez pares. Barra em **b** equivale a $10\mu\text{m}$.

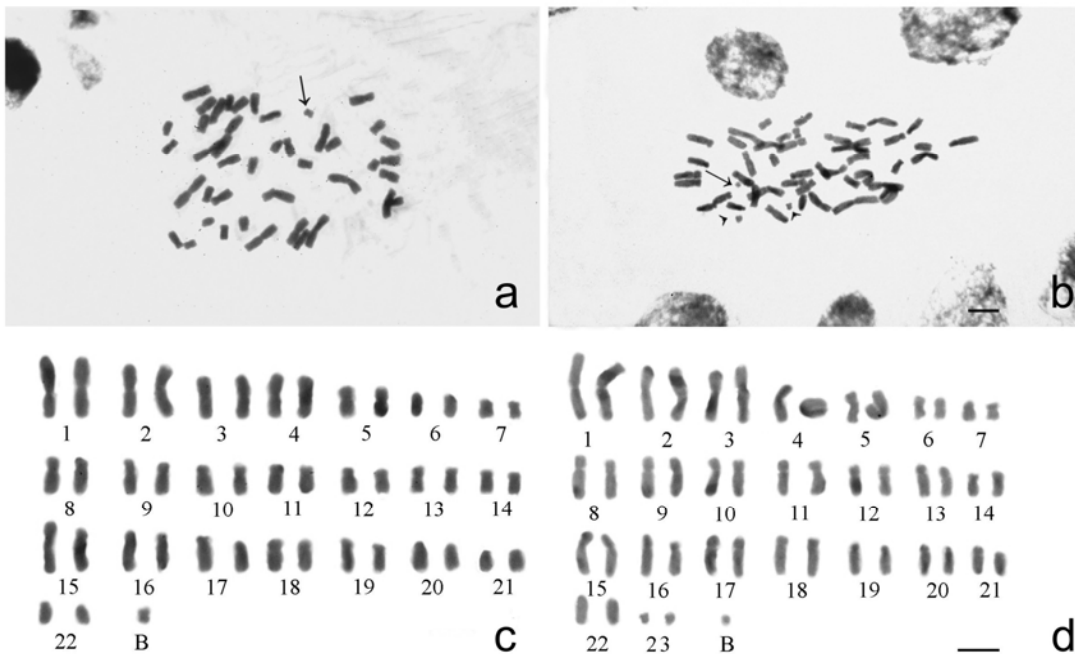


Figura 4. *Habranthus itaobinus*. **a.** Metáfase mitótica com $2n=44+1B$; **b.** Cariograma com cinco pares metacêntricos e doze pares submetacêntricos, cinco acrocêntricos e um cromossomo B metacêntrico. Setas indicam satélites. Barras equivale a $10\mu\text{m}$.

Capítulo III

Artigo a ser submetido a *Genetics and Molecular Biology*

Citogenética de *Zephyranthes* Herb. (Amaryllidaceae): evolução da heterocromatina em diversos níveis de ploidia.

Winston José Pessoa Felix⁽¹⁾, Leonardo Pessoa Felix⁽²⁾; Nataniel Franklin de Melo⁽³⁾;
Julie H. A. Dutilh⁽⁴⁾ e Reginaldo de Carvalho⁽¹⁾.

⁽¹⁾Universidade Federal Rural de Pernambuco, R. Dom Manoel de Medeiros, s/n - Dois Irmãos, PE - Recife, Brasil, CEP.52171-900. E-mail: winstonpessoa@yahoo.com.br, reginaldo.ufrpe@gmail.com ⁽²⁾ Universidade Federal da Paraíba, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Fitotecnia, Areia, PB, Brasil CEP. 58397-000. E-mail: lpfelig@hotmail.com ⁽³⁾ Laboratório de Biotecnologia - Embrapa Semi-Árido – BR 428, Km 152 – Zona Rural – Caixa Postal 23 – Petrolina, PE – Brasil – CEP. 56302-970. E-mail: nataniel@cpatsa.embrapa.br ⁽⁴⁾ Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Caixa Postal 6109, Campinas, SP, Brasil, CEP. 13084-971. E-mail: capitani@unicamp.br

Resumo - Foram estudados os padrões de banda CMA/DAPI em sete espécies de *Zephyranthes* Herb, e uma de *Habranthus* Herb., com o objetivo de avaliar as diferenças cariotípicas entre essas espécies. Foram observadas bandas DAPI subterminais e intersticiais apenas em *Z. robusta*, com $2n=12$ e em *Z. brachyandra*, com $2n=24$. As demais espécies não tiveram heterocromatina rica em AT. Nas espécies com $2n=12$ foi observado um bloco CMA⁺ em um par cromossômico de *Z. robusta* e *Zephyranthes* sp., enquanto em *Z. sylvatica* foi observado um pequeno bloco terminal adicional no quinto par cromossômico. *Z. rosea* e *Z. grandiflora* com $2n=24$, tiveram quatro bandas CMA, enquanto em *Z. brachyandra*, com $2n=24+1B$, ocorreram oito bandas intersticiais puntiformes, além da RON heterocromática e de um bloco maior no terminal do braço curto do cromossomo B. Em *Z. cândida*, com $2n=38$ observou-se 14 bandas CMA subterminais e em *H. itaobinus*, sete bandas com forte amplificação diferenciada na RON heterocromática. São discutidas as implicações taxonômicas e a evolução cariotípica para esse grupo de espécies.

Palavras-chaves: CMA/DAPI, poliploidia, heteromorfismo cromossômico, cromossomo B.

Abstract

The CMA / DAPI band patterns in seven species of *Zephyranthes* and one of *Habranthus* were studied to evaluate the karyotypic differences between these species. Interstitial and subterminal DAPI bands were observed only in *Z. robusta*, with $2n = 12$ and in *Z. brachyandra* with $2n = 24$. The other species had no AT-rich heterochromatin. In species with $2n = 12$ was found a CMA+ in a block chromosome pair of *Z. robusta* and *Zephyranthes* sp., while in *Z. sylvatica* was observed a small additional terminal block on the fifth chromosome pair. *Z. rosea* and *Z. grandiflora* with $2n = 24$, presented four CMA bands, while in *Z. brachyandra* with $2n = 24 + 1 B$, eight interstitial pinpoint bands occurred, apart from the heterochromatic RON and a bigger block of the terminal short arm of B chromosome. In *Z. Candida*, with $2n = 38$, it was observed 14 bands subterminal CMA bands and *H. itaobinus*, seven bands with a strong differentiated amplification in the heterochromatic RON. Taxonomic implications and karyotypic evolution for this group of species are discussed.

Keywords: CMA / DAPI, polyploidy, heteromorphic chromosome, chromosome B.

Introdução

O gênero *Zephyranthes* Herb. compreende cerca de 65 espécies de distribuição principalmente neotropical (HUTHCHINSON, 1959; JUDD *et al.*, 1999), desde o sul dos Estados Unidos até o sul do Chile e Argentina, 36 delas referidas para o Brasil, algumas com grande potencial de uso como ornamental (DUTILH, 2005). O gênero é incluído na tribo Hippeastreae, onde três clados formam a subtribo Zephyranthinae (MÜLLER-DOBLIES & MÜLLER-DOBLIES, 1996). É incluído na família Amaryllidaceae, e relacionado ao gênero *Habranthus* Herb. (MEEROW *et al.*, 2007), este último, muitas vezes considerado sinônimo de *Zephyranthes*. Para alguns autores, *Zephyranthes* possui flores e estames eretos, enquanto em *Habranthus* as flores e estames são declinados, embora, muitas vezes, essas características se sobrepõem (ARROYO, 1981). Na única análise filogenética que incluiu algumas espécies do gênero, formou três clados: Um com espécies distribuídas no sul dos Estados Unidos e México, outro, junto a *Habranthus*, formado por espécies da América do Sul e um terceiro envolvendo tanto espécies do sul dos Estados Unidos, como da América do Sul (MEEROW *et al.*, 2000a).

Os membros da tribo Hippeastreae se diferenciam das demais Amaryllidaceae da América do Sul por apresentarem cariótipos diplóides e deleções em um conjunto de bases nos dois ITSs do DNAr 45s (MEEROW *et al.*, 2000b). *Zephyranthes* é um gênero taxonomicamente bastante complexo, com limites morfológicos pouco definidos entre as espécies. Apresenta registro cromossômico para cinquenta espécies das cerca de 65 conhecidas para gênero (GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987). A maioria das espécies apresenta $2n=12$ ou números próximos, em espécies reconhecidas como *Habranthus*, ou $2n=24$, ou múltiplos deste em espécies reconhecidas como *Zephyranthes* (OLIVEIRA, 2006). Todavia, é um gênero muito variável em termos de números cromossômicos, com contagens desde $2n=10$ em *Zephyranthes seubertii* E. P. Hume (DAVIÑA, 2001), até $2n=ca. 200$ em um híbrido horticultural interespecífico (FLORY & SMITH, 1980).

A variabilidade numérica é decorrente de eventos de poliploidia, aneuploidia e disploidia, além de cromossomos Bs, frequentes no gênero (GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987; FELIX *et al.*, 2008a). Registros cromossômicos de variações numéricas intraespecíficas e cromossomos Bs em espécies como *Z. aff. mesochloa*, *Z. brasiliensis*, *Z. grandiflora*, *Z. chlorozolen*, *Z. candida* e *Z. sylvatica* (RAINA &

KHOSHOO, 1971; BHATTACHARYYA, 1972; GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987, FELIX, *et al.*, 2007; FELIX, *et al.*, 2008), são bem documentadas e de fato comprovam a grande variabilidade cromossômica numérica do gênero. Contudo, o único registro envolvendo técnicas de bandeamento com fluorocromos base específicos (DAVIÑA, 2001), é restrito a uma única espécie e não proporciona uma visão geral da variabilidade cariológica estrutural do gênero.

O presente trabalho objetivou caracterizar e identificar os possíveis mecanismos envolvidos na evolução cromossômica em seis espécies de *Zephyranthes* e uma de *Habranthus*, através da coloração diferencial com os fluorocromos CMA e DAPI, a fim de ampliar o nível de informação genética no gênero, além de potencializar e utilizar suas espécies em estratégias de cruzamentos em programas de melhoramento genético com ênfase nas plantas ornamentais.

Material e Método

A Tabela 1 sumariza as espécies analisadas, fórmula cariotípica, locais e nde coletas e vouchers. Todo o material foi cultivado em vasos plásticos no jardim experimental do laboratório de citogenética vegetal do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba. Materiais testemunhos foram herborizados e incorporados ao acervo aos Herbários Prof. Jayme Coelho de Moraes (EAN) do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal da Paraíba e do Instituto Agrônomo de Campinas.

Para as análises cromossômicas foram utilizadas pontas de raízes que foram pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (0,002M) *overnight* a 18°C, fixadas em Carnoy 3:1 (etanol absoluto-ácido acético glacial - v/v) por 4 h à temperatura ambiente e estocadas em *freezer* a -20°C até posterior análise. Para o preparo das lâminas, o material foi inicialmente lavado em água destilada e, em seguida, digerido em uma solução enzimática (2% celulase (Onozuka) e 20% pectinase (Sigma) (w/v) por 1h a 37°C. Em seguida, as raízes foram esmagadas em uma gota de ácido acético 45%, e as lâminas congeladas em nitrogênio líquido para remoção da lamínula, secas ao ar e envelhecidas por três dias à temperatura ambiente.

Antes de fazer a coloração com fluorocromos as lâminas foram tratadas para banda C, de acordo com o procedimento Schwarzacher *et al.* (1980), acrescida de pequenas modificações. Após o envelhecimento, as lâminas foram tratadas com uma solução de hidróxido de bário 5% a 60°C por 10 min, lavadas rapidamente em ácido acético 45% e depois

em água corrente por 2 min, secas e então incubadas em 2x SSC a 60°C por 80min. Após esse tratamento, as lâminas foram lavadas em água destilada e secas ao ar.

Para a coloração com fluorocromos, foi seguido o protocolo de Schweizer (1976), com pequenas modificações. As lâminas foram inicialmente coradas com CMA (cromomicina A₃) por 40min, depois com DAPI (4',6-diamidino-2-phenilindole (DAPI) por 30min e, então montadas em McIlvaine-glicerol (1:1, v/v). A documentação fotográfica foi obtida com câmera digital Cyber-Shot (Sony) 5.1 MP utilizando-se 2.1 MP de resolução, acoplada a um microscópio de epifluorescência DMLB (Leica). As imagens foram trabalhadas no programa Corel PHOTO PAINT 12.

Resultados

Foram analisadas sete espécies de *Zephyranthes*, quatro delas provenientes do campo e três cultivadas como ornamentais, além de *Habranthus itaobinus*. Em *Z. robusta* (Fig. 1a, 2a), foi observado $2n=12$ e fórmula cariotípica $4M+2SM$ e exibiu bandas DAPI intersticiais fortes nos braços curtos do par quatro, bandas DAPI intersticiais menores nos braços curtos do par um, banda subterminal no par cinco e pequenas bandas intersticiais pouco definidas nos braços longos de todos os cromossomos, exceto no par cinco. Uma banda CMA forte foi observada nos terminais cromossômicos do par seis. Em *Zephyranthes* sp., com $2n=12$ e fórmula cariotípica $4M+1SM+1A$, apresentou um bloco de heterocromatina CMA⁺ subterminal no braço curto do par acrocêntrico (Fig. 1b). *Z. sylvatica*, com $2n=12$ e fórmula cariotípica $1M+5SM$, teve uma banda CMA subterminal heteromórfica mais forte no braço longo do par seis, além de uma pequena banda CMA no terminal do braço longo do par cinco. Essa mesma espécie apresentou um citotipo triplóide com idêntica fórmula cariotípica, porém formada por trincas, com uma banda CMA heteromórfica na trinca seis. *Z. brachyandra*, com $2n=24+1B$ e fórmula cariotípica $4M+3SM+5A+1B$, se destacou por apresentar um complexo padrão heterocromatina DAPI⁺. Foi observado um conjunto de cromossomos com grandes blocos subterminais nos braços curtos de cinco pares acrocêntricos e nos braços longos de um par submetacêntrico grande. Além desses blocos, ocorreram bandas intersticiais menores em ambos os braços dos pares 1, 3, 9, 11 e 12 e nos braços longos dos demais cromossomos. Fortes blocos de heterocromatina CMA⁺ foram observados no satélite do par oito e no braço curto do cromossomo B. Pequenas bandas

puntiformes foram visualizadas na região intersticial dos braços curtos dos pares um, quatro e seis e no braço longo do par cinco.

Habranthus itaobinus apresentou fórmula cariotípica 5M,12SM,5A + 1B e exibiu quatro pares de cromossomos com bandas CMA subterminais, com uma RON distendida e amplificada apenas em um dos cromossomos homólogos de um par submetacêntrico. Em um outro par foi visualizado um bloco CMA⁺ forte apenas em um dos homólogos de outro par submetacêntrico.

Entre as espécies cultivadas *Z. rosea* foram observados dois citotipos, sendo um com 2n=24 e outro com 2n=25 e fórmulas cariotípicas 4M+7SM+1A e 4M+7SM+1A+1M. Em ambos os citotipos observou-se uma banda CMA nos terminais dos braços curtos dos pares cinco e seis (Figs. 3a,b). *Z. grandiflora* com 2n=24 e fórmula cariotípica 2M+5SM+5A e bandas CMA nos terminais dos braços longos dos pares três e quatro. Em *Z. candida* com 2n=38 e fórmula cariotípica 9M+5SM+5A, foram observados blocos de heterocromatina CMA⁺ nos braços longos de cinco pares metacêntricos e no braço curto de um par submetacêntrico, além de uma banda subterminal no braço curto de um dos homólogos do par submetacêntrico maior.

Discussão

O gênero *Zephyranthes* é considerado bastante relacionado ao gênero *Habranthus* e tem sido muitas vezes considerados congêneros (DUTILH, comunicação pessoal). Em análise filogenética para as Amaryllidaceae do Continente Américo (MEEROW, 2000a), ficou demonstrado que *Zephyranthes* é polifilético e que algumas espécies do sul dos Estados Unidos e México, são irmãs de *Habranthus*, reforçando a idéia de proximidade de algumas espécies dos dois gêneros. Na presente análise, *Z. brachyandra* e *Z. robusta*, são algumas vezes incluídas em *Habranthus* (GOVAERTS, 2009), se diferenciaram por apresentar bandas ricas AT. Entretanto, *H. itaobinus* (RAVENA, 1999) exibiu apenas bandas CMA semelhante às demais espécies de *Zephyranthes*, sugerindo que essa característica é variável no gênero. Os dois gêneros se diferenciam morfológicamente por apresentar flores e estames declinados (HERBERT, 1837 *apud* Oliveira, 2006). Bentham (1883) considera todas as espécies de *Habranthus* como sinônimos de *Zephyranthes*, o que também é reforçado com base em caracteres anatômicos e pela sobreposição de caracteres morfológicos (ARROYO, 1981). Todavia, *H. itaobinus* não pode ser incluída em *Zephyranthes*, por não ter sido ainda recombinação.

Os gêneros *Zephyranthes* e *Habranthus* são conhecidos por uma ampla variação denúmeros cromossômicos, muitas vezes observada em uma única população. Espécies como *Z. grandiflora* (GREIZERSTEIN & NARANJO, 1987) e *Z. sylvatica* no Nordeste do Brasil (FELIX *et al.*, 2008), algumas vezes exibiram variação numérica intra-populacional. Essa variabilidade parece também ocorrer na estrutura cromossômica. Em *Z. sylvatica*, o único indivíduo triploide analisado apresentou um padrão de bandas CMA diferente daquele esperado para um suposto auto-triploide. Nesse caso, parece ter havido perda de uma banda CMA no estabelecimento desse indivíduo no campo.

Nas espécies com $2n=12$, *Z. robusta* se diferenciou das demais espécies por apresentar um conjunto de blocos de heterocromatina DAPI⁺ amplamente distribuídos no conjunto cromossômico dessa espécie. Embora tenha sido a única espécie da Argentina com $2n=12$, esse padrão de bandas heterocromáticas divergiu claramente das demais espécies do Norte e Nordeste do Brasil com esse número cromossômico, que foram destituídas de heterocromatina rica em AT. Entre as espécies brasileiras com $2n=12$, *Z. sylvatica* apresentou um padrão de bandas CMA distinto de *Zephyranthes* sp., uma espécie morfológicamente bastante relacionada, com dois pares com bandas subterminais nos braços longos na primeira e apenas um par no braço curto do par acrocêntrico. Para o grupo de espécies com $2n=12$, a distribuição de heterocromatina CMA⁺ parece ser um bom indicativo do nível de ploidia. Isso é notável em *Zephyranthes* sp. e *Z. robusta* que possuem apenas dois blocos CMA⁺. Por outro lado, *Z. sylvatica* teve quatro blocos CMA, dos quais um par foi fortemente heteromórfico, exibindo um bloco grande e outro pequeno, sugerindo que tenha havido translocações desiguais envolvendo essas regiões de heterocromatina.

As demais espécies de *Zephyranthes* podem ser divididas em dois grupos de número cromossômicos: Um grupo com $2n=24$ (*Z. brachyandra*, *Z. rosea* e *Z. grandiflora*) e outro com $2n=38$ (*Z. candida*). No primeiro grupo, *Z. brachyandra*, uma espécie argentina, diferiu das demais espécies por apresentar heterocromatina DAPI⁺ disseminada por todos os cromossomos do complemento, formando bandas subterminais e intersticiais. Entre as espécies analisadas na presente amostra, apenas *Z. robusta* com $2n=12$ apresentou bandas DAPI que também foram observadas nas regiões intersticiais na maioria dos cromossomos do complemento. As duas espécies ocorrem na Argentina e a existência de bandas DAPI em ambas, sugere que as espécies possam ser filogeneticamente relacionadas. Nesse caso, *Z. brachyandra* seria um tetraploide que teria ampliado adicionalmente os blocos DAPI⁺ através de alterações estruturais.

Entretanto, *Z. brachiandra* se distinguiu de todas as espécies analisadas por apresentar pequenos blocos puntiformes de CMA intersticiais em vários cromossomos do complemento, além dos blocos terminais da RON heterocromática, que também foi observada no cromossomo supranumerário. As duas outras espécies com $2n=24$ não apresentaram bandas DAPI e ambas tiveram apenas dois pares com bandas CMA, que provavelmente foram retidas a partir de um estoque ancestral diplóide com $x=6$. Esses blocos foram localizados no braço curto de *Z. rosea* e no braço longo de dois pares submetacêntricos de *Z. grandiflora*. Por outro lado, *Z. candida*, que provavelmente constitui um hexaplóide com base em $x_1=6$, os blocos CMA foram translocados para outros cromossomos, mas mantiveram preferencialmente a localização no braço cromossômico longo em pelo menos cinco pares submetacêntricos. Os blocos observados nos braços curtos de um par metacêntrico e em um único cromossomo do par metacêntrico maior heteromórfico, pode ser resultante de translocações e inversões que ocorreram durante a evolução dessa espécie. *Z. candida* é uma espécie notável pela variação nos números cromossômicos (DAVIÑA, 2001) e, provavelmente o heteromorfismo dos blocos de heterocromatina e do tamanho cromossômico está relacionado a re-arranjos que podem também resultar em alterações numéricas.

Habranthus itaobinus, com $2n=44+1B$, apresentou o maior número da presente amostra e possivelmente representa um hexaplóide com base em $x_1=7$ com ganho diplóide de um par cromossômico e de um pequeno B metacêntrico. A espécie apresentou sete blocos CMA⁺ que foram heteromórficos por uma extensa ampliação da RON CMA⁺ em um dos cromossomos homólogos do par satelitado e também pela perda de um bloco CMA em um homólogo de outro par cromossômico. Esse padrão de bandas CMA não correspondeu ao número de bandas esperadas para uma espécie hexaplóide, indicando que esta esteja passando por um processo de diploidização. Nesse processo pode ocorrer redução no número cromossômico, especialmente em espécies atualmente diploidizadas que tiveram uma ampla redução do tamanho genômico, como demonstrado em *Arabidopsis thaliana* e outras Brassicaceae (LYSAK et al., 2006). Outras espécies apresentam um massivo silenciamento e perda de loci gênicos redundantes, mas não sofreram redução significativa do tamanho genômico e do número cromossômico (ADAMS & WENDEL, 2005). Possivelmente, um processo semelhante possa estar em curso em *H. itaobinus*, onde é claramente observada a perda de vários loci duplicados de heterocromatina CMA⁺. Esses blocos, muitas vezes, correspondem aos loci de DNAr 45S e estão localizados nos terminais dos braços cromossômicos

curtos (GUERRA, 2000), como observado no gênero *Manihot* (CARVALHO & GUERRA, 2002).

As espécies estudadas no presente trabalho apresentaram algumas tendências na evolução da heterocromatina, mais facilmente observável nas espécies com $2n=24$, onde os blocos CMA foram sempre correspondentes ao nível tetraplóide. Uma tendência semelhante foi observada nas espécies diplóides com $2n=12$, sempre com um bloco CMA em um par cromossômico, exceto *Z. sylvatica* onde observou-se uma possível translocação de um pequeno bloco CMA para um outro par cromossômico, que não foi observado no citótipo triplóide. Esse padrão foi útil na separação de *Z. sylvatica* da espécie a fim *Zephyranthes* sp., que apresentou número e distribuição dos blocos de heterocromatina CMA⁺ diferenciados. Duas outras espécies (*Z. robusta* e *Z. brachyandra*) se destacaram pela ocorrência de bandas DAPI subterminais e intersticiais, o que sugere para esta última um ancestral com $x=12$ semelhante à *Z. robusta*. Já *H. itaobinus* e *Z. candida* se distinguiram por apresentar heteromorfismo acentuado na distribuição da heterocromatina CMA⁺.

Tabela 1. Espécies analisadas com seus respectivos sinônimos e seus autores de classificação taxonômica, localização da coleta e número de indivíduos analisados.

Nº	Espécie (Autor)	Sinônimo (Autor)	Local de coleta (Estado)	Nº cromossômico 2n
01	<i>Z. robusta</i> (Herb. ex Sweet) Baker	<i>H. robusta</i>	Posadas de Misiones – Argentina	12
02	<i>Zephyranthes</i> sp.		Wanderlândia, TO	12
03	<i>Z. sylvatica</i> (Mart. ex Schult. & Schult.f.) Baker	<i>Z. franciscana</i> (Baker) Baker	Petrolina, PE	12,18
		<i>H. sylvatica</i> Ravena		
		<i>H. cearensis</i> Herb.		
	<i>Z. sylvatica</i> Baker		Pariconhas, AL	12
04	<i>Z. brachyandra</i> (Baker) Backer	<i>H. brachyandra</i> (Baker) Sealy	Posadas de Misiones – Argentina	24+1B
05	<i>H. itaobinus</i> Ravena		Campina Grande, PB	44+1B
06	<i>Z. rosea</i> Lindl.	<i>Z. bifolia</i> (Aublet) Roem.	Areia, PB	24
	<i>Z. rosea</i> Lindl.		Belém, PA	24
07	<i>Z. aff. rosea</i> Lindl.		Areia, PB	25
08	<i>Z. grandiflora</i> Lindl.	<i>Amaryllis carinata</i> Spring.	São Paulo, SP	24
		<i>Z. carinata</i> Herb.		
09	<i>Z. candida</i> Herb.	<i>Amaryllis candida</i> Herb. ex Lindl.	Campina Grande, PB	38

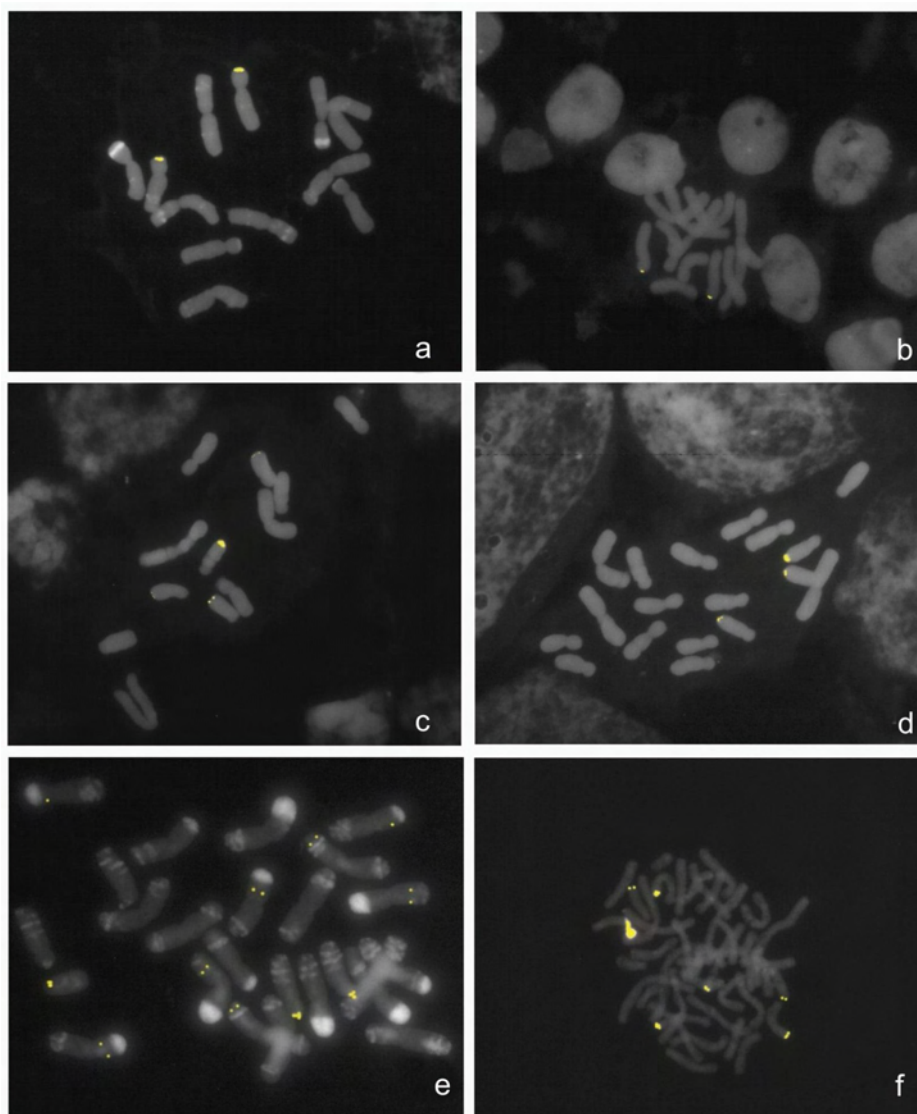


Figura 1. Células mitóticas das espécies nativas. (a) *Z. robusta*, $2n=12$, DAPI+/CMA-, DAPI-/CMA+; (b) *Zephyranthes* sp., $2n=12$, CMA+/DAPI-; (c) *Z. sylvatica* $2n=12$, CMA+/DAPI-; (d) *Z. sylvatica* $2n=18$, CMA+/DAPI-; (e) *Z. brachyandra* com $2n=26$, DAPI+/CMA-, CMA+/DAPI-; (F) *H. itaobinus*, com $2n=44+1B$, CMA+/DAPI-.

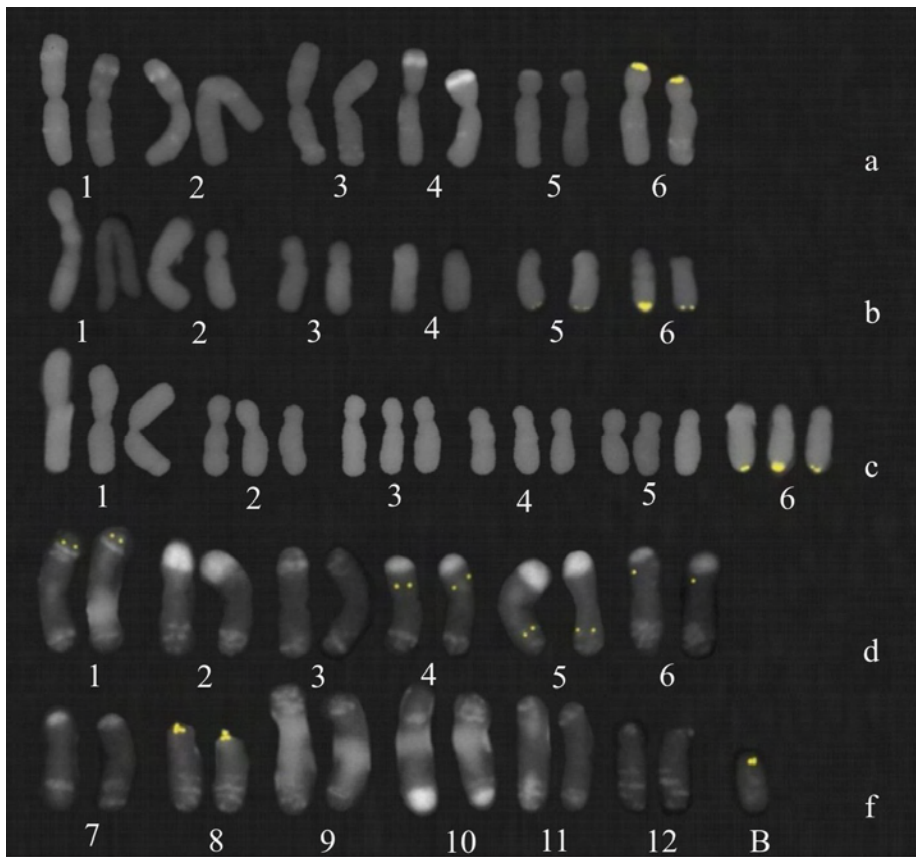


Figura 2. Cariograma das espécies nativas. (a) *Z. robusta*, $2n=12$, DAPI+/CMA-, DAPI-/CMA+; (b) *Z. sylvatica* $2n=12$, CMA+/DAPI-; (c) *Z. sylvatica* $2n=18$, CMA+/DAPI-; (d) *Z. brachyandra* com $2n=26$, DAPI+/CMA-, CMA+/DAPI-.

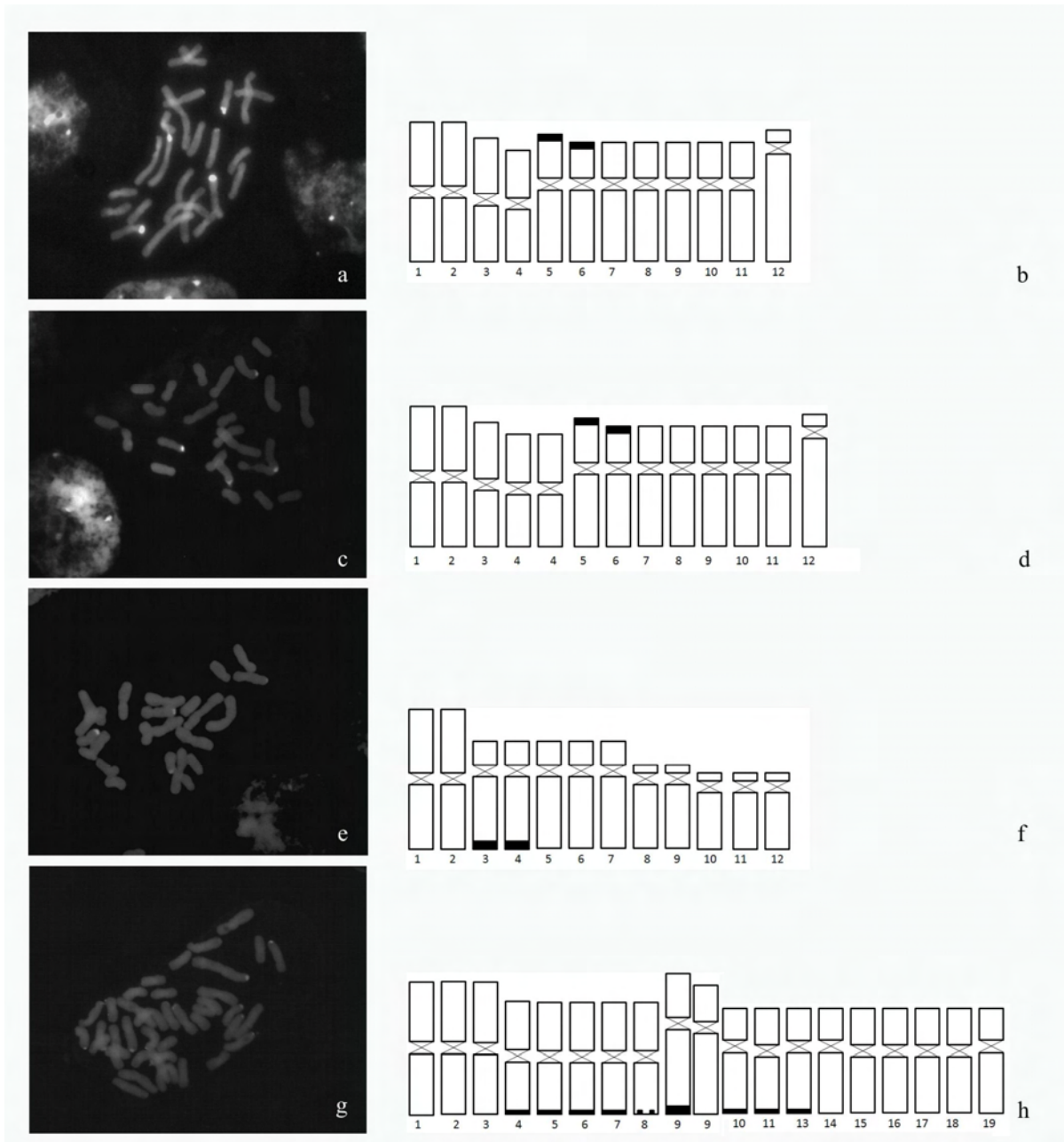


Figura 3. Células mitóticas espécies cultivadas. (1-2) *Z. rosea* com $2n=24$, população de Areia, PB CMA/DAPI, respectivamente; (3) *Z. rosea* população de Belém/PA, com $2n=24$ CMA apenas; (4-5) *Z. aff. rosea* $2n=25$, CMA/DAPI respectivamente; (6-7) *Z. grandiflora*, com $2n=24$, CMA/DAPI respectivamente; (8-9) *Z. candida*, $2n=38$, CMA/DAPI respectivamente.

Referências Bibliográficas

ADAMS, K. L.; WENDEL, J. F. Polyploidy and genome evolution in plants. **Current Opinion in Plant Biology**, 8:135–141,2005.

ARROYO, S. C. **Systematic, Anatomical studies on Amaryllidaceae, including morphological cytological and phytogeographical considerations**. 1981. 238f. Tese (Ph Doctor Botany) - Department of Botany, University of Reading. Reading.

BENTHAM, G. Amaryllidaceae. In; Bentham, G.; Hooker, J. D. (eds.). **Genera Plantarum**. 3 (2): 710-740. 1883.

BHATTACHARYYA, N. K. Chromosome inconstancy in *Zephyranthes mesochloa* Baker. **Cytologia**, Tokyo, v.37, p. 423-433, 1972.

CARVALHO, R.; GUERRA, M. Cytogenetics of *Manihot esculenta* Crantz (Cassava) and eight related species. **Hereditas**. v. 136 (2): 159-168. 2002.

DAVIÑA, J. R. **Estudios citogeneticos en algunos generos argentinos de Amaryllidaceae**. 2001. Cordoba. Tese (Doutorado) - Universidade Nacional de Cordoba.

DUTILH, J. H. A. Ornamental bulbous plants of Brazil. **Acta Horticulturae**, V.683, p.37-42, 2005.

FELIX, W. J. P.; ALMEIDA, A.; MELO, N. F. DE.; FELIX, L. P. Citogenética de duas espécies de *Zephyranthes* Herb. (Amaryllidaceae – Hipeastreae) cultivadas. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, p. 294-296, 2007.

FELIX, W. J. P.; DUTILH, J. H. A.; MELO, N. F. DE.; ALMEIDA, A.; FELIX, L. P. Intrapopulational chromosome number variation in *Zephyranthes sylvatica* Baker (Amaryllidaceae: Hipeastreae) from northeast Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.32, n.2, p.371-375, 2008.

- FLORY, W. S.; SMITH, G. L. High chromosome number in several *Zephyrantheae* taxa. **Plant Life**, Stanford, Conn., US, v.36, p.63-72, 1980.
- GREIZERSTEIN, E. J.; NARANJO, C. A. Estudios cromosomicos en especies de *Zephyranthes* (Amaryllidaceae). **Darwiniana**, Buenos Aires, v.29, p.169-186, 1987.
- GUERRA, M. 2000. Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes **Genetics and Molecular Biology**, 23: 1029-1041.
- HUTCHINSON, J. **The families of flowering plants**. Oxford: Clarendon Press, 1959. 792p.
- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S., KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant Systematics: a phylogenetic approach**. Massachusetts: Sinauer Associates. 1999.
- LYSAK, M. A., BERR, A., PECINKA, A., SCHMIDT, R., MCBREEN, K., SCHUBERT, I. Mechanisms of chromosome number reduction in *Arabidopsis thaliana* and related Brassicaceae species. **PNAS**. 103: 5224-5229. 2006.
- MEEROW, A. W.; FAY, M. F.; CHASE, M. W.; GUY, C. L.; LI, Q.; SNIJMAN, D.; YANG, S. Phylogeny of Amaryllidaceae: molecules and morphology. *In*: **Monocots: Systematics and Evolution**. Sydney: (K. L. WILSON; D. A. MORRISON (Eds.)). Collingwood, CSIRO Publishing, p. 372-386. 2000 (a).
- MEEROW, A. W.; GUY, C. L.; LI, Q.; YANG, S. Phylogeny of the American Amaryllidaceae based on nrDNA ITS sequences. **Systematic of Botany**, v.25, p.708-726, 2000 (b)
- MEEROW, A. W.; REVEAL, J. L.; SNIJMAN, D. A.; DUTILH, J. (1793) Proposal to conserve the name *Amaryllidaceae* against *Alliaceae*, a “superconservation” proposal. **Taxon**. 56 (4): 1300–1301, 2007.

OLIVEIRA, R. S. de. **Flora da Cadeia do Espinhaço: *Zephyranthes* Herb. & *Habranthus* Herb. (Amaryllidaceae).** Dissertação (Mestrado). 163p. 2006.

RAINA, S. N.; KHOSHOO.; T. N. Cytogenetics of tropical bulbous ornamentals VI: chromosomal polymorphism in cultivated *Zephyranthes*. **Caryologia**, Firenze, v.2, p.217-227, 1971.

RAVENA, P. F. New species of *Zephyranthes* and *Habranthus* (Amaryllidaceae). **Onira**. 3 (16): 54-59. 1999

SCHWARZACHER T., AMBROS, P., SCHWEIZER, D. **Application of Giemsa banding to orchid karyotype analysis.** *In*: Plant Systematic Evolution. v.126: p.107-148, 1980.

SCHWEIZER, D. Reverse fluorescent chromosome-banding with Chromomycin and DAPI. **Chromosoma**, v. 58, n. 4, p. 307-324, 1976.

Anexo



INSTRUÇÕES PARA SUBMISSÃO DE TRABALHOS NA REVISTA PAB

Os trabalhos enviados à PAB devem ser inéditos e não podem ter sido encaminhados a outro periódico científico para publicação. Dados publicados na forma

de resumos, com mais de 250 palavras, não devem ser incluídos no trabalho.

A Comissão Editorial faz análise dos trabalhos antes de submetê-los à assessoria científica.

Nessa análise, consideram-se aspectos como: escopo; apresentação do artigo segundo as normas da revista; formulação do objetivo de forma clara; clareza da redação; fundamentação teórica; atualização da revisão da literatura; coerência e precisão da metodologia; resultados com contribuição significativa; discussão dos fatos observados frente aos descritos na literatura; qualidade das tabelas e figuras; originalidade e consistência das conclusões. Após a aplicação desses critérios, se o número de trabalhos aprovados ultrapassar a capacidade mensal de publicação, é aplicado o critério da relevância relativa, pelo qual são aprovados os trabalhos cuja contribuição para o avanço do

conhecimento científico é considerada mais significativa. Esse critério só é aplicado aos trabalhos que atendem aos requisitos de qualidade para publicação na revista, mas que, em

razão do elevado número, não podem ser todos aprovados para publicação. Os trabalhos rejeitados são devolvidos aos autores e os demais são submetidos à análise de assessores científicos, especialistas da área técnica do artigo.

São considerados, para publicação, os seguintes tipos de trabalho: Artigos Científicos, Notas Científicas, Novas Cultivares e Artigos de Revisão, este último a convite do Editor.

Os trabalhos publicados na PAB são agrupados em áreas técnicas, cujas principais são: Entomologia, Fisiologia Vegetal, Fitopatologia, Fitotecnia, Fruticultura, Genética, Microbiologia, Nutrição Mineral, Solos e Zootecnia.

Os trabalhos devem ser encaminhados por via eletrônica para: pab@sct.embrapa.br

A mensagem que encaminha o trabalho para publicação deve conter:

- * Título do trabalho.
- * Nome completo do(s) autor(es).
- * Formação acadêmica e grau acadêmico do(s) autor(es).
- * Endereço institucional completo e endereço eletrônico do(s) autor(es).
- * Indicação do autor correspondente.
- * Acima de quatro autores, informar a contribuição de cada um no trabalho.
- * Destaque sobre o aspecto inédito do trabalho.
- * Indicação da área técnica do trabalho.
- * Declaração da não-submissão do trabalho à publicação em outro periódico.

Cada autor deve enviar uma mensagem eletrônica, expressando sua concordância com a submissão do trabalho.

O texto deve ser digitado no editor de texto Word, em espaço duplo, fonte Times New Roman, corpo 12, folha formato A4, margens de 2,5 cm, com páginas e linhas numeradas.

1

APRESENTAÇÃO DO ARTIGO CIENTÍFICO

O artigo científico deve ter, no máximo, 20 páginas, incluindo-se as ilustrações (tabelas e figuras), que devem ser limitadas a seis, sempre que possível.

A ordenação do artigo deve ser feita da seguinte forma:

Artigos em português – Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumo, Termos para indexação, título em inglês, Abstract, Index terms, Introdução, Material e Métodos, Resultados e Discussão, Conclusões, Agradecimentos, Referências, tabelas e figuras.

Artigos em inglês – Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Abstract, Index terms, título em português, Resumo, Termos para indexação, Introduction, Material and Methods, Results and Discussion, Conclusions, Acknowledgements, References, tables, figures.

Artigos em espanhol – Título, autoria, endereços institucionais e eletrônicos, Resumen, Términos para indexación; título em inglês, Abstract, Index terms, Introducción, Material y Métodos, Resultados y Discusión, Conclusiones, Agradecimientos, Referencias, cuadros e figuras.

O título, o resumo e os termos para indexação devem ser vertidos fielmente para o inglês, no caso de artigos redigidos em português e espanhol, e para o português, no caso de artigos redigidos em inglês.

Título

* Deve representar o conteúdo e o objetivo do trabalho e ter no máximo 15 palavras, incluindo-se os artigos, as preposições e as conjunções.

* Deve ser iniciado com palavras chaves e não com palavras como “efeito” ou “influência”.

* Não deve conter nome científico, exceto de espécies pouco conhecidas; neste caso, apresentar somente o nome binário.

* Não deve conter subtítulo, abreviações, fórmulas e símbolos.

* As palavras do título devem facilitar a recuperação do artigo por índices desenvolvidos

por bases de dados que catalogam a literatura. * Deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.

Nomes dos autores

* Grafar os nomes dos autores com letra inicial maiúscula, por extenso, separados por vírgula; os dois últimos são separados pela conjunção "e", "y" ou "and", no caso de artigo

em português, espanhol ou em inglês, respectivamente.

* O último sobrenome de cada autor deve ser seguido de um número em algarismo arábico, em forma de expoente, entre parênteses, correspondente à respectiva chamada de endereço do autor.

Endereço dos autores

* São apresentados abaixo dos nomes dos autores, o nome e o endereço postal completos

da instituição e o endereço eletrônico dos autores, indicados pelo número em algarismo arábico, entre parênteses, em forma de expoente.

* Devem ser agrupados pelo endereço da instituição.

2

* Os endereços eletrônicos de autores da mesma instituição devem ser separados por vírgula.

Resumo

- * O termo Resumo deve ser grafado em letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda, e separado do texto por travessão.
- * Deve conter, no máximo, 200 palavras, incluindo números, preposições, conjunções e artigos.
- * Deve ser elaborado em frases curtas e conter o objetivo, o material e os métodos empregados na pesquisa, os resultados e a conclusão.
- * O objetivo deve estar separado da descrição de material e métodos.
- * Não deve conter citações bibliográficas nem abreviaturas.
- * O final do texto deve conter a principal conclusão, com o verbo no presente do indicativo.

Termos para indexação

- * A expressão Termos para indexação, seguida de dois-pontos, deve ser grafada em letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- * Os termos devem ser separados por vírgula e iniciados com letra minúscula.
- * Devem ser no mínimo três e no máximo seis, considerando-se que um termo pode possuir duas ou mais palavras.
- * Não devem conter palavras que componham o título.
- * Devem conter o nome científico (só o nome binário) da espécie estudada.

Introdução

- * A palavra Introdução deve ser centralizada na página e grafada com letras minúsculas, exceto a letra inicial, e em negrito.
- * Deve ocupar, no máximo, duas páginas.
- * Deve apresentar a justificativa para a realização do trabalho, situar a importância do problema científico a ser solucionado e estabelecer sua relação com outros trabalhos publicados sobre o assunto.
- * O último parágrafo deve expressar o objetivo, de forma coerente com o descrito no início do Resumo.

Material e Métodos

- * A expressão Material e Métodos deve ser centralizada na página e grafada em negrito; Os termos Material e Métodos devem ser grafados com letras minúsculas, exceto as letras iniciais.
 - * Deve ser organizado, de preferência, em ordem cronológica.
 - * Deve apresentar a descrição do local, a data e o delineamento do experimento, e indicar os tratamentos, o número de repetições e o tamanho da unidade experimental.
 - * Deve conter a descrição detalhada dos tratamentos e variáveis.
 - * Deve-se evitar o uso de abreviações ou as siglas.
 - * Os materiais e os métodos devem ser descritos de modo que outro pesquisador possa repetir o experimento.
 - * Devem ser evitados detalhes supérfluos e extensas descrições de técnicas de uso corrente.
- 3
- * Deve conter informação sobre os métodos estatísticos e as transformações de dados.
 - * Deve-se evitar o uso de subtítulos; quando indispensáveis, grafá-los em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial, na margem esquerda da página.
 - * Pode conter tabelas e figuras.

Resultados e Discussão

- * A expressão Resultados e Discussão deve ser centralizada na página e grafada em negrito; Os termos Resultados e Discussão devem ser grafados com letras minúsculas,

exceto a letra inicial.

- * Deve ocupar quatro páginas, no máximo.
- * Todos os dados apresentados em tabelas ou figuras devem ser discutidos.
- * As tabelas e figuras são citadas seqüencialmente.
- * Os dados das tabelas e figuras não devem ser repetidos no texto, mas discutidos frente aos apresentados por outros autores.
- * Dados não apresentados não podem ser discutidos.
- * Não deve conter afirmações que não possam ser sustentadas pelos dados obtidos no próprio trabalho ou por outros trabalhos citados.
- * As chamadas às tabelas ou às figuras devem ser feitas no final da primeira oração do texto em questão; se as demais sentenças do parágrafo referirem-se à mesma tabela ou figura, não é necessária nova chamada.
- * Não apresentar os mesmos dados em tabelas e em figuras.
- * As novas descobertas devem ser confrontadas com o conhecimento anteriormente obtido.

Conclusões

- * O termo Conclusões deve ser centralizado na página e grafado em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- * Devem ser apresentadas em frases curtas, sem comentários adicionais, com o verbo no presente do indicativo, e elaboradas com base no objetivo do trabalho.
- * Não podem consistir no resumo dos resultados.
- * Devem apresentar as novas descobertas da pesquisa.
- * Devem ser numeradas e no máximo cinco.

Agradecimentos

- * A palavra Agradecimentos deve ser centralizada na página e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- * Devem ser breves e diretos, iniciando-se com "Ao, Aos, À ou Às" (pessoas ou instituições).
- * Devem conter o motivo do agradecimento.

Referências

- * A palavra Referências deve ser centralizada na página e grafada em negrito, com letras minúsculas, exceto a letra inicial.
- * Devem ser de fontes atuais e de periódicos: pelo menos 70% das referências devem ser dos últimos 10 anos e 70% de artigos de periódicos.
- * Devem ser normalizadas de acordo com as normas vigentes da ABNT.
- 4
- * Devem ser apresentadas em ordem alfabética dos nomes dos autores, separados por ponto-e-vírgula, sem numeração.
- * Devem apresentar os nomes de todos os autores da obra.
- * Devem conter os títulos das obras ou dos periódicos grafados em negrito.
- * Devem conter somente a obra consultada, no caso de citação de citação.
- * Todas as referências devem registrar uma data de publicação, mesmo que aproximada.
- * Devem ser trinta, no máximo.

Exemplos:

Artigos de Anais de Eventos (aceitos apenas trabalhos completos)

AHRENS, S. A fauna silvestre e o manejo sustentável de ecossistemas florestais. In: SIMPÓSIO LATINO-AMERICANO SOBRE MANEJO FLORESTAL, 3., 2004, Santa

Maria. **Anais**. Santa Maria: UFSM, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Florestal, 2004. p.153-162.
Artigos de periódicos
SANTOS, M.A. dos; NICOLÁS, M.F.; HUNGRIA, M. Identificação de QTL associados à simbiose entre *Bradyrhizobium japonicum*, *B. elkanii* e soja. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, p.67-75, 2006.
Capítulos de livros
AZEVEDO, D.M.P. de; NÓBREGA, L.B. da; LIMA, E.F.; BASTISTA, F.A.S.; BELTRÃO, N.E. de M. Manejo cultural. In: AZEVEDO, D.M.P.; LIMA, E.F. (Ed.). **O agronegócio da mamona no Brasil**. Campina Grande: Embrapa Algodão; Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2001. p.121-160.
Livros
OTSUBO, A.A.; LORENZI, J.O. **Cultivo da mandioca na Região Centro-Sul do Brasil**. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste; Cruz das Almas: Embrapa Mandioca e Fruticultura, 2004. 116p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Sistemas de produção, 6).
Teses e dissertações
HAMADA, E. **Desenvolvimento fenológico do trigo (cultivar IAC 24 - Tucuruí), comportamento espectral e utilização de imagens NOAA-AVHRR**. 2000. 152p. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
Fontes eletrônicas
EMBRAPA AGROPECUÁRIA OESTE. **Avaliação dos impactos econômicos, sociais e ambientais da pesquisa da Embrapa Agropecuária Oeste**: relatório do ano de 2003. Dourados: Embrapa Agropecuária Oeste, 2004. 97p. (Embrapa Agropecuária Oeste. Documentos, 66). Disponível em: <<http://www.cpa0.embrapa.br/publicacoes/ficha.php?tipo=DOC&num=66&ano=2004>> .
Acesso em: 18 abr. 2006.
Citações
* Não são aceitas citações de resumos, comunicação pessoal, documentos no prelo ou qualquer outra fonte, cujos dados não tenham sido publicados.
* A autocitação deve ser evitada.
5
Redação das citações dentro de parênteses
* Citação com um autor: sobrenome grafado com a primeira letra maiúscula, seguido de vírgula e ano de publicação.
* Citação com dois autores: sobrenomes grafados com a primeira letra maiúscula, separados pelo "e" comercial (&), seguidos de vírgula e ano de publicação.
* Citação com mais de dois autores: sobrenome do primeiro autor grafado com a primeira letra maiúscula, seguido da expressão et al., em fonte normal, vírgula e ano de publicação.
* Citação de mais de uma obra: deve obedecer à ordem cronológica e em seguida à ordem alfabética dos autores.
* Citação de mais de uma obra dos mesmos autores: os nomes destes não devem ser repetidos; colocar os anos de publicação separados por vírgula.
* Citação de citação: sobrenome do autor e ano de publicação do documento original, seguido da expressão "citado por" e da citação da obra consultada.

* Deve ser evitada a citação de citação, pois há risco de erro de interpretação; no caso de uso de citação de citação, somente a obra consultada deve constar da lista de referências.

Redação das citações fora de parênteses

* Citações com os nomes dos autores incluídos na sentença: seguem as orientações anteriores, com os anos de publicação entre parênteses; são separadas por vírgula.

Fórmulas, expressões e equações matemáticas

* Fórmulas, expressões, símbolos ou equações matemáticas, escritas no editor de equações do programa Word, devem ser enviadas também em arquivos separados, no programa Corel Draw, gravadas com extensão CDR.

* No texto, devem ser iniciadas à margem esquerda da página e apresentar tamanho padronizado da fonte Times New Roman.

* Não devem apresentar letras em itálico ou negrito.

Tabelas

* As tabelas devem ser numeradas sequencialmente, com algarismo arábico, e apresentadas em folhas separadas, no final do texto, após referências.

* Devem ser auto-explicativas.

* Seus elementos essenciais são: título, cabeçalho, corpo (colunas e linhas) e coluna indicadora dos tratamentos ou das variáveis.

* Os elementos complementares são: notas-de-rodapé e fontes bibliográficas.

* O título, com ponto no final, deve ser precedido da palavra Tabela, em negrito; deve ser claro, conciso e completo; deve incluir o nome (vulgar ou científico) da espécie e das

variáveis dependentes.

* No cabeçalho, os nomes das variáveis que representam o conteúdo de cada coluna devem ser grafados por extenso; se isso não for possível, explicar o significado das abreviaturas no título ou nas notas-de-rodapé.

* Todas as unidades de medida devem ser apresentadas segundo o Sistema Internacional de Unidades.

* Nas colunas de dados, os valores numéricos devem ser alinhados pelo último algarismo; a coluna indicadora é alinhada esquerda.

6

* Nenhuma célula (cruzamento de linha com coluna) deve ficar vazia no corpo da tabela; dados não apresentados devem ser representados por hífen, com uma nota-de-rodapé explicativa.

* Na comparação de médias de tratamentos são utilizadas, no corpo da tabela, na coluna ou na linha, à direita do dado, letras minúsculas ou maiúsculas, com a indicação em notade-rodapé do teste utilizado e a probabilidade.

* Devem ser usados fios horizontais para separar o cabeçalho do título, e do corpo; usálos

ainda na base da tabela, para separar o conteúdo dos elementos complementares.

* Fios horizontais adicionais podem ser usados dentro do cabeçalho e do corpo; não usar fios verticais.

* As tabelas devem ser editadas em arquivo Word, usando os recursos do menu Tabela; não fazer espaçamento utilizando a barra de espaço do teclado, mas o recurso recuo do menu Formatar Parágrafo.

Notas de rodapé das tabelas

- * Notas de fonte: indicam a origem dos dados que constam da tabela; as fontes devem constar nas referências.
- * Notas de chamada: são informações de caráter específico sobre partes da tabela, para conceituar dados. São indicadas em algarismo arábico, na forma de expoente, entre parênteses, à direita da palavra ou do número, no título, no cabeçalho, no corpo ou na coluna indicadora. São apresentadas de forma contínua, sem mudança de linha, separadas por ponto.
- * Para indicação de significância estatística, são utilizadas, no corpo da tabela, na forma de expoente, à direita do dado, as chamadas *ns* (não-significativo); * e ** (significativo a 5 e 1% de probabilidade, respectivamente).

Figuras

- * São consideradas figuras: gráficos, desenhos, mapas e fotografias usados para ilustrar o texto.
- * Só devem acompanhar o texto quando forem absolutamente necessárias à documentação dos fatos descritos.
- * O título da figura, sem negrito, deve ser precedido da palavra Figura, do número em algarismo arábico, e do ponto, em negrito.
- * Devem ser auto-explicativas.
- * A legenda (chave das convenções adotadas) deve ser incluída no corpo da figura, no título, ou entre a figura e o título.
- * Nos gráficos, as designações das variáveis dos eixos X e Y devem ter iniciais maiúsculas, e devem ser seguidas das unidades entre parênteses.
- * Figuras não-originais devem conter, após o título, a fonte de onde foram extraídas; as fontes devem ser referenciadas.
- * O crédito para o autor de fotografias é obrigatório, como também é obrigatório o crédito para o autor de desenhos e gráficos que tenham exigido ação criativa em sua elaboração.
- * As unidades, a fonte (Times New Roman) e o corpo das letras em todas as figuras devem ser padronizados.

7

- * Os pontos das curvas devem ser representados por marcadores contrastantes, como: círculo, quadrado, triângulo ou losango (cheios ou vazios).
- * Os números que representam as grandezas e respectivas marcas devem ficar fora do quadrante.
- * As curvas devem ser identificadas na própria figura, evitando o excesso de informações que comprometa o entendimento do gráfico.
- * Devem ser elaboradas de forma a apresentar qualidade necessária à boa reprodução gráfica e medir 8,5 ou 17,5 cm de largura.
- * Devem ser gravadas no programa Word ou Excel, para possibilitar a edição em possíveis correções.
- * Usar fios com, no mínimo, 3/4 ponto de espessura.
- * No caso de gráfico de barras e colunas, usar escala de cinza (exemplo: 0, 25, 50, 75 e 100%, para cinco variáveis).
- * Não usar negrito nas figuras.
- * As figuras na forma de fotografias devem ter resolução de, no mínimo, 300 dpi e ser gravadas em arquivos extensão TIF, separados do arquivo do texto.
- * Evitar usar cores nas figuras; as fotografias, porém, podem ser coloridas.

NOTAS CIENTÍFICAS

- * Notas científicas são breves comunicações, cuja publicação imediata é justificada, por se tratar de fato inédito de importância, mas com volume insuficiente para constituir um

artigo científico completo.

APRESENTAÇÃO DE NOTAS CIENTÍFICAS

* A ordenação da Nota Científica deve ser feita da seguinte forma: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, Termos para indexação, título em inglês,

Abstract, Index terms, texto propriamente dito (incluindo introdução, material e métodos,

resultados e discussão, e conclusão, sem divisão), Referências, tabelas e figuras.

As normas de apresentação da Nota Científica são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:

* Resumo com 100 palavras, no máximo.

* Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.

* deve apresentar, no máximo, 15 referências e duas ilustrações (tabelas e figuras).

NOVAS CULTIVARES

* Novas Cultivares são breves comunicações de cultivares que, depois de testadas e avaliadas pelo Sistema Nacional de Pesquisa Agropecuária (SNPA), foram superiores às já

utilizadas e serão incluídas na recomendação oficial.

APRESENTAÇÃO DE NOVAS CULTIVARES

Deve conter: título, autoria (com as chamadas para endereço dos autores), Resumo, título em inglês, Abstract, Introdução, Características da Cultivar, Referências, tabelas e

8
figuras. As normas de apresentação de Novas Cultivares são as mesmas do Artigo Científico, exceto nos seguintes casos:

* Resumo com 100 palavras, no máximo.

* Deve ter apenas oito páginas, incluindo-se tabelas e figuras.

* deve apresentar, no máximo, 15 referências e quatro ilustrações (tabelas e figuras).

* A introdução deve apresentar breve histórico do melhoramento da cultura, indicando as instituições envolvidas e as técnicas de cultivo desenvolvidas para superar determinado problema.

* A expressão Características da Cultivar deve ser digitada em negrito, no centro da página.

* Características da Cultivar deve conter os seguintes dados: características da planta, reação a doenças, produtividade de vagens e sementes, rendimento de grãos, classificação

comercial, qualidade nutricional e qualidade industrial, sempre comparado com as cultivares testemunhas.

OUTRAS INFORMAÇÕES

• Não há cobrança de taxa de publicação.

• Os manuscritos aprovados para publicação são revisados por no mínimo dois especialistas.

• O editor e a assessoria científica reservam-se o direito de solicitar modificações nos artigos e de decidir sobre a sua publicação.

• São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos emitidos nos trabalhos.

• Os trabalhos aceitos não podem ser reproduzidos, mesmo parcialmente, sem o consentimento expresso do editor da PAB.

• **Contatos com a secretaria da revista podem ser feitos por telefone: (61)3448-4231**

e 3273-9616, fax: (61)3340-5483, via e-mail: pab@sct.embrapa.br ou pelos correios:
Embrapa Informação Tecnológica, Pesquisa Agropecuária Brasileira – PAB,
Caixa
Postal 040315, CEP 70770-901 Brasília, DF.