

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO MESTRADO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO

JARBSON HENRIQUE OLIVEIRA SILVA

PADRÕES DE DISTRIBUIÇÃO DE DNA REPETITIVO EM *Parkia platycephala*Benth. (LEGUMINOSAE, CAESALPINIOIDEAE) USANDO FLUOROCROMOS
CMA/DAPI

Teresina

JARBSON HENRIQUE OLIVEIRA SILVA

PADRÕES DE DISTRIBUIÇÃO DE DNA REPETITIVO EM *Parkia platycephala*Benth. (LEGUMINOSAE, CAESALPINIOIDEAE) USANDO FLUOROCROMOS CMA/DAPI

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento -PPGM da Universidade Federal do Piauí – UFPI, como requisito para obtenção do título de Mestre em Genética e Melhoramento

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lidiane de Lima Feitoza Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Lívia do Vale Martins

Teresina

2021

FICHA CATALOGRÁFICA Universidade Federal do Piauí Biblioteca Setorial do Centro de Ciências Agrárias Serviço de Processos Técnicos

S586p Silva, Jarbson Henrique Oliveira

Padrões de distribuição de DNA repetitivo em *Parkia platycephala* Benth. (Leguminosae, Caesalpinoideae) usando fluorocromos CMA/DAPI. / Jarbson Henrique Oliveira Silva – 2021.

58 f.: il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Piauí, Centro de Ciências cias Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento, Teresina, 2021.

"Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lidiane de Lima Feitoza" "Coorientadora: Prof.^a Dr^a. Lívia do Vale Martins

1. Cerrado brasileiro 2. Faveira-de-bolota 3. Heterocromatina construtiva I. Feitoza, Lidiane de Lima. II. Martins, Lívia do Vale III. Título.

CDD 574.5

Padrões de distribuição de DNA repetitivo em Parkia platycephala Benth. (Leguminosae, Caesalpiniodeae) usando fluorocromos CMA e DAPI

Jarbson Henrique Oliveira Silva

Bacharelado em Ciências Biológicas

Aprovado em 26/08/2021

Comissão Julgadora:

Profa, Dra, Ana Paula Peron - UFTPR

Verônica Brito da Silva

Profa. Dra. Verônica Brito da Silva - PNPD/UFPI

Profa. Dra. Lívia do Vale Martins - CCN/UFPI Coorientadora

Rax Per Allitone

heiria do Vale Martins

Profa. Dra. Lidiane de Lima Feitoza - CCN/UFPI Orientadora

AGRADECIMENTO

À Universidade Federal do Piauí (UFPI), pela oportunidade de cursar o mestrado em Genética e Melhoramento (PPGM/UFPI) e estrutura fornecida para que isso se tornasse possível.

À **CAPES** pelo apoio financeiro de essencial importância para a viabilidade da minha pesquisa.

Ao coordenador do PPGM, **José Evando Aguiar Beserra Junior**, pela dedicação e empenho em sua função, permitindo que tudo ocorresse bem em um período tão atípico e desafiador para os programas de pós-graduação.

Ao **César Viana da Silva**, Secretário do PPGM, por ser sempre solícito e disposto a ajudar os alunos do programa da maneira mais gentil e tranquilizadora possível.

Aos meus colegas da turma 2019.1, Laís, Guilherme, Walter, Luciana, Elenildo, Maurício e Jailson, obrigado pela oportunidade de compartilhar conhecimento com pessoas tão dedicadas e inteligentes. Agradeço especialmente ao meu amigo Kelvim Crist por toda ajuda, amizade e cumplicidade durante este período do mestrado.

Aos meus amigos e excelentes companheiros de trabalho do Laboratório de Citogenética Vegetal, em especial ao **Yago de Oliveira Martins**, **Breno de Oliveira Machado** e **João Pedro Farias e Silva**. Obrigado por me acolherem tão bem e me introduzirem na rotina do laboratório. Agradeço também pelos momentos de descontração, que tornaram o trabalho bem mais prazeroso e divertido.

À minha orientadora **Lidiane de Lima Feitoza**, por ser uma inspiração de perseverança, superação e sabedoria. Por seu acolhimento e paciência. Pela paixão em mim despertada pela citogenética desde sua primeira aula. Agradeço também pelos seus ensinamentos valiosos e pela sua amizade.

À minha coorientadora, **Lívia do Vale Martins**, por ter me feito crescer tanto em tão pouco tempo. Obrigado pelos seus ensinamentos e contribuições. Agradeço

imensamente também pela forma gentil como tem encarado meus erros e pela forma tão encorajadora que tem encarado meus acertos. Muito obrigado!

A todos os meus amigos, em especial **Pedro Felipe** e **Victor Enzo**, por serem como irmãos para mim. Obrigado pela cumplicidade, pelo cuidado e por sempre me apoiarem e estarem comigo em todos os momentos. Amo vocês.

Aos meus pais, **Maria Núbia** e **Carlos Alberto** pela confiança em mim depositada desde sempre. Pela motivação e incentivo para que eu realize meus sonhos através dos estudos, por sempre me escutarem e me permitirem a liberdade de ser quem eu sou.

Aos meus irmãos mais novos **Hellen Rayanne**, **Lucas Rafael** e **Carla Beatriz**, por me ensinarem o real significado das palavras "cuidado", "carinho" e "amor". Obrigado por despertarem o melhor que há em mim e por me inspirarem a ser alguém melhor todos os dias.

A todos os **professores** e **pesquisadores** com quem tive a honra de aprender para que pudesse chegar aonde cheguei.

A todos que um dia já foram impedidos de estudar e de fazer parte da ciência por discriminação, preconceito e exploração. A luta está valendo a pena, mas ainda há muito o que conquistar.

"O aspecto mais impressionante do mundo vivo é a sua diversidade. Não existem dois indivíduos iguais em populações que se reproduzem sexuadamente, nem duas populações, espécies ou táxons mais elevados que sejam iguais. Para onde quer que olhemos na natureza, encontramos singularidade".

(Ernst Mayr)

RESUMO

O cerrado, bioma de relevante importância brasileira, é representado por um mosaico de espécies e vegetações de grande importância econômica e social. Dentre elas, destaca-se Parkia platycephala Benth. (família Leguminosae, subfamília Caesalpinioideae, clado Mimoisoid), popularmente conhecida como faveira, faveirade-bolota ou, fava-de-bolota. P. platycephala é uma leguminosa arbórea de grande potencial ecológico, paisagístico, energético e nutricional. Estudos envolvendo as relações filogenéticas dentro do gênero Parkia e em gêneros proximamente relacionados tem sido foco de pesquisas recentes. Apesar disso, estudos citogenéticos em *Parkia* são, ainda, escassos e incipientes. Diante disso, o presente estudo objetivou caracterizar citogeneticamente o cariótipo de 10 acessos de P. platycephala quanto ao número cromossômico, localização e distribuição dos blocos de heterocromatina constitutiva (HC) por meio de dupla coloração por fluorocromos CMA/DAPI. Para isso, as sementes de P. platycephala foram escarificadas mecanicamente e germinadas em placas de Petri. As radículas foram coletadas e prétratadas com PDB. As lâminas foram preparadas de acordo com o protocolo de Carvalho e Saraiva (1993), com pequenas modificações. Todos os acessos avaliados apresentaram número cromossômico básico 2n = 26, com cromossomos pequenos, de morfologia meta- e submetacêntrica. Em todos os acessos, foi possível identificar pelo menos duas bandas CMA++/DAPI- que, provavelmente, são correspondentes a regiões organizadoras de nucléolos (RONs). Ainda, foi possível observar polimorfismo intraespecífico quanto ao padrão e distribuição de bandas heterocromáticas, variando de duas (PP 118) e 20 bandas (EB 07) entre os acessos analisados. O bandeamento por fluorocromos permitiu realizar, pela primeira vez em *P. platycephala*, uma análise de distribuição de HC nos cromossomos dessa espécie, contribuindo para uma melhor compreensão do cariótipo dessa leguminosa de importância nacional.

Palavras-chave: Cerrado brasileiro, faveira-de-bolota, heterocromatina constitutiva

ABSTRACT

The Cerrado (Brazilian Savanna), relevant Brazilian important biome, is represented by a mosaic of species and vegetation of great economic and social importance. We highlight Parkia platycephala Benth., popularly known as faveira, faveira-de-bolota and fava-de-bolota. P. platycephala is an arboreal legume with great ecological, landscape, energy and nutritional value. Phylogenetic studies in Parkia and its closely related genera have been focus of recent researches. However, cytogenetic studies in Parkia are relatively scarce and incipient. Thus, the present study aimed to cytogenetically characterize the karyotype of 10 P. platycephala accessions regarding to the chromosome number, location and distribution of constitutive heterochromatin (CH) blocks by double staining with CMA/DAPI fluorochromes. Seeds of P. platycephala were mechanically scarified and germinated in Petri dishes. The root tips were collected and pretreated with PDB. The slides were prepared according to Carvalho and Saraiva (1993) protocol, with minor modifications. In all accessions, it was possible to identify at least two CMA++/DAPI- bands, which probably correspond to nucleolar organizing regions (NORs). Furthermore, it was possible to observe intraspecific polymorphism regarding the pattern and distribution of heterochromatic bands, ranging from two (PP 118) and 20 bands (EB 07) among the analyzed accessions. Fluorochrome banding allowed to perform, for the first time in P. platycephala, an analysis of the distribution of CH in the chromosomes of this species, contributing to a better understanding of the karyotype of this legume of national importance.

Keywords: Brazilian Savana, faveira-de-bolota, constitutive heterochromatin

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: As três fitosfisionomias encontradas no bioma Cerrado (Florestas, Savanas e Campos), separadas por linhas tracejadas em cinza. Abaixo de cada fitofisionomia, são identificados os diferentes subtipos fitofisionômicos. Fonte: Embrapa (adaptado).
- Figura 2 Árvore consenso de regra-majoritária (A) e filograma (B) derivado de análise Bayesiana baseada em sequências de DNA plastidial matK, trnL, psbA-trnH e rps16-trnQ e região nuclear ITS/18S/26S, mostrando a relação entre 30 espécies de *Parkia* e 16 grupos externos. Os números correspondem à Probabilidade Posterior (PP) Bayesiana e os Valores de Bootstrap da ML. Asteriscos correspondem a cada valor BS que não foi recuperado. Fonte: Oliveira (2020).
- Figura 3 Fotografia de inflorescência de *P. platycephala*. Fonte: Samya Ramos.
- Figura 4 Mapa evidenciando os locais de coleta das vagens de *Parkia platycephala*, agrupados em duas populações: 1. População próxima ao PNSC e; 2. População dentro do PNSC.
- Figura 5 Cromossomos metafásicos mitóticos dos acessos de *P. platycephala* evidenciados por meio de dupla coloração por DAPI (azul) e CMA (amarelo). Números dos acessos estão indicados à esquerdas. Setas indicam os blocos de RONs distendidas e cabeças de seta indicam blocos menores de CMA. Barra = 5 µm.
- Figura 6 Cromossomos metafásicos mitóticos dos acessos de *P. platycephala* evidenciados por meio de dupla coloração por DAPI (azul) e CMA (amarelo). Números dos acessos estão indicados à esquerda. Setas indicam os blocos de RONs distendidas e cabeças de seta indicam blocos menores de CMA. Barra = 5µm.
- Figura 7 Idiogramas representando o tamanho, morfologia e distribuição de blocos de HC em cada par pares cromossômicos do cariótipo dos acessos de *P. platycephala* analisados. Acessos estão identificados na margem superior à direita dos idiogramas. Em azul, representação esquemática dos cromossomos pseudocorados em DAPI e, em amarelo, os blocos de CMA. Centrômeros estão representados por X.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Número cromossômico diploide (2*n*), intervalo do tamanho cromossômico (ITC), média da razão entre os braços do cromossomo (r), fórmula cariotípica (FC), comprimento total cromossômico (CTC), comprimento médio cromossômico (CMC), comprimento total do lote haploide (CTLH) e número de bandas CMA/DAPI dos acessos de *P. platycephala* pertencentes ao banco do laboratório de sementes da Universidade Federal do Piauí (UFPI). CMA+ representa bandas GC mais fortemente coradas e DAPI- representa bandas AT reduzidas.

Tabela 2 – Porcentagem de heterocromatina presente no cariótipo dos acessos de *P. platycephala*.

SUMÁRIO

ABSTRACT	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABELAS	12
1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
2.1 O CERRADO E O PARQUE NACIONAL DE SETE CIDADES (PNSC)	14
2.2 A FAMÍLIA LEGUMINOSAE (FABACEAE)	17
2.2.1 O CLADO MIMOSOIDE	18
2.2.1.1 O GÊNERO PARKIA R. BR	19
3.1.1.1 Relações infragenéricas	20
2.2.1.1.2 Considerações evolutivas e biogeografia	22
2.3.3 CITOGENÉTICA DE PLANTAS DO CERRADO	30
2.3.1.1 CITOGENÉTICA DO GÊNERO <i>PARKIA</i>	32
3 MATERIAIS E MÉTODO	33
3.1 Origem dos acessos	33
3.2 CARACTERIZAÇÃO CITOGENÉTICA	34
3.2.1 Obtenção das raízes, pré-tratamento e fixação das células	34
3.2.2 Preparo de lâminas e bandeamento com fluorocromos CMA e DA	PΙ
	34
3.2.3 Captura e processamento de imagens	34
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	35
5 CONCLUSÕES	47
REFERÊNCIAS	48

1 INTRODUÇÃO

O Cerrado brasileiro é considerado um dos biomas de maior diversidade biológica vegetal mundial. Embora pouco conhecida, estima-se que a flora do Cerrado seja constituída de, aproximadamente, 3.000 espécies, sendo Leguminosae uma das famílias de maior destaque (BORGES e MACIEL, 2003). No Nordeste, esse bioma possui ampla distribuição nos estados do Piauí e Maranhão, com extensas áreas de transição cobertas por formações ecotonais. Na porção Norte do Piauí, encontram-se áreas de transição entre a Floresta Amazônica e a Caatinga, identificadas por florestas decíduas e semideciduais, e florestas de babaçu e carnaúba. Já a porção Centro-Sul do estado é caracterizada por uma área de sobreposição entre a Caatinga e Cerrado, representada por vegetação tipicamente de área aberta e adaptada a déficits hídricos (FARIAS e CASTRO 2004).

Em virtude da crescente taxa de desmatamento no Cerrado, que leva a processos de erosão genética, torna-se importante a adoção de medidas que visem a preservação das espécies inseridas nesse bioma. Nesse sentido, os Parques Nacionais possuem um importante papel na conservação de espécies. No Nordeste, destaca-se o Parque Nacional de Sete Cidades (PNSC), localizado no Piauí. A criação desse parque foi reconhecida como nicho prioritário para a conservação dos biomas Cerrado e Caatinga (CAVALCANTI, 2013). Estudos recentes acerca da composição da diversidade da vegetação arbórea do PNSC indicaram a ocorrência de espécies com distribuição exclusiva, restrita e limitada à essa região, demonstrando, assim, a singularidade florística do local. A importância da preservação de espécies nessa unidade de conservação é, portanto, fundamental para a sua manutenção.

Devido à sua importância social, ecológica e econômica, as espécies do Cerrado têm sido alvo de pesquisas genéticas, genômicas e morfoagronômicas. Esses estudos têm auxiliado a compreensão da história evolutiva e das relações filogenéticas entre e dentro táxons desse bioma (MORALES, 2020; FENKER, 2020). Apesar disso, estudos citogenéticos de espécies pertencentes ao Cerrado e ao PNSC ainda são incipientes, com pouca ou nenhuma informação citogenética disponível acerca da sua constituição cariotípica (ROA e GUERRA, 2017).

Parkia R. Br. é um gênero de leguminosas arbóreas, pertencente à subfamília Caesalpinoideae (clado Mimosoid, tribo Mimosea). Dentre as 35 espécies do gênero, destaca-se *P. platycephala* Benth., popularmente conhecida como faveira ou fava-debolota. Essa espécie apresenta relevante potencial madeireiro, ornamental e nutricional, além de ser facilitadora, fixadora de nitrogênio e, geralmente, utilizada na revegetação de áreas degradadas (BEZERRA et al., 2009; LORENZI, 2013; CABRAL, 2017). O seu potencial nutritivo é devido ao alto valor proteico presente nos seus frutos, usados na suplementação alimentar de ruminantes, prática comum no estado do Piauí nos períodos de estiagem (ALVES et al., 2007; ARAÚJO et al., 2019).

Recentemente, estudos filogenéticos utilizando marcadores moleculares têm sido realizados no gênero *Parkia* (OLIVEIRA, 2015, 2021). Há, contudo, uma limitação quanto aos estudos citogenéticos nas espécies do gênero, não permitindo um maior detalhamento acerca da organização cariotípica dentro e entre as espécies de *Parkia*. Esses estudos estão restritos à identificação do número e tamanho cromossômico por coloração convencional de poucas espécies do gênero. Não há, ainda, dados citogenéticos descritos para a espécie *P. platycephala*.

A fim de compreender melhor a estruturação cariotípica de *P. platycephala*, o presente estudo objetivou analisar, pela primeira vez nessa espécie, o número cromossômico, a distribuição e localização de blocos de heterocromatina constitutiva (HC) em dez acessos de *P. platycephala* por meio de fluorocromos CMA e DAPI. Os resultados gerados por esse trabalho permitiram uma maior compreensão acerca da estruturação cromossômica e distribuição de sequências repetitivas no genoma dessas leguminosas socioeconomicamente importantes do Cerrado brasileiro.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 O CERRADO E O PARQUE NACIONAL DE SETE CIDADES (PNSC)

O Cerrado brasileiro é um dos biomas mais ricos do planeta (MACHADO et al., 2004; SILVEIRA et al., 2019). Sua vegetação possui uma fisionomia bastante diversificada, apresentando desde formas campestres abertas, como campos limpos de vegetação rasteira sem arbustos ou árvores, até formas relativamente densas, denominadas cerradões, caracterizadas por matas fechadas com árvores altas e solo seco (Figura 1). Entre esses dois extremos fisionômicos, encontram-se as formas intermediárias, como os campos sujos, com vegetação rasteira e presença de arbustos, e o Cerrado em sentido restrito, caracterizado por uma vegetação rasteira com arbustos e árvores geralmente pequenas e espaçadas entre si (BORGES e MACIEL, 2003; SCARIOT et al., 2005).

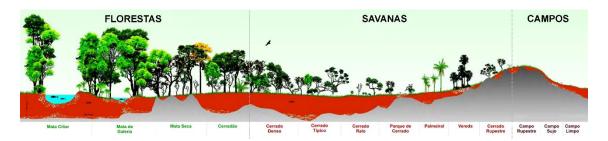


Figura 1: As três fitosfisionomias encontradas no bioma Cerrado (Florestas, Savanas e Campos), separadas por linhas tracejadas em cinza. Abaixo de cada fitofisionomia, são identificados os diferentes subtipos fitofisionômicos. Fonte: Embrapa (adaptado). Disponível em: https://www.embrapa.br/cerrados/colecao-entomologica/bioma-cerrado

Embora ainda pouco conhecida, estima-se que a flora do Cerrado seja constituída de, aproximadamente, 3.000 espécies, sendo 1.000 espécies do estrato arbóreo-arbustivo e 2.000 do estrato herbáceo-subarbustivo. Nesse contexto, destacam-se as espécies lenhosas e herbáceas das famílias Leguminosae (Fabaceae Lindl.) e Poaceae Juss. (Gramineae Juss.), respectivamente (BORGES e MACIEL, 2003). O Cerrado é, portanto, apontado como o maior centro de diversidade biológica vegetal mundial (GUARIM NETO e MORAIS, 2003), ocupando áreas na Bolívia, Paraguai e Brasil. Paisagens semelhantes são encontradas no norte da América do Sul (Guiana, Suriname, Colômbia e Venezuela), onde recebe a denominação de "Llanos" (WALKER, 2008).

No Brasil, o Cerrado abrange os estados de Goiás, Tocantins e o Distrito Federal e parte dos estados da Bahia, Ceará, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Piauí, Rondônia e São Paulo. Além disso, ocorre em áreas disjuntas ao norte nos estados do Amapá, Amazonas, Pará e Roraima, e no Paraná, em pequenas "ilhas" (EITEN, 1972, VILLWOLCK, 2021). No território brasileiro, as disjunções acontecem: na Floresta Amazônica, em regiões denominadas "savanas amazônicas" (SANAIOTTI, 1991; ABSY e MIRANDA 2000); na Floresta Atlântica, especialmente na região sudeste, nos Estados de São Paulo e Minas Gerais; na Caatinga, como manchas isoladas no Maranhão, Piauí, Ceará e Bahia (EITEN, 1994b); além do Pantanal, onde mescla-se fisionomicamente com esse bioma (ADÁMOLI, 1982; ALLEM e VALLS, 1987).

No Nordeste brasileiro, o Cerrado possui maior concentração nos estados do Piauí e Maranhão, abrangendo uma área de 20 milhões de hectares (ha) (FELFILI e MATOS, 2010). O Piauí possui extensas áreas de transição, que são cobertas por formações ecotonais. Na porção Norte do estado, encontram-se áreas de transição entre a floresta Amazônica e a Caatinga, identificadas por florestas decíduas e semideciduais, e florestas de babaçu e carnaúba. Já a porção Centro-Sul é caracterizada pelo encontro entre a Caatinga (cerca de 37%) e o Cerrado (cerca de 33%), representada por vegetação tipicamente de área aberta e adaptada a déficits hídricos (CASTRO e FARIAS 2004).

Dentre as fisionomias, as Matas de Galeria do Cerrado possuem maior complexidade estrutural (FELFILI, 1995). São vegetações que acompanham rios de pequeno porte e córregos, formando uma rede que conecta as florestas Amazônica e Atlântica no sentido noroeste-sudeste, atravessando o Cerrado, atuando como corredores de migração de espécies (RIZZINI 1979, OLIVEIRA-FILHO e RATTER, 1995). Somado a isso, possuem a maior biodiversidade proporcional à área que ocupam (cerca de 5% do bioma) (MENDONÇA et al. 1998). O avanço das fronteiras agrícola e urbana ameaçam a existência e manutenção desse fitodomínio. Espécies nativas importantes comercial e ecologicamente estão desaparecendo em virtude da desordenada ocupação urbana e da crescente expansão agropecuária (FIEDLER et al., 2004; STRASSBURG, 2017; BOLSON, 2018).

O valor do bioma Cerrado é reconhecido nas leis brasileiras, as quais proíbem sua destruição (Resolução CONAMA nº 303, de 20 de março de 2002). O sistema de

Unidades de Conservação brasileiro possui 73 Parques Nacionais, cobrindo cerca de 75 milhões de ha (~10% do território brasileiro) (ICMBio, 2016). Esses parques possuem fundamental importância na conservação da biodiversidade, pois protegem os ambientes naturais e seus recursos, a fauna e a flora. Além disso, fornecem subsídios para pesquisas científicas, educação ambiental e turismo sustentável.

Existem 20 Parques Nacionais distribuídos no Nordeste do Brasil. Desses, quatro localizam-se no estado do Piauí: Parque Nacional da Serra da Capivara (PNSCa); Parque Nacional das Sete Cidades (PNSC); Parque Nacional da Serra das Confusões (PNSCo); e Parque Nacional Nascentes do Rio Parnaíba (PNNRP) (ICMBio, 2016). Esses quatro parques nacionais possuem uma área conjunta de, aproximadamente, 11.817,46 km², representando cerca de 4,7% do estado do Piauí. Os parques possuem ambientes com características de diferentes biomas, formando uma paisagem complexa e de alta biodiversidade (MATOS et al. 2010). Dentre eles, destaca-se o PNSC, criado (Decreto Federal nº 50.744 de 08.07.1961) com o objetivo de estudar e proteger a diversidade de recursos hídricos, vegetais e do solo (IBDF, 1979).

O PNSC, localiza-se no nordeste do estado do Piauí, distribuído entre os municípios de Piracuruca e Brasileira e possui uma área de 6.303,64 hectares (ICMBIO, 2021). A criação desse parque foi reconhecida como nicho prioritário para a conservação dos biomas Cerrado e Caatinga (CAVALCANTI, 2013). No PNSC, as matas de galeria são constituídas por faixas naturais não extensas de ocorrência nas margens dos riachos, correspondendo à menor extensão entre as formações florestais do Parque (OLIVEIRA, 2004). Essas matas estão inseridas em uma matriz de cerrado sensu lato, com contato geográfico com a Caatinga e Amazônia. O PNSC está situado em uma região de "tensão ecológica savana-floresta estacional" (MATOS, 2010).

Ao avaliar a composição florística, fitossociologia e diversidade das matas de galeria que se distribuem ao longo dos cursos d'água localizados no PNSC, Matos e Felfini (2010) relataram que, das 75 espécies amostradas nessas matas, cerca de 28% (21 espécies) podem ser consideradas como restritamente distribuídas à essa região, o que aumenta a importância da sua preservação nessa unidade de conservação. Muitas dessas espécies apresentaram representatividade limitada ao PNSC demonstrando, assim, a sua singularidade florística do local. Nesse contexto, destacam-se as espécies da família Leguminosae.

2.2 A FAMÍLIA LEGUMINOSAE (FABACEAE)

Altamente representativa no Cerrado, a econômica e ecologicamente importante família Leguminosae (LEWIS et al., 2005) tem sido foco de diversas análises filogenéticas recentes (LPWG, 2013, 2017; CARDOSO et al., 2013). A família Leguminosae (Fabaceae L.) é um grupo monofilético que está incluído no Reino Plantae, Divisão Magnoliophyta, Classe Magnoliopsida e Ordem Fabales (The Angiosperm Phylogeny Group, 2009). Dentre as angiospermas, essa família é a segunda e a terceira maior em termos de importância socioeconômica e em número de espécies, respectivamente (LPWG, 2017).

As espécies pertencentes a essa família, reconhecidas pela presença de frutos do tipo legume, constituem um grupo com ampla distribuição geográfica, com formas herbáceas, arbustivas ou arbóreas, perenes ou anuais (DOYLE E LUCKOW, 2003). É um grupo bastante diverso genética e morfologicamente, variando de simples espécies diploides autógamas a complexos poliploides de polinização cruzada (CHOI et al., 2004). Classificadas em 36 tribos, 727 gêneros e com cerca de 20.000 espécies, as leguminosas desempenham um papel fundamental na nutrição humana e animal e apresentam grande impacto na agricultura e no meio ambiente (LEWIS et al., 2005; GEPTS et al., 2005).

A última e mais recente classificação, proposta por LPWG (2017), reorganizou a família Leguminosae, dividindo-a em seis subfamílias: Duparquetioideae, Cercidoideae, Detarioideae, Dialioideae, e Papilionoideae e Caesalpinioideae (com a antiga subfamília Mimosoideae incluída, atualmente, denominada Clado Mimosoide). Essa nova classificação filogenética mais abrangente das leguminosas é baseada em sequências do gene plasmidial matK (região gênica variável para suportar a formação de clados) e inclui quase a totalidade dos gêneros (698 de 765 gêneros) e cerca de 20% (3.986) das espécies de leguminosas conhecidas.

A subfamília Caesalpinioideae compreende cerca 4.400 espécies distribuídas em 148 gêneros (LPWG, 2017). Um dos mais conhecidos representantes dessa subfamília é o pau-brasil, *Paubrasilia echinata*, espécie de importância ecológica, histórica e sociocultural. *P. echinata* é nativa do Brasil, apresenta seiva de cor vermelha, muito utilizada para tingir tecidos e algodão ao longo da história de

colonização do país. Atualmente, sua madeira é destinada principalmente a fabricação de arcos de violino de alta qualidade.

Além disso, também podem ser encontradas em Caesalpinioideae espécies que apresentam importância alimentícia quando utilizadas como forrageiras, como *Lidibidia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz (pau-ferro) e espécies do gênero *Mimosa* L. (clado Mimosoide), importantes forrageiras da Região Nordeste. Na região do semiárido, onde a seca é um grande obstáculo para a produção de rebanhos, a folhagem e os frutos dessas plantas constituem boa parte da dieta dos bovinos, caprinos e ovinos que vivem nas áreas de ocorrência dessas espécies (CNIP, 2002).

2.2.1 O clado Mimosoide

De acordo com a recente classificação filogenética para a família Leguminosae, a antiga subfamília Mimosoideae foi realocada a um clado pertencente à circunscrição da subfamília Caesalpinioideae (LPWG, 2017). Esse clado é composto de gêneros anteriormente atribuídos à subfamília Mimosoideae, incluindo o gênero *Chidlowia*, membro anterior da antiga Caesalpinioideae (MANZANILLA e BRUNEAU, 2012).

O clado Mimosoide possui cerca 83 gêneros e 3.300 espécies distribuídas em quatro tribos: Mimoseae Bronn, Mimozygantheae Burkart, Acacieae Dumort e Ingeae Benth. (LEWIS et al. 2005). Sua distribuição ocorre principalmente nas regiões Pantropicais, com espécies arbóreas majoritariamente distribuídas em áreas úmidas e espécies herbáceas e arbustivas distribuídas em áreas secas (MATA, 2009). As espécies desse clado apresentam folhas bipinadas e, na sua maioria, com nectários extraflorais, flores agrupadas em inflorescência em glomérulo ou espiga, prefloração valvar (exceto em *Parkia*), cálice e corola geralmente unidos na base, estames numerosos (10 a mais de 100) e pólen composto (tétrade, bitétrade ou políades) (Lewis et al. 2005; LPWG, 2017).

No Brasil, o clado Mimosoide está representado por 35 gêneros e 818 espécies, distribuídas em todas as formações vegetacionais, sendo os principais representantes os gêneros *Mimosa* L. (359 spp.) e *Inga* Mill. (131 spp.) (BFG 2018). A região Nordeste do Brasil apresenta uma grande diversidade de espécies para o clado Mimosoide,

com representantes em todos os Estados. Matos et al. (2019) identificaram nove gêneros e 14 espécies em uma área do semiárido do Estado de Pernambuco. Já Matos e Felfili (2010), em um estudo sobre a diversidade vegetal do PNSC, relataram que entre as leguminosas, a antiga subfamília Mimosoideae, agora clado Mimosoide, foi a que obteve o maior número de espécies no Parque.

2.2.1.1 O gênero Parkia R. Br.

Parkia difere-se dos outros gêneros do clado Mimosoide pela estivação imbricada do lóbulo do cálice desigual (OLIVEIRA, 2020). Esse gênero é amplamente distribuído pelos trópicos do Novo e Velho Mundo e possui cerca de 35 espécies arbóreas. Essas espécies ocorrem em diferentes hábitats, desde florestas da África, Ásia, Madagascar e Região Indo-Pacífico até florestas de várzea, florestas periodicamente inundadas, florestas de areia branca pobre em nutrientes da região Amazônica e em vegetações do Cerrado (HOPKINS 1986; OLIVEIRA, 2020).

As espécies de *Parkia* apresentam alto grau de simpatria e, de acordo com Luckow e Hopkins (1995), ocorrem em quatro áreas de endemismo: (1) América do Sul (2) África, (3) Madagascar e (4) Região Indo-Pacífico, sendo a Amazônia o principal centro de diversidade morfológica e taxonômica, com cerca de 56% das espécies reconhecidas do gênero (HOPKINS, 1986; LUCKOW e HOPKINS, 1995).

O gênero *Parkia* é encontrado principalmente em florestas tropicais úmidas, com aproximadamente 17 espécies que ocorrem em áreas de floresta de terra firme, várzea sazonal e floresta secundária (HOPKINS, 1986; OLIVEIRA, 2020). Dentro desse gênero, *P. multijuga* Benth., *P. nitida* Miquel, *P. paraensis* Ducke, *P. ulei* (Harms) Kuhlm. e *P. platycephala* Benth. são reconhecidas como fornecedoras de madeiras comerciais na Amazônia (IBDF, 1987).

Ainda, no Cerrado brasileiro, a espécie *P. cachimboensis* H. C. descrita como endêmica da Serra do Cachimbo (HOPKINS, 1982), está associada a tipologias de Campinarana e Cerrado Rupestre, situada principalmente nos biomas Amazônia e Cerrado e distribuição geográfica no norte dos estados do Amazonas, Pará e Mato Grosso (FLORA DO BRASIL, 2016). Já *P. platycephala* Benth. é endêmica de áreas de cerrado marginal no extremo nordeste da sua distribuição contínua, na transição

para o Semiárido. Esta área de Cerrado abrange o sul/sudeste do Estado do Maranhão até a região noroeste do Piauí (EITEN, 1972, 1994).

3.1.1.1 Relações infragenéricas

Desde sua definição, o gênero *Parkia* vem passando por uma série de reorganizações em relação à sua classificação infragenérica. Umas das primeiras classificações foi feita por Bentham (1875), que dividiu o gênero nas seções Euparkia (espécies africanas, asiáticas e parte das espécies neotropicais) e Paryphosphaera, (demais espécies neotropicais). Já Ducke (1949), em um estudo com ênfase nas espécies neotropicais, descreveu cinco espécies novas e propôs a divisão do gênero em quatro seções, mantendo as seções Paryphosphaera e Euparkia, e incluiu duas novas seções, Platyparkia e Sphaeroparkia. Posteriormente, Hopkins (1986) propôs uma nova divisão para o gênero com base nos tipos funcionais das flores e seus arranjos na inflorescência reconhecendo, assim, as três seções Sphaeroparkia, Platyparkia e Parkia.

Na seção Sphaeroparkia, neotropical, Hopkins (1986) incluiu as espécies de inflorescências formadas inteiramente por flores férteis e ausência de flores secretoras de néctar, morfologicamente distintas ou estéreis. Já a seção Platyparkia consiste em apenas três espécies neotropicais bastante similares morfologicamente. As duas espécies florestais, *P. pendula e P. paraenses*, que possuem vagens deiscentes, diferem no tamanho dos folíolos e na disposição dos capítulos. Já a espécie do Cerrado, *P. platycephala*, difere-se de ambas por apresentar frutos indeiscentes e vagens volumosas e inflorescência composta, com dois tipos de flores em suas inflorescências, flores férteis e nectaríferas. Por fim, na seção Parkia, agrupou-se as espécies com inflorescências contendo os três tipos de flores: férteis, nectaríferas e flores neutras formando estaminódios.

Oliveira (2015) inferiu acerca das relações filogenéticas para 22 espécies de Parkia a partir de três regiões cloroplastidiais (trnH-psbA, trnQ-rps16 e trnL). De acordo com o autor, a classificação infragenérica de *Parkia* divide-se nas seções monofilléticas Platyparkia e Sphaeroparkia, e a seção parafilética Parkia. Recentemente, Oliveira (2020) estudou a biogeografia do gênero através de uma filogenia molecular datada construída a partir de uma ampla amostragem em análises de sequências dos genes plastidiais matK, trnL, rps16-trnQ e psbA-trnH e do DNA nuclear ribossomal ITS/18S/26S. Os resultados gerados por esse trabalho dividiram o gênero, portanto, em cinco clados com características distintas, sendo: Clado 1, Neotropical (secção Sphaeroparkia); Clado 2, Neotropical (secção Platyparkia); Clado 3, Neotropical (secção Parkia); Clado 4, Indo-Pacific (secção Parkia); e Clado 5, África-Madagascar (secção Parkia). No clado 2 ocorreu a inserção de *P. paraenses*, juntamente realocada com *P. pendula* e *P. platycephala* na seção Platyparkia (Figura 2).

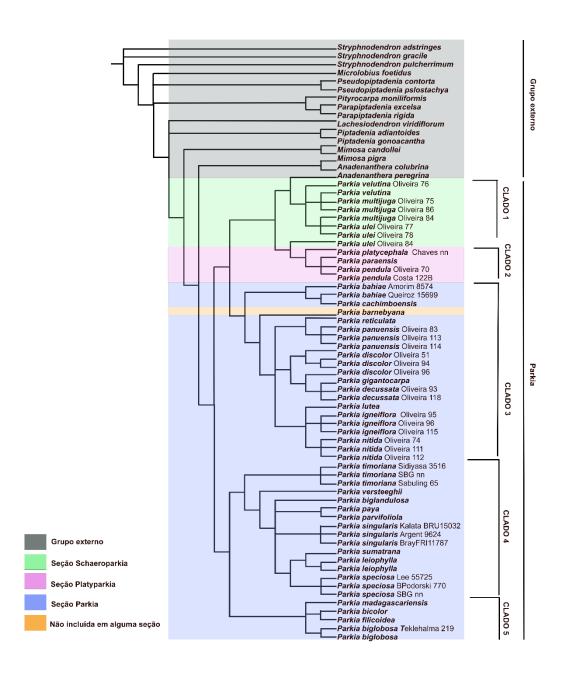


Figura 2. Árvore consenso de regra-majoritária (A) e filograma (B) derivado de análise Bayesiana baseada em sequências de DNA plastidial matK, trnL, psbA-trnH e rps16-trnQ e região nuclear ITS/18S/26S, mostrando a relação entre 30 espécies de *Parkia*, divido em cinco clados, e 16 grupos externos. Os números correspondem à Probabilidade Posterior (PP) Bayesiana e os Valores de Bootstrap da ML. Asteriscos correspondem a cada valor BS que não foi recuperado. Adaptado de: Oliveira (2020).

2.2.1.1.2 Considerações evolutivas e biogeografia

O gênero *Parkia* é polinizado por diferentes grupos distantemente relacionados de morcegos em diferentes regiões. No Velho Mundo, as espécies são polinizadas pelos morcegos da família Pteropodidade (subordem Megachrioptera) (BAKER e HARRIS, 1957) e, no Novo Mundo, por morcegos da família Phyllostomidae (subordem Microchiroptera) (HOPKINS, 1984). Esses morcegos são distantemente relacionados entre si, sugerindo que a quiropterofilia teria evoluído de maneira independente nas linhagens Neotropicais e Paleotropicais do gênero (OLIVEIRA, 2020)

Luckow e Hopkins (1995) inferiram a possibilidade de uma origem Neotropical para *Parkia* e discutiram possíveis teorias para uma disjunção intercontinental do gênero, incluindo a possibilidade de uma distribuição Gondwanica durante o Cretáceo tardio. Entretanto, os registros fósseis indicam que os primeiros representantes de Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae surgiram entre 39 a 59 Ma (milhões de anos) na América do Norte, Europa e África (HERENDEEN e DILCHER, 1992; HERENDEEN et al., 1992, LAVIN, 2005), excluindo, assim, a hipótese de uma origem Gondwanica.

De acordo com Lavin et al. (2004), a distribuição dessa família tem como força predominante a dispersão por grandes distâncias. Em estudos filogenéticos de grupos Pantropicais similares (SIMON et al., 2011), filogenias geograficamente estruturadas têm sido relatadas, com provável dispersão transoceânica entre as regiões Meotropical e Paleotropical. Estudos filogenéticos recentes também indicam que a família Leguminosae sofreu uma rápida diversificação, aproximadamente 60 Ma atrás, durante o Terciário (LAVIN et., 2005). As primeiras linhagens de mimosoides devem

ter se diversificado há cerca de 50 Ma. Já o clado formado por membros do grupo *Piptadenia*, que constitui o gênero mais proximamente relacionado com *Parkia*, tem datação aproximada de 45 Ma.

Oliveira (2020) demonstrou que a geografia é a principal responsável pela da estrutura filogenética de *Parkia* e as estimativas de divergência de tempo e reconstrução da área ancestral sugerem uma origem Neotropical para o gênero e uma idade do ancestral comum de todas as espécies de um clado (crown age") de 18,49 Ma. A dispersão a partir dos Neotrópicos para os paleotrópicos explica a sua distribuição Pantropical, com grande irradiação nos Neotrópicos.

Durante a história evolutiva de *Pakia*, ocorreram pelo menos dois eventos de dispersão para a Mata Atlântica na costa do Brasil que envolveram ou originaram a espécie *P. bahiae* (~4,47 Ma) e *P. pendula* (há 1,73 Ma) (OLIVEIRA, 2020). Atualmente, uma barreira climática formada pelos biomas Cerrado e Caatinga separa a floresta amazônica da costa atlântica (CHENG et al., 2013). Entretanto, pelo menos duas conexões entre essas duas florestas foram estabelecidas em épocas diferentes desde o Terciário, por meio de florestas ribeirinhas no Brasil Central e da bacia do rio Paraná ao longo da costa Atlântica. Já eventos de dispersão para o cerrado no Centro-Oeste ocorreram pelo menos duas vezes, com *P. cachimbaensis* (~4,47 Ma) e *P. platycephala* (3,05 Ma).

2.2.1.1.3 A espécie Parkia platycephala Benth.

Parkia platycephala, popularmente conhecida como faveira, visgueiro ou favade-bolota, é uma espécie de ampla distribuição nas regiões Nordeste e Norte do Brasil, com ocorrência no Cerrado e em áreas de transição Cerrado/Caatinga, Floresta Amazônica e Mata Atlântica (COSTA et al., 2011; LORENZI, 2013; GOMES et al., 2019). A espécie possui porte arbóreo, podendo atingir entre oito e 18 metros de altura, com tronco curto e cilíndrico (Figura 2a), apresentando casca rugosa e descamante (LORENZI, 2013). As folhas são duplamente compostas bipinadas (Figura 2b), medindo de 10-12 centímetros de comprimento, com inflorescência em capítulos globosos sobre pedúnculo pendentes (LORENZI, 2013) (Figura 2c). Suas flores estão divididas em dois tipos de acordo com as suas inserções nos capítulos globosos: flores do ápice do capítulo, funcionalmente masculinas e produtoras de néctar; e as flores da periferia, hermafroditas e com os grãos de pólen agrupados em

estruturas polínicas (COSTA et al., 2011; OLIVEIRA, 2015). Essa espécie apresenta antese noturna, na qual as flores permanecem receptivas por uma noite e, ao amanhecer, entram em processo de pós-antese, com néctar produzido pelas flores centrais (COSTA et al., 2011).

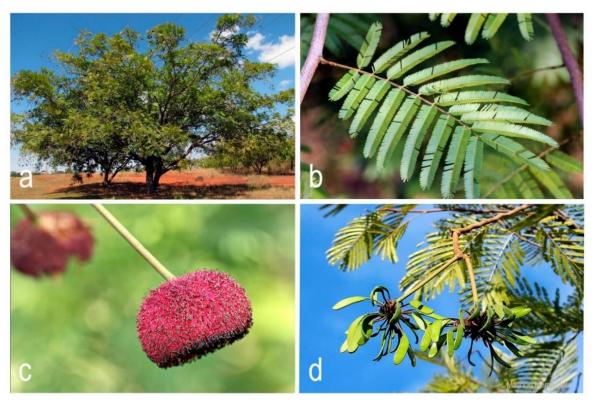


Figura 3: a leguminosa *P. platycephala* eu suas partes anatômicas. a- porte arbóreo de *P. platycephala*. b- folhas compostas bipinadas de *P. platycepha*. c- inflorescência de *P. platycepha*. d- agens de *P. platycepha*. Fotografias: MERCADANTE, 2011

A reprodução dessa espécie ocorre, anualmente, com abscisão tardia das folhas na seca após a reprodução. Além disso, os eventos reprodutivos, como o período de floração, frutificação e dispersão dos diásporos também ocorrem durante o período da seca (BULHÃO e FIGUEIREDO, 2002). Os principais polinizadores de *P. platycephala* são os morcegos e abelhas, sendo os morcegos classificados como agente polinizador efetivo. A espécie também é visitada por pequenos insetos, como vespas, moscas e mariposas, que atuam como pilhadores de néctar e grãos de pólen (COSTA et al., 2011). Além disso, quiropterofilia, melitofilia e entomofilia foram previamente relatadas (HOPKINS, 1984; SANTOS- FILHO et al., 2016). Uma característica relevante é o seu mecanismo de autoincompatibilidade (COSTA et al., 2011), fato que favorece a sua reprodução cruzada.

O fruto de *P. platycephala* é achatado, glabro e frequentemente enrolado, de 10-22 cm de comprimento e pode conter cerca de 28-38 sementes por fruto, organizadas no seu interior em duas fileiras (LORENZI, 2013) (Figura 2d). A produção anual dos seus frutos é de 1208 kg/ha, sendo variável entre árvores, concentrando-se principalmente no período de Setembro a Novembro correspondendo, assim, a uma produção média de 26 kg/ ano por planta (ALVES et al., 2007). A espécie apresenta frutos indeiscentes, geralmente produzidos durante a seca, entre os meses de Agosto a Outubro, período de dispersão de seus diásporos (BULHÃO; FIGUEIREDO, 2002).

A dispersão das sementes acontece de forma primariamente autocórica (PILON et al., 2015), disseminadas principalmente por animais domésticos (ruminantes) que se alimentam de suas vagens (LORENZI, 2013). As sementes da espécie possuem formato elíptico, com coloração marrom e pleurograma bem visível, variando de 7,30 a 9,29 mm por comprimento, 4,20 a 5,60 mm por largura e 2,70 a 3,63 por espessura (CARDOSO et al., 2017).

P. platycephala apresenta um grande potencial ecológico, paisagístico, energético e nutricional. Também se destaca, ecologicamente, por sua importância para os programas de restauração florestal, já que é uma espécie facilitadora (CABRAL, 2017), fixadora de nitrogênio (LORENZI, 2013) e, geralmente, utilizada no reflorestamento de áreas degradadas como adubação verde (BEZERRA et al., 2009).

Além disso, a espécie apresenta potencial nutritivo devido ao alto teor proteico dos seus frutos, bastante utilizados na suplementação alimentar de ruminantes, prática comum no estado do Piauí na época de estiagem (ALVES et al., 2007; ARAÚJO et al., 2019). Estudos recentes indicam que *P. platycephala* pode ser usada para substituir até 100% do milho na dieta de cabras em lactação, sem causar mudanças significativas na saúde animal, no comportamento alimentar ou nos parâmetros fisiológicos (BATISTA et al., 2020). Além do seu potencial nutritivo, a espécie pode ainda ser utilizada para fins paisagísticos e madeireiro, sendo sua madeira útil na fabricação de caixas, tabuados para divisões internas em pequenas construções, forros, confecção de brinquedos, bem como para lenha e carvão (LORENZI, 2013).

Compreender a distribuição da biodiversidade vegetal do Cerrado brasileiro, especialmente de leguminosas negligenciadas e pouco exploradas como *P.*

platycephala, é importante, portanto, para fornecer subsídios para futuras pesquisas agronômicas, genéticas e populacionais dessas espécies, bem como auxiliar na conservação dos recursos genéticos dessas leguminosas biológica e ecologicamente importantes no Brasil e no mundo.

2.3 CITOGENÉTICA VEGETAL

2.3.1 Citogenética clássica

A citogenética é uma importante ferramenta na caracterização da diversidade dos recursos genéticos vegetais, permitindo a análise do número, a morfologia e do tamanho dos cromossomos, além da relação entre braços cromossômicos, presença de constrição secundária, quantidade de heterocromatina e polimorfismos de sequências. Essas informações são essenciais para uma comparação intra- e interespecífica, possibilitando identificar polimorfismos entre os indivíduos (MOSCONE et al., 1996). Esses dados citogenéticos, associados a outras abordagens, têm se mostrado importantes no reconhecimento de citótipos, variedades e híbridos (MIRZAIE-NODOUSHAN et al., 2006), assim como na compreensão das relações filogenéticas entre e dentro grupos (GUERRA, 2000, VAN-LUME, 2017; SUCRE, 2020; TANG, 2019; PATIL, 2019; VIRUEL, 2021).

Estudos citogenéticos visando à caracterização de espécies vegetais podem ser realizados por técnicas de citogenética clássica baseadas na coloração convencional e coloração diferencial (Guerra, 2002). Enquanto a técnica convencional permite uma coloração mais rápida e bem definida dos cromossomos, a coloração diferencial é mais vantajosa por permitir uma análise mais detalhada do cariótipo, principalmente em grupos de plantas que não apresentam variação no número e na morfologia cromossômica (BARROS-SILVA & GUERRA, 2009; OLIVEIRA et al., 2015).

A citogenética convencional permite identificar o tipo de núcleo interfásico, o padrão de condensação profásico, bem como o tamanho, número e morfologia dos cromossomos analisados. Somado a isso, com a utilização de softwares de parâmetros morfométricos, é possível determinar mais facilmente diferenças na fórmula cariotípica, comprimento do lote haploide, comprimento dos braços

cromossômicos e comprimento total de cromossomos e, assim, determinar, por exemplo, diferenças entre espécies de um mesmo gênero e entre representantes de uma mesma espécie (MIRZAIE-NODOUSHAN et al., 2006)

Já a coloração diferencial é mais vantajosa por permitir uma análise mais detalhada do cariótipo, principalmente em grupos de plantas que não apresentam variação no número e na morfologia cromossômica (Barros-Silva & Guerra, 2009; Oliveira et al., 2015). Existem dois tipos de cromatina distintas quanto ao seu comportamento durante o ciclo celular e sua compactação, assim como sua presença de regiões gênicas e expressividade: eucromatina e heterocromatina. Enquanto a primeira apresenta um ciclo de condensasão-descondensação paralelo ao ciclo celular, a heterocromatina geralmente mantém-se condensada durante todo o ciclo. Essa última divide-se, ainda, em heterocromatina facultativa e heterocromatina constitutiva (HC) (GUERRA 2000).

A HC concentra-se em blocos cromossômicos e distribui-se preferencialmente nas regiões proximais ou terminais dos cromossomos, e em torno da constrição secundária. Além disso, aparece em ambos os cromossomos homólogos, na mesma posição e com o mesmo tamanho. Genes estruturais, excepcionalmente, têm sido localizados nesse tipo de heterocromatina (GUERRA, 1988; ZHAO, 2019; VAN STEENSEL, 2017).

De acordo com Guerra (2000), a comparação dos padrões de bandas HC de diferentes espécies leva em consideração os seguintes aspectos: 1) HC não ser homogênea, variando qualitativa e quantitativamente entre as espécies; 2) dentro de cada espécie, o polimorfismo para o número e tamanho das bandas é frequente; 3) a quantidade de HC varia independentemente da quantidade de eucromatina ou do conteúdo de DNA nuclear; 4) tanto a HC quanto a eucromatina podem sofrer mudanças em um tempo relativamente curto; e 6) espécies muito diferentes podem apresentar diferenças simultâneas no número cromossômico, tamanho e morfologia, assim como na quantidade, composição e distribuição de HC. Além disso, para Guerra (2000), o sentido funcional e evolutivo da HC pode não ser o mesmo para todas as espécies, e um padrão único de distribuição para todas as angiospermas pode não existir, apresentando apenas padrões de tendências e preferências para diferentes genomas e arquiteturas cromossômicas.

Os primeiros estudos relacionados aos padrões de distribuição da HC nos cromossomos foram realizados por Heiitz (1933). Sem cada espécie, a HC parece ser distribuída não-aleatoriamente nas regiões proximais, intersticiais e terminais. Em *Vicia faba* L. por exemplo, o autor constatou que a distribuição de HC era preferencialmente intersticial, enquanto em *Allium cepa* L., a distribuição foi preferencialmente terminal. Mais tarde, Loidl et al. (1983) identificaram blocos de heterocromatina distribuídos nos braços de diferentes cromossomos a uma distância igual a partir do centrômero (BENNET, 1982), sendo observada uma distribuição proximal dos blocos de HC em diferentes pares de cromossomos.

Essas regiões de blocos heterocromáticos despertaram o interesse de diversos pesquisadores quanto à dinâmica da HC, na sua organização dentro do genoma e na sua distribuição ao longo do comprimento cromossômico. Como as técnicas de coloração convencional disponíveis não permitiram detectar regiões diferenciais de heterocromatina, novas técnicas citogenéticas surgiram, permitindo analisar a distribuição análise dessas regiões ao longo dos cromossomos.

Nesse contexto, o bandeamento C permite localizar precisamente as regiões cromossômicas formadas por bandas de HC, que ficam mais fortemente coradas em relação ao restante do cromossomo (GUERRA b, 1988). A partir desse bandeamento, é possível realizar a caracterização cariotípica das espécies, variedades e citótipos de interesse, relatar o padrão de bandeamento C em cariótipos clássicos e explorar as tendências evolutivas, visando aumentar o conhecimento das pesquisas genéticas entre os táxons cultivados e silvestres (MOSCONE et al., 1993).

Outra técnica diferencial muito utilizada em estudos citogenéticos, que detecta regiões ricas em heterocromatina, é o bandeamento através dos fluorocromos CMA e DAPI. Essa técnica utiliza corantes fluorescentes como CMA3 (Cromomicina A3) e DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindol) para localizar as regiões cromossômicas ricas em pares bases GC e AT, respectivamente, fornecendo, assim, marcas efetivas de identificação cromossômica, além de relevar seus padrões de distribuição característicos (SHE e JIANG 2015; SHE et al. 2015, 2017; TANG et al. 2019).

Outra informação valiosa para análise da comparação cromossomo-evolutiva entre espécies é fornecida pela coloração por nitrato de prata das regiões organizadoras de nucléolo (AgNOR) (VIEIRA et al. 1990; GOODPSTURE e BLOOM,

1975). Essa técnica tem sido um dos principais métodos utilizados para corar RONs ativas em cromossomos mitóticos (SUMNER, 1990). Em muitas espécies, nem todas as RONs são coradas com a técnica, indicando claramente que nem todos os sítios de RONs permanecem transcricionalmente ativos em intérfase.

2.3.2 Citogenética molecular

No início da década de 70, com o advento da técnica de FISH (Fluorescent *In Situ* Hybridization; Hibridização *In Situ* fluorescente), deu-se início a uma nova era da citogenética molecular (GALL e PARDUE, 1969; SPEICHER et al., 1996). A FISH foi aplicada, pela primeira vez em plantas, por Schwarzacher et al. (1989). Essa técnica, que substituiu as sondas previamente marcadas por métodos radioativos, permitiu a utilização de sondas específicas marcadas com fluorescência para hibridizar *in situ*, isto é, no sítio de localização das regiões específicas de interesse no cromossomo (O'CONNOR, 2008). Atualmente, os alvos da FISH incluem os territórios dos núcleos interfásicos, cromossomos mitóticos e meióticos, além de fibras estendidas de DNA. Ainda, a FISH possibilita a análise dos padrões de distribuição de sequências repetitivas no genoma de determinada espécie, bem como a determinação da origem do genoma em híbridos interespecíficos, por meio da técnica de GISH (Genomic *In Situ* Hybridization; Hibridização Genômica *In Situ*) usando o DNA genômico dos parentais como sondas para FISH (JIANG e GILL, 2006; OMHIDO *et al.*, 2010; HESLOP-HARRISON e SCHWARZACHER, 2011).

As sequências de DNA comumente utilizadas como sondas em FISH são: DNA altamente repetitivo em tandem, como os sítios de DNA ribossomais (DNAr) 5 e 35S; sequências centroméricas; teloméricas; repetitivas dispersas, como os elementos transponíveis; e sequências repetitivas e cópia-única inseridas em vetores, como plasmídeos, cosmídeos, Cromossomos Artificiais de Leveduras (YACS) e de Bactérias (BACs) (GUERRA, 2004; JIANG e GILL, 2006; revisado por MARTINS et al. 2020).

A FISH baseia-se nas propriedades de desnaturação, complementaridade e renaturação do DNA. Quando em fita simples, a sonda irá hibridizar mais rapidamente no DNA-alvo, permitindo com que sejam localizadas regiões específicas do cromossomo de interesse (GUERRA, 2004).

Devido à sua abundância e organização molecular específica, regiões codificadoras evolutivamente conservadas ligadas à espaçadores intergênicos variáriáveis (IGS), os DNAr 5 e 35S são amplamente utilizados em estudos de taxonomia vegetal e de evolução (VOLKOV et al. 2017, GALIÁN et al. 2012). O mapeamento de sequências repetitivas de DNA 5s e 35S por meio de FISH não somente pode gerar marcações úteis para a identificação dos cromossomos como também pode fornecer uma informação valiosa nas relações evolutivas entre as espécies relacionadas (MAGAGHEH et al., 2019). Até o momento, o número e a posição dos loci de DNAr foi determinado em mais de 1.600 cariótipos de espécies de plantas através da FISH (GARCIA et al., 2014). Esses estudos mostraram que o número e a posição desses DNAr são característicos de uma determinada espécie ou gênero, sendo utilizados em estudos de ancestralidade, evolução e mapeamento comparativo entre espécies (HAMON et al. 2009; ROBLEDO et al. 2009; WOLNY AND HASTEROK 2009; SHE et al. 2015; LI et al. 2016; MARAGHEH et al. 2019).

Volkok et al. (2017), por exemplo, utilizando sondas de DNAr 5 e 35S em *Atropa belladonna* L. (Solanaceae), observaram a presença de três pares de loci de rDNA 35S em diferentes cromossomos, presumidamente herdados dos ancestrais diploides e tetraploides da espécie. Além disso, por meio da coloração cromossômica com AgNOR, apenas quatro dos seis sítios de rDNA 35S são transcricionalmente ativos em *A. belladona*, indicando efeito de dominância nucleolar. A presença do DNAr 5S em dois pares de cromossomos nessas espécies permitiram a inferência de uma herança uniparental advinda do progenitor tetraploide.

2.3.3 Citogenética de plantas do Cerrado

Análises citomoleculares baseadas em estudos comparativos das distribuições de bandas de heterocromatina, sítios de DNAr e tamanhos do genoma têm contribuído para um melhor entendimento da evolução cariotípica de grupos de plantas relacionadas (MORENO et al. 2015; SOUZA et al. 2015; BANIAGA et al. 2016). Entretanto, em espécies do Cerrado, esses estudos ainda permanecem escassos e pouco descritos (GLICK E MAY- ROSE 2014; SUDA et al. 2015; SILVEIRA et al. 2016).

Nas últimas décadas, tem sido observado um aumento do interesse pela genômica e genética das espécies do Cerrado (SOUZA et al. 2016). A maior parte dos dados citogenéticos disponíveis abrangem apenas o número cromossômico (PERUZZI e BEDINI 2014; RICE et al. 2015). Em contraste, a FISH tem se destacado como uma técnica promissora para uma análise citomolecular mais detalhada no genoma de espécies vegetais desse bioma (ROA, GUERRA, 2012; GARCIA et al. 2014b; ROA e GUERRA, 2015)

Roa e Guerra (2017), relataram que 702 (16,8%) espécies analisadas do Cerrado não possuíam quaisquer dados citogenéticos, sendo cerca de 500 delas com pelo menos um acesso coletado no Brasil. Dentre os gêneros de uma única espécie analisados, 70% não apresentaram informação citogenética. Os gêneros *Hyptis* Jacq., Stachytarpheta Vahl, (Verbenaceae), Microlicia (Lamiaceae), (Melastomataceae), Leiothrix Ruhland, (Eriocaulaceae) e Ditassa Br., (Apocynaceae) são considerados órfãos. Apesar de estarem entre os 50 mais diversos do Cerrado, não apresentam quaisquer informações acerca do número de cromossomos dentre as espécies distribuídas no Cerrado. À nível de família, Eriocaulaceae (Monocots - Commelinids), Lamiaceae, Apocynaceae (eudicots-Superasterids-Asterids-Lamiids), Polygalaceae (eudicots-Superrosids-Fabids) e Lauraceae (Magnoliids) também são pouco estudados.

Além disso, Roa e Guerra (2017) também constataram que, para as famílias mais ricas e mais bem amostradas, os conjuntos cromossômicos diploides foram: Oxalidaceae 2n = 12; Lythraceae 2n = 30; Sapindaceae 2n = 24; Solanaceae 2n = 24; Cyperaceae 2n = 10; Poaceae 2n = 20; Asteraceae 2n = 18; e Leguminosae 2n = 26. À nível de gênero, *Paspalum* L. (Poaceae), *Cuphea* P.Browne (Lythraceae) e *Rhynchospora* Vahl, (Cyperaceae) estão entre os mais bem estudados.

Quanto ao clado Mimosoid, os estudos citogenéticos são ainda mais escassos, concentrando-se apenas na tribo Ingeae. Os estudos nessa tribo geralmente restringem-se à contagem do número cromossômico dos diferentes táxons analisados, sem que haja uma melhor análise nos dados cariotípicos ou a utilização de caracterizações mais amplas da morfologia cromossômica e de métodos mais avançados de bandeamento cromossômico (SANTOS et al., 2019). Goldblatt (1981a) determinou o número básico x = 13 para a tribo Ingeae, exceto para o gênero

Calliandra (x = 8), posteriormente confirmado por Poggio (2008), que identificou número diploide atípico para Calliandra, com 2n = 2x = 16.

Figueiredo et al. (2014) realizaram estudos com 13 espécies de seis seções pertencentes a *Inga* por meio da técnica citogenética convencional, a fim de determinar os diferentes números cromossômicos e constataram a presença de variação nos padrões cariotípicos quanto ao nível de ploidia entre as espécies estudadas, com o número básico de x = 13, demonstrando haver a ocorrência eventos de poliploidia na caracterização evolutiva do gênero com 2n = 2x = 26 (diploides), 2n = 4x = 52 (tetraploides) e 2n = 8x = 104 (octaploides). Já o gênero *Albizia*, também pertencente à tribo Ingeae, apresenta poliploidia, enquanto o gênero *Samanea* apresenta espécies diploides e tetraploides, semelhante ao encontrado em *Inga* (Santos et al., 2019).

2.3.1.1 Citogenética do gênero Parkia

Os estudos citogenéticos para o gênero Parkia limitam-se à contagem de números cromossômicos por coloração convencional por Giemsa e, para algumas das espécies, os únicos trabalhos realizados para a contagem de cromossomos são antigos, podendo haver artefados durante o processo de contagem. De acordo com Hopkins (1986), as primeiras contagens para P. biglobosa e P. bicolor, ambas provenientes do continente africano, determinam um conjunto cromossômico de 2n = 24, enquanto para a espécie asiática P. biglandulosa, é relatado um conjunto 2n = 26. Estudos mais recentes, como o de Barella e Karsburg (2007), determinaram o número cromossômico para P. pendula de 2n = 22. Apesar da importância do gênero, algumas espécies de Parkia permanecem sem informações citogenéticas, dentre elas a espécie P. platycephala.

3 MATERIAIS E MÉTODO

3.1 Origem dos acessos

As sementes de *P. platycephala* foram coletadas no PNSC (04° 02' - 08'S e 41° 40' - 45'W, Teresina-Piauí, Brasil) e em localidades próximas ao parque, em áreas sob a influência das vegetações de Caatinga e Cerrado (Figura 4). De todos os acessos coletados, 10 foram utilizados no presente trabalho. Os acessos coletados foram nomeados utilizando as iniciais de *P. platycephala* (PP) e enumerados de acordo com a sua localização: os acessos coletados nas proximidades do PNSC foram enumerados com inicial "1" (PP 105, PP 119, PP 114, PP 118 e PP 130); já os acessos coletados no interior do PNSC foram enumerados com inicial "2" (PP 201, PP 215 e PP 221). Ainda, os acessos EBP 01 e EBP 07, provenientes do Banco Ativo de Forrageiras Nativas da Embrapa Meio Norte (Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI), também foram utilizados para fins de comparação.

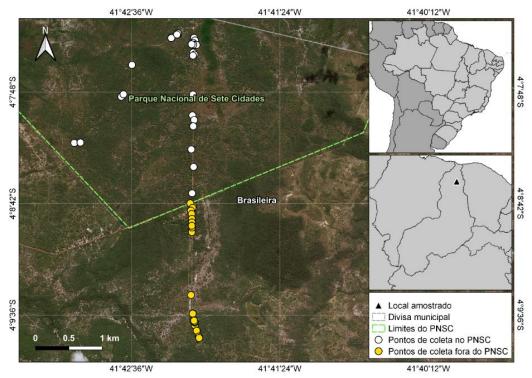


Figura 4. Locais de coleta dos acessos de *P. platycephala*. Mapa superior à direita: mapa do Brasil. Mapa central à direita indica o local amostrado da coleta. Mapa ampliado à esquerda indica os locais de coleta, agrupados em duas populações: 1. População próxima ao PNSC (círculos em amarelo) e 2. População dentro do PNSC (círculos em branco). Linhas tracejadas em verde indicam os limites do PNSC.

3.2 Caracterização citogenética

3.2.1 Obtenção das raízes, pré-tratamento e fixação das células

Sementes de 10 acessos de *P. platycephala* foram escarificadas mecanicamente por corte com tesoura na região oposta ao hilo e, posteriormente, foram postas para germinar em placas de Petri sobre papel filtro esterilizado e umedecido diariamente com água destilada. Ao atingirem cerca de 1 cm de comprimento, as radículas foram coletadas e pré-tratadas com PDB (1,4 – diclorobenzeno) por 1 hora à temperatura ambiente. Em seguida, as raízes foram fixadas em solução Carnoy (3 metanol absoluto: 1 ácido acético glacial, v/v) durante 24 horas e, depois, estocadas em freezer a -20°C para posterior uso.

3.2.2 Preparo de lâminas e bandeamento com fluorocromos CMA e DAPI

As lâminas foram confeccionadas segundo o protocolo de Carvalho e Saraiva (1993), com pequenas modificações. As lâminas, digeridas com solução enzimática composta por Celulase 2% (Onozuka R-10) e Pectinase 20% (Sigma-Aldrich). De acordo com o protocolo de Guerra (2000), as lâminas foram coradas com 10 μL de CMA (0,1 mg/ml) e mantidas no escuro em câmara úmida por uma 1 e 30 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas com jatos de água destilada e secas com bomba de ar. Posteriormente, as lâminas foram coradas com 10 μL DAPI (2 μg/ml) por 1 hora, lavadas, secas e montadas em tampão McIlvaine-glicerol (1:1 v/v).

3.2.3 Captura e processamento de imagens

As melhores metáfases dos 10 acessos de *P. platycephala* foram capturadas em microscópio óptico de epifluorescência Leica DM2500 com câmera digital DFC345Fx acoplada, no Laboratório de Citogenética Vegetal da UFPI. Para a mensuração cromossômica de cada acesso analisado, foram utilizadas imagens das cinco melhores metáfases. O tamanho dos cromossomos foi determinado por meio do programa Micromeasure 3.3, complementado pelo Microsoft Excel 2010. O idiograma foi desenhado no programa Corel DRAW X7. Com os cariótipos mensurados, foi possível determinar os valores de: comprimento total cromossômico (CTC) e sua média (CMC); comprimento total do lote haploide de cromatina (CTLH), obtido pela somatória do cariótipo haploide; comprimento do braço longo (BL), curto (BC) e da razão entre os braços longo e curto (r) de cada par cromossômico.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os acessos de *P. platycephala* avaliados apresentaram número cromossômico básico 2*n* = 26. O mesmo número cromossômico é encontrado em outras espécies do gênero, como *P. discolor* e *P. biglandulosa* (Hopkins, 1986). Os cromossomos de *P. platycephala* são pequenos, similares e de morfologias meta- e submetacêntrica. Entre os acessos analisados, foram observadas três fórmulas cariotípicas (FC): 10M + 3SM (PP 221, 130, 118, 105 e EBP 07); 9M + 4SM (PP 215 e EBP 01); e 8M + 5SM (PP 201,114, 109). A descrição cariotípica e os parâmetros morfométricos dos 10 acessos de *P. platycephala* analisados estão detalhadamente descritos na Tabela 1.

Entre os acessos, o comprimento dos cromossomos variou de 0,59 μ m (PP 118) a 2,55 μ m (PP 201), sendo os acessos PP 118 e PP 201 com menor e maior tamanho cromossômico, respectivamente. PP118 apresenta os menores tamanhos cromossômicos, com intervalo cromossômico (ITC) de 0,59 – 1,39 μ m. Esse acesso também possui o menor comprimento médio dos cromossomos (CMC), de 0,90 μ m. Ainda, PP 118 apresentou o menor comprimento total cromossômico (CTC), de 20,98 μ m e, consequentemente, menor comprimento total do lote haploide (CTLH), de 10,49 μ m. Já PP 114 foi o acesso que apresentou maiores CMC (1,23 μ m), CTC (32,10 μ m) e CTLH (16,05 μ m). Ambos os acessos foram coletados nas proximidades do PSNC.

Tabela 1. Número cromossômico diploide (2*n*), intervalo do tamanho cromossômico (ITC), média da razão entre os braços do cromossomo (r), fórmula cariotípica (FC), comprimento total cromossômico (CTC), comprimento médio cromossômico (CMC), comprimento total do lote haploide (CTLH) e número de bandas CMA/DAPI dos acessos de *P. platycephala* pertencentes ao banco do Laboratório de Recursos Genéticos e Sementes da Universidade Federal do Piauí. CMA⁺⁺ representa bandas CMA mais fortemente coradas; CMA⁺ representara bandas CMA coradas; e DAPI⁻ representa bandas AT reduzidas. Em azul claro, acessos coletados nas proximidades do PNSC; em rosa, acessos coletados no PNSC; e em verde, acessos provenientes da Embrapa Meio-Norte.

Acesso	2n	ITC	r	FC	CTC	CMC	CTLH	CMA/DAPI
PP 105	26	0,72 – 1,72	1,51	3SM + 10M	25,41	0,98	12,70	2 CMA ^{++/} DAPI ⁻ e 4 CMA ⁺ /DAPI ⁰
PP 109	26	0,82 – 1,60	1,57	5SM + 8M	27,12	1,04	13,56	2 CMA ⁺⁺ /DAPI ⁻ e 10 CMA ⁺ /DAPI ⁰
PP 114	26	0,88 - 2,23	1,56	5SM + 8M	32,10	1,23	16,05	2 CMA ^{++/} DAPI ⁻ e 8 CMA ⁺ /DAPI ⁰
PP 118	26	0,59 – 1,39	1,38	3SM + 10M	20,98	0,81	10,49	2 CMA ⁺⁺ /DAPI ⁻
PP 130	26	0,66 – 1,49	1,42	3SM + 10M	23,45	0,90	11,73	10 CMA ⁺⁺ /DAPI ⁻ e 12 CMA ⁺ /DAPI ⁰
PP 201	26	0,69 – 2,55	1,73	5SM + 8M	28,04	1,08	14,02	10 CMA ⁺⁺ /DAPI ⁻ e 2 CMA ⁺ /DAPI ⁰
PP 215	26	0,77 – 1,91	1,77	4SM + 9M	28,10	1,08	14,05	6 CMA ⁺⁺ /DAPI ⁻ e 2 CMA ⁺ /DAPI ⁻
PP 221	26	0,66 – 1,50	1,45	3SM + 10M	22,87	0,88	11,44	4 CMA++/DAPI- e 6 CMA+/DAPI0
EBP 01	26	0,74 – 1,51	1,50	4SM + 9M	25,80	0,99	12,90	6 CMA ⁺⁺ /DAPI ⁻ e 6 CMA ⁺ /DAPI ⁰
EBP 07	26	0,75 – 1,35	1,36	3SM + 10M	28,65	1,10	14,33	10 CMA ⁺⁺ /DAPI ⁻ e 10 CMA ⁺ /DAPI ⁰

O comprimento dos cromossomos de P. platycephala assemelha-se a dados previamente relatados para P. pendula e para espécies relacionadas. De acordo com Barella e Karsburg (2007) o comprimento dos cromossomos de P. pendula (Willd.) Benth. ex Walp. variou entre 0,44 e 1,43 μ m e, em Dinizia excelsa Ducke., entre 0,53 e 1,22 μ m. Cromossomos mitóticos com tamanho reduzido (< 2,0 μ m) têm sido observados em outras espécies da família Leguminosae. Em espécies da subfamília Caesalpinoideae, clado Mimosoid, como Pithecellobium dulce (2n = 26), o tamanho dos cromossomos variou entre 1,57 a 2,06 μ m (TAPIA-PASTRANA & GOMEZ-ACEVEDO, 2005). Nas leguminosas V. angularis (Willd.) Ohshi & H. Ohashi e Vigna unguiculata (L.) Walp., pertencentes à subfamília Papilonoideae e clado Phaseoloid, ambas com 2n = 22, o tamanho cromossômico observado foi de 1,19–2,6 μ m e 1,05–1,96 μ m, respectivamente (JOSEPH e BOUWKAMP,1978; ZHENG et al., 1991).

Dentro do gênero, Hopkins (1986) observou variação no número cromossômico de espécies de *Parkia. Parkia bicolor* e *P. biglobosa* apresentaram, por exemplo, redução no número cromossômico (2n = 24). Já para *P. pendula*, espécie que compartilha a mesma seção infragenérica (seção Platyparkya) com *P. platycephala*, Barella e Karsburg (2007) identificaram um conjunto cromossômico 2n = 22. De acordo com os autores, essa diferença pode estar relacionada à ocorrência de rearranjos cromossômicos relacionados à disploidia durante a evolução cromossômica do gênero.

Devido à limitação de dados genéticos, genômicos e citogenéticos das espécies de *Parkia*, não é possível, contudo, inferir acerca do processo evolutivo dentro da seção Platyparkia. Possivelmente, rearranjos cromossômicos ocasionaram a redução do número cromossômico de *P. pendula* (disploidia descendente), ou o aumento do de cromossomos na formação e evolução de *P. platycephala* (disploidia ascendente). Apesar da ocorrência de rearranjos relacionados aos possíveis eventos de disploidia, essas espécies mantiveram suas similaridades genéticas e fenotípicas, apresentando poucas diferenças morfológicas, sendo a deiscência da vagem uma das principais características divergentes.

Variação no número cromossômico dentro de espécies de *Parkia* também tem sido relatada. Ao analisarem o conteúdo de DNA nuclear de *P. biglobosa*, espécie endêmica do continente Africano, Uyoh et al. (2011) observaram divergências

intraespecíficas quanto ao número cromossômico em acessos coletados de diferentes localidades. Em Indi-abeb (área de governo local de Obudu) e em Sankwala (área de governo local de Obanliku), os acessos de P. biglobosa apresentaram 2n=22 cromossomos. Já acessos coletados em Bafin (área de governo local de Boki) apresentaram 2n=24. Além disso, números cromossômicos 2n=24 e 2n=26 já foram reportados para P. biglobosa (SINA e TROARE, 2002), evidenciando disploidia intraespecífica. Portanto, esses resultados indicam que o processo evolutivo das espécies de Parkia é recente e está curso. Esses estudos têm contribuído para a discussão acerca do número cromossômico básico do gênero Parkia.

A fim de expandir o conhecimento acerca do cariótipo de *P. platycephala* (2*n* = 26), nós realizamos a técnica de dupla coloração com fluorocromos CMA e DAPI. Nossos resultados permitiram obter informações sobre o padrão de distribuição da da heterocromatina constitutiva (HC) encontrada entre os acessos analisados. Em todos os acessos, foi possível identificar pelo menos duas bandas CMA positivas (ricas em GC) no cariótipo de *P. platycephala* (Figuras 6 e 7). Essas bandas foram visualizadas como blocos maiores terminais (representados por setas, Figuras 6 e 7) fortemente corados com CMA (CMA++/DAPI-), distendidos em um par de cromossomos que, provavelmente, são correspondentes a sítios que cerceiam regiões organizadoras de nucléolos (RONs). Também foi possível identificar a ocorrência de bandas menores variáveis entre os acessos analisados (Tabela 1).

Bandas equilocais, que ocorrem na mesma localização em pelo menos 80% dos cromossomos do cariótipo, tendem a ser menos comuns em espécies com cromossomos pequenos (GUERRA, 2000). Apesar do tamanho cromossômico reduzido, *P. platycephala* apresentou bandas HC localizadas predominantemente nas regiões pericentroméricas a maioria dos cromossomos. Dados semelhantes são observados em *Phaseolus vulgaris* (subfamília Papilonoideae, clado Phaseoloid), em que bandas HC estão distribuídas nas regiões pericentroméricas dos cromossomos dessa espécie (Pedrosa-Harand et al., 2009; Fonsêca et al., 2010).

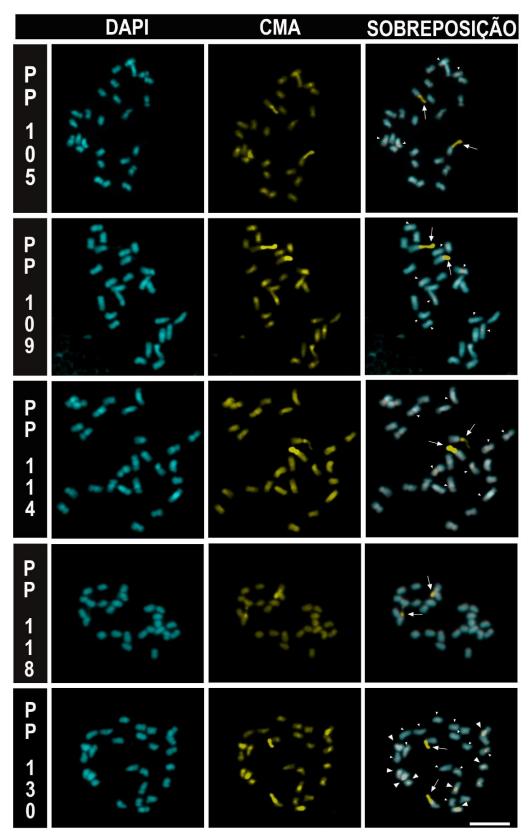


Figura 5. Cromossomos metafásicos mitóticos dos acessos de *P. platycephala* evidenciados por meio de dupla coloração por DAPI (azul) e CMA (amarelo). Os números dos acessos (coletados nas proximidades do PNSC) estão indicados à

esquerda. Setas indicam os blocos de RONs distendidas, cabeças de seta maiores indicam blocos CMA $^{++}$ e cabeças de seta menores indicam blocos CMA $^{+-}$. Barra = 5 μ m.

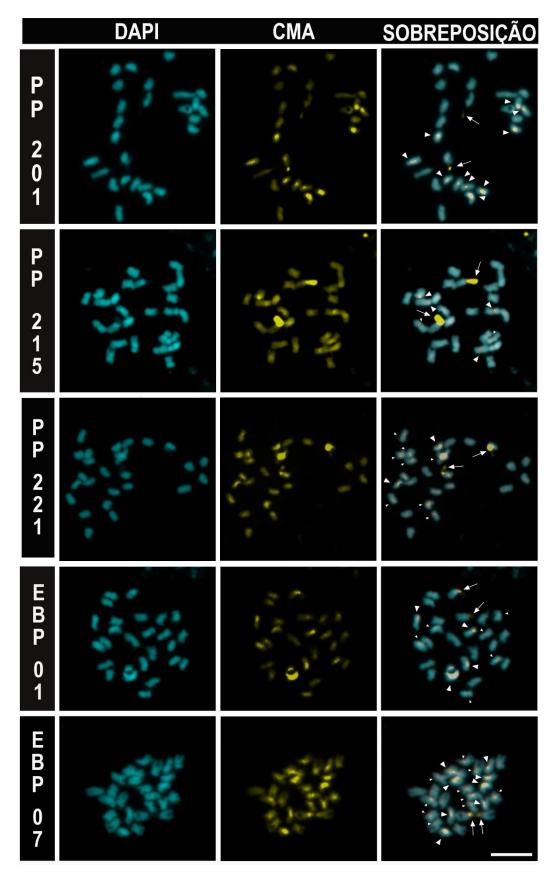


Figura 6. Cromossomos metafásicos mitóticos dos acessos de *P. platycephala* evidenciados por meio de dupla coloração por DAPI (azul) e CMA (amarelo). Os números dos acessos estão indicados à esquerda (coletados no PNSC e oriundos da Embrapa Meio-Norte). Setas indicam os blocos de RONs distendidas cabeças de seta maiores indicam blocos CMA⁺⁺ e cabeças de seta menores indicam blocos CMA⁺. Barra = 5 μm.

A distribuição (Tabela 1, Figuras 5 e 6) e a porcentagem (Tabela 2) de bandas de HC CMA+ variaram entre os acessos de *P. platycephala* analisados. O acesso PP 118, previamente descrito como menor comprimento cromossômico, também apresentou menor número de bandas CMA+ (seis bandas), além da menor porcentagem de HC no seu genoma (5,2%). Os acessos PP 130 e EBP 07 apresentaram os maiores números de bandas CMA+. O acesso PP 130 apresentou um par de bandas terminais, provavelmente correspondentes às RONs, dois pares de bandas CMA++/DAPI- e os outros sete pares de bandas proximais pericentroméricas CMA+/DAPI- Já o acesso EBP 07 apresentou 1 par terminal de CMA++/DAPI- (provável RON), mais quatro pares CMA++/DAPI- de maior tamanho ao longo do cromossomo e cinco pares CMA+/DAPI- distribuídas nas regiões pericentroméricas.

O acesso PP 118 apresentou menor número de bandas, sendo possível identificar apenas um par de bandas terminais CMA^{++/}DAPI⁻ correspondentes à RON. Portanto, houve divergência quanto ao padrão de distribuição dos blocos de HC CMA⁺ presentes no genoma dos acessos estudados.

O cariótipo de cada acesso analisado, bem como seu padrão de distribuição e porcentagem de HC em cada par cromossômico, está esquematicamente representado na figura 7.

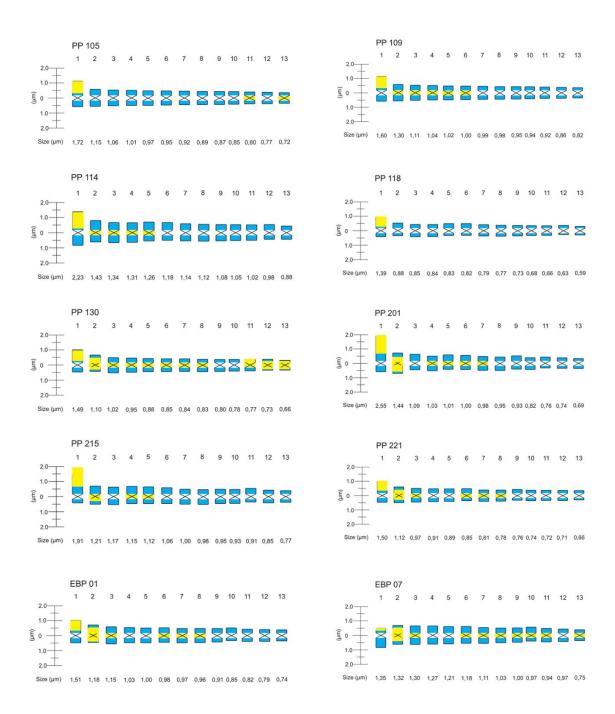


Figura 7. Idiogramas representando o tamanho, morfologia e distribuição de blocos de HC em cada par cromossômico no cariótipo dos acessos de *P. platycephala* analisados. Os acessos estão identificados na margem superior à esquerda dos idiogramas. Em azul, representação esquemática dos cromossomos pseudocorados em DAPI e, em amarelo, os blocos de CMA. Centrômeros estão representados por X.

Quanto à porcentagem de HC presente nos acessos avaliados, o acesso PP 221 destacou-se por apresentar uma maior porcentagem (15,2%) de HC em seu genoma, com um par bandas de bandas terminais CMA++/DAPI- (RON), 3 pares CMA++/DAPI- de bandas pericentroméricas e mais seis pares CMA+/DAPI0, além de pequenas bandas CMA+ de difícil identificação. Apesar de não ser o acesso com o maior número de bandas CMA, PP 221 apresentou bandas maiores quando comparado aos demais acessos. Já PP 118 foi o acesso que apresentou uma menor porcentagem de HC e, consequentemente, um menor número de bandas CMA, com 5,2% e 2 bandas 2 CMA++/DAPI-, respectivamente.

Tabela 2. Porcentagem de HC presente no cariótipo dos acessos de P. platycephala.

Nome de identificação	Origem	%Het.
PP 105	Próxima ao PNSC	7,2%
PP 109	Próxima ao PNSC	5,4%
PP 114	Próxima ao PNSC	10,1%
PP 118	Próxima ao PNSC	5,2%
PP 130	Próxima ao PNSC	6%
PP 201	PNSC	10%
PP 215	PNSC	7,6%
PP 221	PNSC	15,2%
EBP 01	EMBRAPA MEIO-NORTE	7,9%
EBP 07	EMBRAPA MEIO-NORTE	10,2%

De acordo com Guerra (2000), a análise da distribuição dos padrões de heterocromatina no conjunto cromossômico de angiospermas é, em geral, limitada pela variabilidade particularmente alta de HC. Em um estudo com 10 gêneros do grupo Caesalpinia (*Arquita*, *Balsamocarpon*, *Biancaea*, *Caesalpinia* sensu stricto, *Cenostigma*, *Coulteria*, *Paubrasilia*, *Erythrostemon*, *Guilandina* e *Libidibia*), Van Lume et al. (2017) demonstraram grandes variações numéricas e posicionais de bandas heterocromáticas no cariótipo de diferentes espécies pertencentes aos gêneros em questão. Foram identificados três padrões distintos de heterocromatina proximal (CMA+/DAPI-, CMA0/DAPI- e CMA0/DAPI+) nos táxons estudados e variabilidade de 5,2% a 15,2% na quantidade de heterocromatina em cada cariótipo.

Trabalhos prévios sugeriram que a heterocromatina rica em GC nesses gêneros é bastante dinâmica e sofre amplificações/ desamplificações frequentes (MENDES et al., 2011; FONSÊCA e PEDROSA-HARAND, 2013; PAULA, 2020). Essa dinamicidade, relatada por Van Lume et al. (2017), também pode ser observada no presente trabalho. Nós observamos variações intraespecíficas quanto no número de bandas CMA+ nos cariótipos de *P. platycephala* analisados. Quando comparados a dados previamente publicados, nossos resultados também indicam diferenças interespecíficas dentro do clado Mimosoid. Não foram identificadas bandas DAPI+.

Souza et al. (2020), ao avaliar a relação das variações climáticas com tamanho do genoma das plantas do grupo Caesalpinia, apontam que o meio ambiente tem contribuído para a diversidade de tamanhos de genomas relatados para esse grupo. Embora os mecanismos genéticos relacionados ao aumento ou diminuição no tamanho do genoma em um gradiente latitudinal não sejam claros, os autores sugerem que, após a origem do grupo (~55,9 Ma), a fragmentação do Bioma Suculenta levou à formação de pequenas populações, semelhantes a ilhas, que foram sujeitas à deriva genética. Isso levou, por sua vez, a mudanças drásticas e rápidas nas frações repetitivas do DNA, correlacionadas com as variáveis de temperatura.

Tendo em vista a abrangência do grupo Caesalpinia, a porcentagem de heterocromatina tem sido associada à suas diferenças ambientais (VAN LUME et al, 2017; MATA- SUCRE et al. 2020). Mata-Sucre et al. (2020), por exemplo, ao analisarem os padrões de distribuição de sequências repetitivas no genoma de espécies dos gêneros *Coulteria, Erythrostemon, Libidibia, Mezoneuron, Pomaria* e *Tara*, observaram uma maior quantidade de elementos Ty3-Gypsy. A distribuição desses elementos foi correspondente à distrubição dos blocos HC CMA+, já que ambos se localizaram majoritariamente nas regiões pericentroméricas nas espécies estudada (SUCRE, 2020). Ainda, os autores investigaram os padrões de bandeamento CMA/DAPI de 14 espécies de ampla abrangência geográfica do grupo e observaram que, apesar da variabilidade heterocromática observada, os gêneros *Cenostigma* e *Libidibia* (ambos com bandas CMA+) e o subclado Coulteria +Tara (com bandas CMA) destacaram-se por apresentar uma estabilidade quanto aos padrões de bandas CMA/DAPI.

De acordo com os autores, os dados biogeográficos parecem correlacionar-se com o padrão de distribuição de bandas heterocromáticas. Grupos de cariótipo estável tendem a compartilhar uma distribuição de bioma semelhante, em contraste com as espécies pertencentes a gêneros com maior polimorfismo de bandas de HC como, por exemplo, *Eritrostemon*. Assim, gêneros que apresentam estabilidade cariotípica quanto ao padrão de bandas CMA surgem devido à sua distribuição em biomas que mostram um forte conservadorismo filogenético. Em contraste, espécies distribuídas em dois ou mais biomas (GAGNON et al. 2019), apresentaram bandas polimórficas ou nenhuma banda heterocromática. Os autores relacionam a estabilidade heterocromática em *Cenostigma*, *Libidibia* e *Coulteria* e *Tara* ao seu tempo de divergência relativamente recente (~17 Ma) em comparação ao grupo de Caesalpinia, que surgiu há ~55 Ma (GAGNON et al. 2019).

Segundo Oliveira (2020), que estimou o tempo de divergência do gênero *Parkia* utilizando marcadores moleculares cloroplastidiais matK, trnL, rps16-trnQ e psbA-trnH e DNA ribossomal ITS/18S/26S, sugeriu que o ancestral comum mais recente do gênero e de grupos externos de gêneros próximos como *Mimosa*, *Piptadenia* e *Anadenanthera* surgiu há ~46 Ma. Ainda, os autores sugerem que o momento da separação entre os clados Neotropicais que incluem *P. platycephalta*, *P. pendula* e *P. paraenses* e entre o clado de *P. velutina*, *P. multijuga* e *P. ulei* ocorreu há ~9,8 Ma. *Parkia* é considerado, portanto, um gênero de divergência relativamente recente. Espécies de diferentes gêneros que crescem simpatricamente podem apresentar padrões semelhantes de heterocromatina, sugerindo que a variabilidade heterocromática pode ser influenciada pelas condições ambientais (ACOSTA et al., 2016). No entanto, ainda não há evidências suficientes para afirmar que estas alterações são adaptativas.

A relação entre cariótipos e condições ambientais, no entanto, permanecem incipientes, com poucos estudos demonstrando essas associações (PASCOE, 2006). O mecanismo genético que levaria ao acúmulo/ declínio de heterocromatina em uma espécie de determinado ambiente ainda permanece indefinido. Como a maior proporção da fração repetitiva no genoma de angiospermas é composta de DNA repetitivo em tandem ou disperso, como sítios de DNA ribossomal e elementos transponíveis, respectivamente (HESLOP-HARRISON e SCHWARZACHER, 2011), essas sequências poderiam explicar a diversidade heterocromática observada dentro

das espécies de *P. platycephala* analisadas bem como em grupos relacionados. Para as espécies pouco exploradas do gênero *Parkia* e táxons proximamente relacionados, estudos envolvendo uma investigação mais detalhada da composição, distribuição e padrão de sequências repetitivas de DNA utilizando DNA altamente repetitivo em tandem, como DNA ribossomal 5 e 35S, regiões centroméricas e teloméricas como sondas para FISH são necessários. Ainda, estudos citogenéticos comparativos adicionais utilizando BACs (Cromossomos Artificiais de Bactéricas) poderão auxiliar na inferência acerca dos principais mecanismos carioevolutivos relacionados à divergência dentro desse grupo de leguminosas economicamente importantes.

5 CONCLUSÕES

O bandeamento com fluorocromos CMA/DAPI permitiu realizar, pela primeira vez em *P.platycephala*, uma análise de distribuição de HC nos cromossomos dessa espécie, contribuindo para uma melhor compreensão do cariótipo dessa leguminosa de importância nacional.

A técnica de CMA/DAPI confirmou a presença de HC rica em GC em todos os acessos de faveira analisados, com um par de CMA fortemente marcado e correspondente à RON, bem como polimorfismo quando ao número de bandas heterocromáticas entre os acessos analisados, com bandas CMA predominantemente localizadas nas regiões proximais.

REFERÊNCIAS

- ADÁMOLI, J. O Pantanal e suas relações fitogeográficas com os cerrados: discussão sobre o conceito de complexo do Pantanal. Em: Congresso Nacional de Botânica. 1982. p. 109-119.
- ALLEM, A. C.; VALLS, J. F. M. Recursos forrageiros nativos do Pantanal Matogrossense. Departamento de Difusão de Tecnologia, 1987.
- ALVES, L. R.; OLIVEIRA, R. J. D.; COIMBRA, R. R.; FERREIRA, W. D. M. Crescimento inicial de *Parkia platycephala* (Benth.) e *Enterolobium timbouva* (Mart.) sob condições de campo numa área de Cerrado. **Revista Ceres**, v. 63, n. 2, p. 154-164, 2016.
- ALVES. A. A.; SALES. R. O.; NEIVA. J. N.; MEDEIROS. A. N.; BRAGA. A. P.; AZEVEDO. A. R. Degradabilidade ruminal in situ de vagens de faveira (*Parkia platycephala* Benth.) em diferentes tamanhos de partículas. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 4, p. 1045-1051, 2007.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society, v. 161, n. 2, p. 105-121, 2009.
- AZANI, N. et al. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny: The Legume Phylogeny Working Group (LPWG). **Taxon**, v. 66, n. 1, p. 44-77, 2017.
- BAKER, H. G.; HARRIS, B. J. The pollination of Parkia by bats and its attendant evolutionary problems. **Evolution**, p. 449-460, 1957.
- BANIAGA, A. E.; ARRIGO, N.; BARKER, M. S. The Small Nuclear Genomes of Selaginella Are Associated with a Low Rate of Genome Size Evolution. **Genome biology and Evolution**, [S. I.], v. 8, n. 5, p. 1516-1525, 2016.
- BARELLA, A. P. W.; KARSBURG, I. V. Caracterização morfológica dos cromossomos mitóticos de *Parkia pendula* (WILLD.) BENTH ex WALP. e Dinizia excelsa DUCKE (FABACEAE, MIMOSOIDEAE). **Revista de Ciências Agro-Ambientais**, [S. I.], v. 5, n. 1, p. 85-93, 2007.
- BATISTA, I. L. et al. Effects of Parkia platycephala on feeding behavior, rumen health, blood markers, and physiological responses of lactating goats. Revista Brasileira de Zootecnia, [S. I.], v. 49, 2020.
- BFG—The Brazil Flora Group. **Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC).** *Rodriguésiav, v.* 69, p. 1513–1527, 2018.
- BOLKHOVSKIKH, Z.; GRIF, V.; MATVEJEVA, T.; ZAKARYEVA, O. **Chromosome numbers of flowering plants**. In: ZAKARYEVA, O; FEDOROV, A. ed. 1969. Leningrad, Academy of Science of USSR. 926p.

- BOLSON, S. H. O Cerrado Nas Metas Brasileiras Do Acordo De Paris: a Omissão Do Estado Brasileiro Com O Desmatamento Na Cumeeira Da América Do Sul. **Revista de Direito Ambiental e Socioambientalismo**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 112, 2018.
- BORGES, A.P.S.; MACIEL, A. **O Bioma Cerrado**. Il Simpósio Regional de Geografia Perspectiva para o Cerrado no século XXI. Universidade Federal de Uberlândia, 26 a 29 de novembro, 2003.
- BORGES, L. A.; SOBRINHO, M. S.; LOPES, A. V. Phenology, pollination, and breeding system of the threatened tree *Caesalpinia echinate* Lam. (Fabaceae), and a review of studies on the reproductive biology in the genus. **Flora**, v. 204, p. 111-130, 2008.
- BRITO, F.A., CÂMARA, J.B.D. 1998. Democratização e Gestão ambiental: Em busca do Desenvolvimento Sustentável. Rio de Janeiro: Vozes, 332 p.
- BULHÃO, C. F.; FIGUEIREDO, P. S. Fenologia de leguminosas arbóreas em uma área de cerrado marginal no nordeste do Maranhão. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 361-369, 2002.
- CABRAL, E. S. Desempenho de três espécies arbóreas nativas de cerrado introduzidas em uma área antropizada no município de Porto Nacional. Tocantins. Dissertação (Mestrado em Ecologia de Ecótonos) Ecologia de Ecótonos da Universidade Federal do Tocantins, Porto Nacional, 2017.
- CARDOSO, D. B. O. S. et al. Reconstructing the deep-branching relationships of the papilionoid legumes. **South African Journal of Botany**, v. 89, p. 58-75, 2013.
- CARDOSO. C. R.; SILVA. D. Y. B. O.; FARIAS. S. G. G.; SANTOS. G. N. L.; MATOS. D. C. P. **Biometria de frutos e sementes de diferentes árvores matrizes de Parkia platycephala Benth**. Em: CONGRESSO BRASILEIRO FLORESTAL DO CERRADO. 3., 2017, Goiânia. Anais [...] Goiânia: Universidade Federal do Goiás, 2017.
- CASTRO, N.M.C.F., PORTO, K.C., YANO, O. and CASTRO, A.A.J.F. Levantamento florístico de bryopsida de cerrado e mata ripícola do Parque Nacional de Sete Cidades, Piauí, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, v. 16, n. 1, p. 61-76, 2002.
- CAVALCANTE, L.C.D. Parque Nacional de Sete Cidades, Piauí, Brasil: biodiversidade, arqueologia e conservação de arte rupestre. Mneme-revista de humanidades, v.14, n.32, pp. 1-22, 2013.
- CHENG, H. et al. Climate change patterns in Amazonia and biodiversity. **Nature Communications**, [S. I.], v. 4, 2013.
- CHOI, H. et al. Estimating genome conservation between crop and model legume species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 43, p. 15289-15294, 2004.
- CNIP CENTRO NORDESTINO DE INFORMAÇÕES SOBRE PLANTAS. Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. **Série Forrageiras Nativas**. 2002

- CNIP CENTRO NORDESTINO DE INFORMAÇÕES SOBRE PLANTAS. Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. **Série Forrageiras Nativas**. 2002
- COSTA, F. O.; CHAVES, S. R.; SANTOS, R. R.; SILVA, A. L. G. Biologia reprodutiva de *Parkia platycephala* Benth. (Fabaceae Mimosoideae). In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA BOTÂNICA E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL, 62., 2011. Fortaleza. **Anais** [...] Fortaleza: UECE. 2011.
- DHAR, M. K.; FUCHS, J.; HOUBEN, A. Distribution of Eu- and heterochromatin in plantagoovata. **Cytogenetic and Genome Research**, [S. I.], v. 125, n. 3, p. 235-240, 2009.
- DIGBY, L., Ferrari, S.F., CASTRO, A.A.J.F. Preliminary records of common marmosets (Callithrix jacchus) from the Sete Cidades Park, Piauí, Brazil. **Neotropical Primates**, v. 4, p. 53-55, 1996.
- DILCHER, D.L. [Eds.], **Advances in Legume Systematics, The Fossil Record**. Royal Botanic Gardens, Kew, p. 303-316, 1992.
- DO NASCIMENTO, L. I. et al. Superação da dormência em sementes de faveira (*Parkia platycephala* Benth). **Revista Arvore**, v. 33, n. 1, p. 35-45, 2009.
- DO NASCIMENTO, L. I. et al. **Superação da dormência em sementes de faveira** (*Parkia platycephala* **Benth**). Revista Arvore, v. 33, n. 1, p. 35-45, 2009.
- DOYLE, J.J.; LUCKOW, M.A. The rest of the iceberg: Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. **Plant Physiology**, v. 131, p. 900-910, 2003.
- DUCKE, A. Notas sobre a flora neotrópica II: As Leguminosas da Amazônia brasileira. Boletim Técnico Instituto Agronomico, n. 18, p. 1-246, 1949.
- EITEN, G. **Duas travessias na vegetação do Maranhão**. Sucesso Indústria Gráfica e Editora Ltda., São Luís. 1994.
- EITEN, G. The cerrado vegetation of BraziL **Bot. Rev.**, Lancaster. n. 38, v.2, p. 201-341, 1972.
- EITEN, G. **The cerrado vegetation of Brazil**. The Botanical Review, v. 38, p. 201-341, 1972.
- FARIAS, R.R.S. & CASTRO, A.A.J.F. Fitossociologia de trechos da vegetação do Complexo de Campo Maior, Campo Maior, PI, Brasil. **Acta Bot. Bras**. v. 18, n. 4, p. 949-963, 2004.
- FEITOZA, L.; COSTA, L.; GUERRA, M. Condensation patterns of prophase/prometaphase chromosome are correlated with H4K5 histone acetylation and genomic DNA contents in plants. **PLoS ONE**, [S. I.], v. 12, n. 8, p. 1-14, 2017.
- FEITOZA, L.; GUERRA, M. Different types of plant chromatin associated with modified histones H3 and H4 and methylated DNA. **Genetica**, [S. I.], v. 139, n. 3, p. 305-314, 2011.
- FEITOZA, L.; GUERRA, M. The centromeric heterochromatin of *Costus spiralis*: Poorly methylated and transiently acetylated during meiosis. **Cytogenetic and Genome Research**, [S. I.], v. 135, n. 2, p. 160-166, 2011.

- FELFILI, J. M. Diversity, structure and dynamics of a gallery forest in central Brazil. **Vegetatio**, v. 117, n. 1, p. 1-15, 1995.
- FELFINI, J. M.; MATOS, M.Q. Florística, fitossociologia e diversidade da vegetação arbórea nas matas de galeria do Parque Nacional de Sete Cidades (PNSC), Piauí, Brasil. **Acta Botanica Brasílica**, vol. 24, no. 2, pp. 483-496, 2010.
- FENKER, J. et al. Evolutionary history of Neotropical savannas geographically concentrates species, phylogenetic and functional diversity of lizards. **Journal of Biogeography**, [S. I.], v. 47, n. 5, p. 1130-1142, 2020.
- FIEDLER, N. C. et al. **Efeito de incêndios florestais na estrutura e composição florística de uma área de cerrado sensu stricto na fazenda Água Limpa-DF**. Revista Árvore, v. 28, n. 1, p. 129-138, 2004.
- FLORA DO BRASIL 2016 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: http://floradobrasil.jbrj.gov.br/. Acesso em: 04.08.21.
- FONSÊCA, A., PEDROSA-HARAND, A. Karyotype stability in the genus Phaseolus evi- denced by the comparative mapping of the wild species *Phaseolus microcarpus*. **Genome**, v. 56, p. 335-343, 2013.
- FORNI-MARTINS, E. R.; MARTINS, F. R. Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. **Genetics and Molecular Biology**, [S. I.], v. 23, n. 4, p. 947-955, 2000.
- GAGNON, E., BRUNEAU, A., HUGHES, C.E., QUEIROZ, L., LEWIS, G.P. A new generic system for the pantropical Caesalpinia group (Leguminosae). **PhytoKeys,** n. 71, p.1-160, 2016.
- GEPTS, P. et al. Legumes as a model plant family. Genomics for food and feed report of the cross-legume advances through genomics conference. 2005.
- GOMES, G. S.; SILVA, G. S.; SILVA, D. L. S.; ARAUJO, M. F. V.; OLIVEIRA, R. R; GASPAR, J. C.; MARTINS, P. R. P.; OLIVEIRA, R. F.; CONCEIÇÃO, G. M. Leguminosae: Biodiversity and Taxonomy for the Northeast Region of Brazil. **International Journal of Advanced Engineering Research and Science** (IJAERS), v. 6, n. 6, p. 95- 110, 2019.
- GUARIM NETO, G.; MORAIS, R. G. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, p. 561-584, 2003.
- HEREDEEN, P. S.; CREPET, W. L.; DILCHER, D.L. The fossil history of the Leguminosae: phylogenetic and biogeography implications, In: Herendeen, P.S., DILCHER, D.L. [Eds.], **Advances in Legume Systematics, The Fossil Record**. Royal Botanic Gardens, Kew, p. 303-316, 1992.
- HOPKINS, H. C. F. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). **Flora Neotropica**, v. 43, n. 58, p. 1-123, 1986.
- HOPKINS, H. C. Floral biology and pollination ecology of the neotropical species of *Parkia*. **Journal of Ecology**, v. 72, p. 1-23, 1984.
- HOPKINS, H. C. Three new species of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae) from tropical South America. **Brittonia**, v. 34, n. 3, p. 346-350, 1982.

- HOPKINS, H.C.F. *Parkia barnebyana* (Leguminosae: Mimosoideae), a new species from Venezuelan Guayana. **Kew Bull**, v. 55, p. 133-136. 2000b
- HOPKINS, H.C.F. *Parkia paya* (Leguminosae: Mimosoideae), a new species from swamp forest and notes on variation in *Parkia speciosa* sensu lato in Malesia. **Kew Bull**, v. 55, p.123-13, 2000a.
- HOPKINS, H.C.F. The Indo-Pacific species of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). **Kew Bull**. v. 49, p. 181-234. 1994.
- HOPKINS, H.C.F. The taxonomy, reproductive biology, and economic potential of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae) in Africa and Madagascar. **Bot. J. Linn. Soc**, v. 87, p.135-167, 1983.
- IBDF Plano do Sistema de Unidades de Conservação do Brasil. Ministério da Agricultura, Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal (IBDF) e Fundação Brasileira para Conservação da Natureza (FBCN), Brasília. 107p, 1979
- IBDF. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal. 1979. Brasília: IBDF M.A/Fundação Brasileira para a Conservação da Natureza (FBCN), 61 p.
- ICMBIO. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade Parna de Sete Cidades. Disponível em:<Parna de Sete Cidades Português (Brasil) (www.gov.br)>. Acesso em: 05 ago. 2021.
- ICMBIO. Instituto Chico Mendes de Conservação da Biodiversidade. **Plano de Manejo: Parque Nacional de Sete Cidades**. Parques Nacionais do Brasil, 2016.
- JIANG, J. Fluorescence in situ hybridization in plants: recent developments and future applications. **Chromosome Research**, [S. I.], v. 27, n. 3, p. 153-165, 2019.
- JIAO, Y. et al. Ancestral polyploidy in seed plants and angiosperms. **Nature**, [S. I.], v. 473, n. 7345, p. 97–100, 2011.
- KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. Conservation of the Brazilian Cerrado. **Conservation Biology**, [S. I.], v. 19, n. 3, p. 707-713, 2005.
- LAMARCA, E. V.; LEDUC, S. N. M.; BARBEDO, C. J. Viabilidade e vigor de sementes de *Caesalpinia echinata* Lam. (pau-brasil -Leguminosae) pelo teste de tetrazólio. **Rev Bras Bot**, n. 32, v. 4, p. 793-803.3, 2009.
- LANNES, L. S.; KARRER, S.; TEODORO, D. A. A.; BUSTAMANTE, M. M. C.; EDWARDS, P. J.; OLDE-VENTERINK, H. Species richness both impedes and promotes alien plant invasions in the Brazilian Cerrado. **Scientific Reports**, [S. I.], v. 10, n. 1, p. 1-9, 2020.
- LAVIN, M.; HERENDEEN, P. S.; WOJCIECHOWSKI, M. F. Evolutionary rates analysis of leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during the tertiary. **Systematic Biology**, [S. I.], v. 54, n. 4, p. 575–594, 2005.
- LEGUME PHYLOGENY WORKING GROUP. et al. Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species—rich clades. **Taxon**, v. 62, n. 2, p. 217-248, 2013.
- LEWIS, G. P. et al. (Ed.). **Legumes of the World**. Royal Botanic Gardens Kew, 2005.

- LI, S. F. et al. Chromosome evolution in connection with repetitive sequences and epigenetics in plants. **Genes**, [S. I.], v. 8, n. 10, 2017.
- LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. 4. ed. São Paulo: Instituto Plantarum, 2013.
- LUCKOW, M.; HOPKINS, H. C. F. A cladistic analysis of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). **American Journal of Botany**, v. 8, p. 1300-1320, 1995.
- MACHADO, R. et al. Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. **Conservation International**, 2004.
- MANZANILLA, V.; BRUNEAU, A. Phylogeny reconstruction in the Caesalpinieae grade (Leguminosae) based on duplicated copies of the sucrose synthase gene and plastid markers. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 65, n. 1, p. 149-162, 2012.
- MARTINS, L. V.; PERON, A. P.; DE ALMEIDA LOPES, A. C.; GOMES, R. L. F.; DE CARVALHO, R.; FEITOZA, L. L. Heterochromatin distribution and histone modification patterns of h4k5 acetylation and h3s10 phosphorylation in *Capsicum* L. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, [S. I.], v. 18, n. 2, p. 161-168, 2018.
- MATA, M. F. O gênero *Inga* (Leguminosae, Mimosoideae) no Nordeste. Tese (Doutorado em Agronomia) Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2009.
- MATA-SUCRE, Y.; COSTA, L.; GAGNON, E.; LEWIS, G. P.; LEITCH, I. J.; SOUZA, G. Revisiting the cytomolecular evolution of the Caesalpinia group (Leguminosae): a broad sampling reveals new correlations between cytogenetic and environmental variables. **Plant Systematics and Evolution**, [S. I.], v. 306, n. 2, p. 1–13, 2020.
- MATOS, M. Q.; FELFILI, J. M. Florística, fitossociologia e diversidade da vegetação arbórea nas matas de galeria do Parque Nacional de Sete Cidades (PNSC), Piauí, Brasil. **Acta Bot. Bras**, v.24, n.2, p.483-496, 2010.
- MENDES, S., MORAES, A.P., MIRKOV, T.E., PEDROSA-HARAND, A. Chromosome home- ologies and high variation in heterochromatin distribution between *Citrus* L. and *Poncirus* Raf. as evidenced by comparative cytogenetic mapping. **Chromosome Res**, v. 19, p. 521-530, 2011.
- MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S. & NOGUEIRA, P.E. **Flora vascular do cerrado**. Em: S.M. Sano & S.P. Almeida. Cerrado, Ambiente e flora. Planaltina, EMBRAPA CPAC, p. 289-556, 1998.
- MERCADANTE, M. *Parkia platycephala* (Willd.) Benth. FABACEAE-MIMOSOIDEAE (LEGUMINOSAE). 2011. 4 fotografias. Disponível em: FABACEAE MIMOSOIDEAE Parkia platycephala | Flickr. Acesso em: 05 de ago. 2021.
- MIRANDA, I. S.; ABSY, M. L. Fisionomia das savanas de Roraima, Brasil. **Acta Amazonica**, v. 30, n. 3, p. 423-423, 2000.
- MORALES, M.; FORTUNATO, R. H.; SIMON, M. F. A new species of *Mimosa* L. ser. Bipinnatae DC. (leguminosae) from the cerrado: Taxonomic and phylogenetic insights. **Plants**, *[S. I.]*, v. 9, n. 8, p. 1-11, 2020.

- MORENO, N. C.; AMARILLA, L. D.; BERNARDELLO, G. Molecular cytogenetic insights into the evolution of the epiphytic genus Lepismium (Cactaceae) and related genera. [S. I.], n. 2010, p. 263-277, 2015.
- OLIVEIRA, L. C. Filogenia de *Parkia* R. BR. (Leguminosae: Mimosoideae) baseada em sequências de DNA de cloroplasto. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas/Botânica) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2015.
- OLIVEIRA, L. C. **Sistemática e Biogeografia de** *Parkia* **(Leguminosae, Caesalpinioideae, clado mimosoide).** Tese (Doutorado em Ciências Biológicas/Botânica) Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2020.
- OLIVEIRA, M. E. Mapeamento, florística e estrutura da transição campo-floresta na vegetação (cerrado) do Parque Nacional de Sete Cidades, Nordeste do Brasil. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) Universidade Federal de Campinas, Campinas, 2004.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T.; RATTER, J. A. A study of the origin of central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. **Edinburgh journal of botany**, v. 52, n. 2, p. 141-194, 1995.
- PASCOE, P. L. Chromosomal polymorphism in the Atlantic dog-whelk, *Nucella lapillus* (Gastropoda: Muricidae): Nomenclature, variation and biogeography. **Biological Journal of the Linnean Society**, [S. I.], v. 87, n. 2, p. 195-210, 2006.
- PATIL, S. S.; TAMBOLI, A. S.; YADAV, S. R.; LEKHAK, M.M. A new species of Barleria (Acanthaceae), its morphotaxonomy, cytogenetics and phylogenetic placement. **Plant Systematics and Evolution**, [S. I.], v. 305, n. 10, p. 933-947, 2019.
- PAULA, A. P. O.; SANTOS, G. R.; COSTA, L.; PESTANA, R.; SOUZA, G.; SOUSA, G. M.; LEITE, A. N.; CARVALHO, R. Karyotypic variability in Calliandra sect. Androcallis (Leguminosae–Caesalpinioideae). **Plant Biosystems**, [S. I.], v. 155, n. 4, p. 730-739, 2021.
- PILON, N. A. L.; DURIGAN, G. Critérios para indicação de espécies prioritárias para a restauração da vegetação de cerrado. **Scientia Forestalis**, v. 41, n. 99, p. 389-399, 2013.
- PILON, N. A. L.; UDULUTSCH, R. G.; DURIGAN, G. Padrões fenológicos de 111 espécies de Cerrado em condições de cultivo. **Hoehnea**, v. 42, n. 3, p. 425-443, 2015.
- RATTER, J. A.; BRIDGEWATER, S.; RIBEIRO, J. F. Espécies lenhosas da fitofisionomia cerrado sentido amplo em 170 localidades do bioma Cerrado. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer**, Brasília, v. 7, p. 5-112, 2001.
- RATTER, J. A.; BRIDGWATER, S.; RIBEIRO, J. F.; DIAS, T. A. B.; SILVA, M. R. Estudo preliminar da distribuição das espécies lenhosas da fitofisionomia cerrado sentido restrito nos estados compreendidos pelo bioma Cerrado. **Boletim do Herbário Ezechias Paulo Heringer**, Brasília, v. 5, p. 5-43, 2000.
- RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, [S. I.], v. 80, n. 3, p. 223–230, 1997.

- RIBEIRO, J. F; WALTER, B. M. T. **As Principais Fitofisionomias do Bioma Cerrado**. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de; RIBEIRO, J. F. (Ed.). Cerrado: ecologia e flora, Brasília: EMBRAPA-CERRADOS, v. 2, 876 p, 2008.
- RIBEIRO, T.; VASCONCELOS, E.; DOS SANTOS, K. G. B.; VAIO, M.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; PEDROSA-HARAND, A. Diversity of repetitive sequences within compact genomes of Phaseolus L. beans and allied genera Cajanus L. and Vigna Savi. **Chromosome Research**, [S. I.], v. 28, n. 2, p. 139–153, 2020.
- RIZZINI, C. T. Tratado de fitogeografia do Brasil. vol. 2. Edusp, Sao Paulo, 1979.
- ROA, F.; DE CAMPOS TELLES, M. P. The cerrado (Brazil) plant cytogenetics database. **Comparative Cytogenetics**, [S. I.], v. 11, n. 2, p. 285–297, 2017.
- RODRIGUES, R. II Curso de citogenética aplicada a recursos genéticos vegetais. **Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia**, *[S. l.]*, p. 1–89, 2005.
- SANAIOTTI, T. M. **Ecologia de paisagens: savanas amazônicas**. Bases científicas para estratégias de preservação e desenvolvimento da Amazônia: fatos e perspectivas, pgs. 77-79, 1991.
- SANTOS-FILHO, F. S.; SOARES, C. J. D. R. S.; SILVA, A. C. R.; QUEIROZ, Y. D. S.; SOUSA HONÓRIO, S.; SILVA, F. F. Síndromes de polinização e de dispersão das espécies lenhosas nos parques ambientais em Teresina, Piauí, Brasil. **Revista Equador**, v. 5, n. 3, p. 360-374, 2016. Edição Especial 2.
- SANTOS-FILHO, F. S.; SOARES, C. J. D. R. S.; SILVA, A. C. R.; QUEIROZ, Y. D. S.; SOUSA HONÓRIO, S.; SILVA, F. F. **Síndromes de polinização e de dispersão das espécies lenhosas nos parques ambientais em Teresina, Piauí, Brasil**. Revista Equador, n. 3, v.5, p. 360-374, 2016. Edição Especial 2.
- SCARIOT, A.; FELFILI, J. M.; SILVA, J. C. S. Cerrado: ecologia, biodiversidade e conservação. 2005.
- SHE, C. W.; LIU, J. Y.; SONG, Y. C. CPD staining: an effective technique for detection of NORs and other GC-rich chromosomal regions in plants. **Biotechnic Histochemistry**, [S. I.], v. 3, n. Schweizer 1976, p. 13–21, 2005.
- SHE, C.; MAO, Y.; JIANG, X.; HE, C. Comparative molecular cytogenetic characterization of five wild Vigna species (Fabaceae). **Comparative Cytogenetics**, *[S. I.]*, v. 14, n. 2, p. 243-264, 2020.
- SHE, C.; WEI, L.; JIANG, X. Cytogenetics Molecular cytogenetic characterization and comparison of the two cultivated Canavalia species (Fabaceae). Comparative Cytogentics, [S. I.], v. 11, n. 4, p. 579-600, 2017.
- SILVEIRA, E. M. O.; DOS REIS, A. A.; TERRA, M. C. N. S.; WITHEY, K. D.; DE MELLO, J. M.; ACERBI-JÚNIOR, F. W.; FILHO, A. C. F.; MELLO, C. R. Spatial distribution of wood volume in Brazilian savannas. **Anais da Academia Brasileira de Ciencias**, [S. I.], v. 91, n. 4, p. 1–12, 2019.
- SIMON, M. F.; GRETHER, R.; DE QUEIROZ, L. P.; SÄRKINEN, T. E.; DUTRA, V. F.; HUGHES, C. E. The evolutionary history of *Mimosa* (Leguminosae): Toward a phylogeny of the sensitive plants. **American Journal of Botany**, *[S. l.]*, v. 98, n. 7, p. 1201–1221, 2011.

- SOUZA, G. et al. Do tropical plants have smaller genomes? Correlation between genome size and climatic variables in the Caesalpinia Group (Caesalpinioideae, Leguminosae). **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, [S. I.], v. 38, n. março, p. 13-23, 2019.
- SOUZA, G.; CROSA, O.; GUERRA, M. Karyological, morphological, and phylogenetic diversification in Leucocoryne Lindl (Allioideae, Amaryllidaceae). **Plant Systematics and Evolution**, [S. I.], p. 2013-2023, 2015.
- STRASSBURG, B. B. N. et al. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology and Evolution**, [S. I.], v. 1, n. 4, p. 1–3, 2017.
- SUCRE, Y. C. M. Análise da diversificação da heterocromatina do grupo Caesalpinia (Leguminosae) baseado em dados citomoleculares e genomicos. Dissertação (Mestrado Biologia Vegetal) Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2020.
- TANG, Y. M.; XIAO, L.; IQBAL, Y.; LIAO, J. F.; XIAO, L. Q.; YI, Z. L.; SHE, C. W. Molecular cytogenetic characterization and phylogenetic analysis of four Miscanthus species (Poaceae). **Comparative Cytogenetics**, [S. I.], v. 13, n. 3, p. 211-230, 2019.
- TAPIA-PASTRANA, F.; DELGADO-SALINAS, A.; CABALLERO, J. Patterns of chromosomal variation in Mexican species of Aeschynomene (Fabaceae, Papilionoideae) and their evolutionary and taxonomic implications. **Comparative Cytogenetics**, [S. I.], v. 14, n. 1, p. 157-182, 2020.
- TAPIA-PASTRANA, F.; GOMEZ-ACEVEDO, S.L. El cariótipo de *Pithecellobium dulce* (Mimosoideae- Leguminosae). **Darwiniana**, San Isidro, v.43, n.1-4, p.52-56, 2005.
- UYOH, E. A. et al. Flow Cytometric Analysis of Nuclear DNA Content, Mitotic Chromosome Number and Protein Separation by SDS-PAGE in Three Accessions of African Locust Bean (*Parkia biglobosa* Benth.). **Journal of Crop Production**, [S. I.], v. 11, n. 10, p. 227-232, 2011.
- VAN STEENSEL, B.; BELMONT, A. S. Lamina-Associated Domains: Links with Chromosome Architecture, Heterochromatin, and Gene Repression. **Cell**, [S. I.], v. 169, n. 5, p. 780–791, 2017.
- VAN-LUME, B.; ESPOSITO, T.; ALEXANDRE, J.; DINIZ-FILHO, F.; GAGNON, E.; LEWIS, G. P.; SOUZA, G. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics Heterochromatic and cytomolecular diversi fi cation in the Caesalpinia group (Leguminosae): Relationships between phylogenetic and cytogeographical data. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, [S. I.], v. 29, n. April, p. 51-63, 2017.
- VIEIRA, L.T. A.; CASTRO, A. A. J. F.; COUTINHO, J. M. C. P.; DE SOUSA, S.R.; DE FARIAS, R. R. S.; CASTRO, N. M. C. F.; MARTINS, F. R. A biogeographic and evolutionary analysis of the flora of the North-eastern cerrado, Brazil. **Plant Ecology and Diversity**, [S. I.], v. 12, n. 5, p. 475-488, 2019.
- VILLWOCK, F. H.; COLAVITE, A. P. Análise Comparativa Dos Fragmentos De Cerrado Nos Municípios De Campo Mourão E Jaguariaíva, Paraná, Brasil. **Colloquium Exactarum**, [S. I.], v. 12, n. 3, p. 01-13, 2021.

VIRUEL, J. et al. Crop wild phylorelatives (CWPs): phylogenetic distance, cytogenetic compatibility and breeding system data enable estimation of crop wild relative gene pool classification. **Botanical Journal of the Linnean Society**, [S. l.], v. 195, n. 1, p. 1-33, 2021.

WALKER, J. H. The Llanos de Mojos. **The Handbook of South American Archaeology**, [S. I.], p. 927–939, 2008.

WONG, M. M. L.; VAILLANCOURT, R. E.; FREEMAN, J. S.; HUDSON, C. J.; BAKKER, Freek T.; CANNON, C. H.; RATNAM, W. Novel insights into karyotype evolution and whole genome duplications in legumes. **bioRxiv**, [S. I.], 2017.

YU, J.; CHAO, L.; SHE, W.; LI, Z. A new chromosome fluorescence banding technique combining DAPI staining with image analysis in plants. **Chromosoma**, [S. I.], p. 16–21, 2004.

ZHAO, L., et al. Chromatin loops associated with active genes and heterochromatin shape rice genome architecture for transcriptional regulation. **Nature Communications**, [S. I.], v. 10, n. 1, 2019.