EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA NO GÊNERO

***Crotalaria* L. (LEGUMINOSAE)**

ANA LÚCIA PIRES COTIAS DE OLIVEIRA

Orientador: Dr^a. Margarida Lopes R. de Aguiar-Perecin

**Tese apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutor em Agronomia
Área de concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.**

**PIRACICABA
ESTADO DE SÃO PAULO - BRASIL
NOVEMBRO - 1992**

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Livros da
Divisão de Biblioteca e Documentação - PCAP/USP

048e Oliveira, Ana Lúcia Pires Cotias de
Evolução cariotípica no gênero Crotalaria L. (Legumi-
nosae). Piracicaba, 1992.
113p.

Tese - ESALQ
Bibliografia.

1. Cromossomo - Evolução 2. Crotalaria - Cariótipo -
Evolução 3. Crotalaria - Citogenética I. Escola Superior
de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba

CDD 633.562

EVOLUÇÃO CAROTÍPICA NO GÊNERO

Crotalaria L. (LEGUMINOSAE)

Ana Lúcia Pires Cotias de Oliveira

Aprovada em: 13.11.1992

Comissão julgadora:

Profa. Dra. Margarida L. R. de Aguiar-Perecin ESALQ/USP

Prof. Dr. Gerhard Bandel ESALQ/USP

Profa. Dra. Maria Lúcia Carneiro Vieira ESALQ/USP

Profa. Dra. Cecília Alzira F. P. Maglio IAC/Campinas

Profa. Dra. Maria Neysa da Silva Stort
Departamento
de Biociências/
UNESP/Rio Claro

Profa. Dra. Margarida L. R. de Aguiar-Perecin

Orientadora

Aos meus pais Joselita e Osvaldo pela
sua dedicação à educação dos filhos e
a Nelson pelo sentimento que nos une.

AGRADECIMENTOS

A realização desta tese contou com a colaboração de várias pessoas e Instituições, às quais expresso aqui os meus agradecimentos:

- Dra. Margarida L. R. de Aguiar - Perecin, pela orientação segura, eficiente e pela disponibilidade com que sempre me atendeu.

- Profa. Wanda Maria Pereira Carvalho, diretora do Instituto de Biologia da UFBA por ter propiciado todas as condições necessárias para o meu afastamento e desenvolvimento deste trabalho.

- Profa. Valquiria Quintas de Assis, chefe do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Biologia - UFBA, pelo empenho em viabilizar a prorrogação de minha licença, necessária para a conclusão deste trabalho.

- Profa. Lectícia Scardino Scott Farias, curadora do Herbário "Alexandre Leal Costa" do Instituto de Biologia - UFBA, pela orientação no tratamento taxonômico das espécies, viabilizando contatos com especialistas de outros herbários, no Brasil e no exterior.

- Profa. Dra. Iracema Andrade Nascimento e Solange Andrade Pereira do Instituto de Biologia da UFBA, pelo espírito de solidariedade e valioso apoio prestado na execução deste trabalho.

- Prof. Donald Henry Smith, do Instituto de Biologia - UFBA pela valiosa contribuição dada nas análises estatísticas.

Colega e amiga Miriam Tavares, pelo estímulo, paciência com que ouviu minhas dificuldades, e pela leitura atenta e criteriosa deste trabalho.

- Prof. Dr. José Pereira de Souza do Instituto de Biologia - UFBA pelas traduções das expressões em latim, com quem aprendi o significado do nome específico das Crotalarias.

- Bernadete Silvarolla, colega do laboratório de Citologia do Departamento de Genética da ESALQ, pela amizade, desprendimento e apoio em diversos momentos da realização deste trabalho.

- Aos colegas Juliana Usberti Decico, Mônica Bertrão e Antônio Fluminhan, do laboratório de Citologia do Departamento de Genética da ESALQ, pelo convívio solidário e espírito de cooperação, em muitos momentos do curso realizado.

- Sílvia Cristina Menuzzo Molina e Carlos Alberto Veríssimo, funcionários do laboratório de Citologia do Departamento de Genética da ESALQ, pela dedicação e ajuda nas atividades de laboratório.

- As Profas. Jacy Franco, Lucy Freitas, Nícia Albuquerque, Lília Moreira e demais colegas do Departamento de Biologia Geral do Instituto de Biologia - UFBA pelo incentivo e apoio. Agradeço a todos por terem assumido minhas atividades didáticas durante o período do meu afastamento.

- Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior - CAPES, através do programa PICD, pela bolsa de estudos concedida.

- Profa. Lucy Isabel da Silva Peixoto por ter despertado em mim o interesse pela estudo da Citogenética Vegetal.

- A Mônica Matos Ribeiro pela paciência e dedicação na digitação deste trabalho.

INDICE

LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE FIGURAS	XII
RESUMO	XIV
SUMMARY	XVI
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Posição taxonômica do gênero <i>Crotalaria</i>	4
2.2. Caracterização e subdivisões do gênero <i>Crotalaria</i>	5
2.3. Representação do gênero <i>Crotalaria</i> no Brasil	7
2.4. Estudos citogenéticos no gênero <i>Crotalaria</i>	12
2.5. Citogenética e relações filogenéticas	15
3. MATERIAL E MÉTODOS	23
3.1. Material	23
3.2. Análise dos cariótipos	24

3.2.1. Obtenção das raízes, pré-tratamento e fixação	24
3.2.2. Coloração pelo método de Feulgen e preparação das lâminas	26
3.2.3. Análise morfométrica dos cromossomos	27
3.3. Padrão de bandamento C	28
3.4. Análise estatística	29
4. RESULTADOS	35
5. DISCUSSÃO	65
5.1. O cariótipo das espécies analisadas da Seção <i>Chrysocalycinae</i>	68
5.2. O cariótipo das espécies analisadas da Seção <i>Hedriocarpae</i>	70
5.3. O cariótipo das espécies analisadas da Seção <i>Calycinae</i>	75
5.4. O cariótipo das espécies analisadas da Seção <i>Crotalaria</i>	78
6. CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	86
APÊNDICES	101

LISTA DE TABELAS

TABELA Nº		Página
1	Espécies de <i>Crotalaria</i> registradas no Brasil	9
2	Espécies de <i>Crotalaria</i> utilizadas nas análises citológicas	25
3	Dados cromossômicos de <i>C. incana</i> . (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita e coeficiente de variação (%), na linha inferior)	46
4	Dados cromossômicos de <i>C. holosericea</i> (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita e coeficiente de variação (%), na linha inferior)	47
5	Dados cromossômicos de <i>C. brevidens</i> . (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita e coeficiente de variação (%), na linha inferior)	48
6	Dados cromossômicos de <i>C. lanceolata</i> (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita e coeficiente de variação (%), na linha inferior)	49

7	Dados cromossômicos de <i>C. pallida</i> (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio pa- drão, à direita e coeficiente de va- riação (%), na linha inferior)	50
8	Dados cromossômicos de <i>C. juncea</i> (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio pa- drão, à direita e coeficiente de va- riação (%), na linha inferior)	51
9	Dados cromossômicos de <i>C. paulina</i> (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio pa- drão, à direita e coeficiente de va- riação (%), na linha inferior)	52
10	Dados cromossômicos de <i>C. stipularia</i> (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio pa- drão, à direita e coeficiente de va- riação (%), na linha inferior)	54
11	Dados cromossômicos de <i>C. retusa</i> (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio pa- drão, à direita e coeficiente de va- riação (%), na linha inferior)	56
12	Dados cromossômicos de <i>C. spectabi- lis</i> (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita e coeficiente de variação (%), na linha inferior)	57

13	Dados cromossômicos de <i>C. virgulata</i> subsp. <i>grantiana</i> (valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita e coeficiente de variação (%), na linha inferior)	58
14	Dados comparativos da constituição cromossômica, do tamanho médio dos cromossomos e do comprimento do lote haplóide (C.L.H.) e do índice de simetria do cariótipo (TF%) das espécies de <i>Crotalaria</i>	59
15	Posição relativa da constricção secundária no 1º par de cromossomos das espécies de <i>Crotalaria</i>	60
16	Teste de Student-Newman-Keuls para comprimento absoluto dos pares de cromossomos das espécies diplóides de <i>Crotalaria</i>	61
17	Teste de Student-Newman-Keuls para relação de braços dos pares de cromossomos das espécies diplóides de <i>Crotalaria</i>	62
18	Teste de Student-Newman-Keuls para comprimento do lote haplóide das espécies diplóides de <i>Crotalaria</i>	63
19	Teste de Student-Newman-Keuls para comprimento absoluto do maior e do menor pares de cromossomos e do índice de simetria do cariótipo das espécies diplóides de <i>Crotalaria</i>	64

LISTA DE FIGURAS

FIGURA Nº		Página
1	Espécies da Seção <i>Chrysocalycinae</i> . 1. <i>C. holosericea</i> , inflorescência; 2. <i>C. holosericea</i> , inflorescência com frutos; 3. <i>C. incana</i> , inflores- cência e frutos	31
2	Espécies da Seção <i>Hedriocarpae</i> . 1. <i>C. pallida</i> ; 2. <i>C. brevidens</i> ; 3. <i>C.</i> <i>lanceolata</i>	32
3	Espécies da Seção <i>Calycinae</i> . 1. <i>C.</i> <i>stipularia</i> ; 2. <i>C. paulina</i> ; 3. <i>C.</i> <i>juncea</i>	33
4	Espécies da seção <i>Crotalaria</i> . 1. <i>C.</i> <i>virgulata</i> subsp. <i>grantiana</i> ; 2. <i>C.</i> <i>retusa</i> ; 3. <i>C. spectabilis</i>	34
5	Cariótipo de espécies de <i>Crotalaria</i> da seção <i>Chrysocalycinae</i>	39
6	Cariótipo de espécies de <i>Crotalaria</i> da seção <i>Hedriocarpae</i>	40
7	Cariótipo de espécies de <i>Crotalaria</i> da seção <i>Calycinae</i>	

8	Cariótipo de espécies de <i>Crotalaria</i> da seção <i>Crotalaria</i>	42
9	Ideograma das espécies analisadas de <i>Crotalaria</i>	43
10	<i>C. incana</i> . Metáfase de um triplóide ($2n=21$), mostrando três cromossomos com constrição secundária	44
11	Aspecto do núcleo interfásico de <i>C. incana</i> , corado com giemsa	45
12	Organização esquemática de Seções e Subseções de <i>Crotalaria</i> da África e Madagascar	74

EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA NO GÊNERO

Crotalaria L. (LEGUMINOSAE)

Ana Lúcia Pires Cotias de Oliveira

Orientador: Dra. Margarida Lopes R. de Aguiar Perecin

RESUMO

O gênero *Crotalaria* L. é um dos maiores da família Leguminosae, com distribuição nas regiões tropicais e subtropicais dos dois hemisférios. No presente trabalho foram analisados os cariótipos das espécies *C. incana* L., *C. holosericea* Nees et Mart., *C. brevidens* Benth., *C. lanceolata* L., *C. pallida* Ait., *C. juncea* L., *C. stipularia* Desv., *C. paulina* Schrank, *C. retusa* L., *C. spectabilis* Roth., *C. virgulata* Klotzch subsp. *grantiana* (Harv.) Polhill, pertencentes a quatro diferentes seções, a fim de se analisar aspectos da evolução cromossômica e de se estabelecer relações entre espécies dentro e entre seções em que são classificadas.

As análises citológicas foram realizadas em pontas de raízes, tratadas com 8-hidroxiquinolina 0,002 M, e coradas pelo método de Feulgen. As lâminas foram preparadas através da técnica usual de esmagamento. A metodologia de bandamento C foi também aplicada a cromossomos metafásicos.

As espécies foram comparadas segundo os valores de comprimento absoluto, relação de braços dos cromossomos e índice de simetria do cariótipo, os quais foram submetidos a análise de variância e teste de Student-

Newman-Keuls, visando comparar as espécies através dos pares de cromossomos correspondentes.

Os resultados obtidos revelaram constituição cromossômica $2n=14$ e $2n=16$, em espécies diplóides, e $2n=32$, em tetraplóides. Em todas as espécies foi possível distinguir cada um dos cromossomos do cariótipo. Foram observadas diferenças nítidas entre as espécies analisadas, evidenciando que durante a evolução ocorreram alterações na estrutura dos cromossomos, embora se possa constatar um padrão característico do gênero. Um aspecto marcante é que todas as espécies apresentaram uma constrição secundária no primeiro par de cromossomos, em posição diferente de espécie para espécie.

As espécies tetraplóides *C. paulina* e *C. stipularia* apresentaram redução no tamanho dos cromossomos, comparado às espécies diplóides. Além disso, o número de cromossomos com constrição secundária não se correlaciona com o aumento do nível de ploidia. A ocorrência de anfiplastia sugere sua origem alopoliplóide.

A utilização de testes preliminares da metodologia de bandamento C não mostrou diferenciação conspícua de bandas nos cromossomos.

Na seção *Crotalaria*, cujas espécies acumulam características florais especializadas observaram-se cromossomos menores, enquanto na subseção *Longirostres*, marcadamente reduzidos em tamanho, combinados com cariótipo menos simétrico. Isto sugere uma tendência de redução do comprimento cromossômico e diminuição da simetria do cariótipo no curso evolutivo. Estudos envolvendo maior número de espécies são necessários para sugerir um direcionamento da mudança cromossômica no gênero como um todo.

KARYOTYPIC EVOLUTION IN THE GENUS

Crotalaria L. (LEGUMINOSAE)

Ana Lúcia Pires Cotias de Oliveira

Orientador: Dra. Margarida L. R. de Aguiar - Perecin

SUMMARY.

The genus *Crotalaria* is one of the largest of the family Leguminosae, with a distribution in the tropical and subtropical regions of the two hemispheres. In this study the karyotypes of the species *C. incana* L., *C. holosericea* Nees et Mart., *C. brevidens* Benth., *C. lanceolata* L., *C. pallida* Ait., *C. juncea* L., *C. stipularia* Desv., *C. paulina* Schrank, *C. retusa* L., *C. spectabilis* Roth. and *C. virgulata* Klotzsch subsp. *grantiana* (Harv.) Polhill, belonging to four different sections, were analyzed in order to analyze aspects of the chromosome evolution and to establish relationships among the species within and between the sections in which they are classified.

The cytological studies were performed on roots tips, treated with 8-hydroxyquinolin 0,002M, and stained by the Feulgen method. The slides were prepared using the usual squash technique. The C-banding method was also applied to chromosomes in metaphase.

The total length, the arms ratio and the symmetry index of the karyotype were compared among the species using the analyzes of variance and the Student-

Newman-Keuls test for the comparison of multiple means. Corresponding chromosome pairs were compared among species.

The results revealed chromosome complements of $2n=14$ and $2n=16$ in diploid species and $2n=32$ in tetraploids. It was possible to distinguish the chromosomes in all the species. Distinct differences were observed among the species analyzed, showing that structural chromosome alterations have occurred during their evolution, but it was still possible to confirm a characteristic pattern for the genus. One notable aspect is that all the species possess a secondary constriction, on the first pair of chromosomes, that varies in position among the species.

The tetraploid species *C. paulina* and *C. stipularia* present a reduction in chromosome size compared with diploid species. In these species the numbers of chromosomes showing a secondary constriction does not correspond with the increase from diploid to tetraploid. The occurrence of amphiplasty suggest an allopolyploid origin. A previous test using a C-banding methodology did not showing differentiation conspicuous bands in chromosomes.

In the section *Crotalaria*, in which species accumulate specialized floral characteristics, chromosomes are noticed to be markedly reduced in size, combined with a less symmetrical karyotype in the subsection *Longirostres*. This suggest a tendency to reduce the length of chromosomes and the symmetry of karyotypes in the course of evolution. Studies involving a greater number of species are necessary to confirm the direction of chromosome changes in the genus, as a whole.

1. INTRODUÇÃO

Crotalaria é um dos maiores gêneros da família Leguminosae, abrangendo cerca de 600 espécies com distribuição nas regiões tropicais estendendo-se às subtropicais, especialmente no Hemisfério Sul. O maior centro de diversidade ocorre na África e Madagascar, representado por aproximadamente 500 espécies, constituindo-se no maior gênero da África tropical (POLHILL, 1982). A Índia é um centro secundário, do qual vários grupos podem ter se dispersado para a Austrália e leste do Novo Mundo.

No continente americano sua distribuição estende-se do sul dos Estados Unidos até o Uruguai e regiões subtropicais da Argentina (SOARES & SOUZA, 1976), registrando-se 71 espécies (LEWIS, 1987). O Brasil parece apresentar a maior diversidade em virtude de sua grande extensão territorial na faixa tropical. BENTHAM (1859), na *Flora Brasiliensis*, refere-se a 32 espécies. Os registros posteriores não ultrapassam 42 espécies (HOENNE, 1939; DUCKE, 1939; BRAGA, 1960; PIO CORREA, 1984; LEWIS, 1987). WINDLER & SKINNER (1982) descreveram oito espécies novas, nativas do Brasil, e prepararam uma ampla revisão taxonômica das espécies americanas, a ser publicada na série *Flora Neotrópica*.

As espécies do gênero são ervas ou arbustos, anuais ou perenes de vida curta, que atingem de 40 cm a 3 m de altura. Crescem numa larga faixa de ambientes, ao longo dos rios, próximo ao litoral, campos, restingas, regiões de cerrado, caatingas e margens de florestas, sendo sua

distribuição limitada apenas pela alta exigência de luz, susceptibilidade ao frio e à seca extrema. Tendem a ser colonizadoras e comumente são encontradas em lugares alterados pelo homem, em margens de rodovias, terrenos baldios, campos abandonados e como invasoras ou plantas daninhas em pastagens e campos cultivados. Vulgarmente são conhecidas como xique-xique, cascaveleira, chocalho-de-cascavel, manduvira, feijão de guisos, gergelim bravo, maracá, feijão de boi, entre outros (veja referências em DUCKE, 1939; BULISANI *et alii* 1980; BISBY & POLHILL, 1973; LORENZI, 1982; PIO CORREA, 1984.)

Algumas espécies têm uso agrícola diversificado, tais como, adubação verde (*C. pallida*, *C. retusa*, *C. breviflora*, *C. juncea*, *C. lanceolata*), controle da erosão do solo (*C. brevidens* e *C. lanceolata*), controle de nematóides em cultivos agrícolas (*C. spectabilis*) e como cultivo de cobertura em plantações de chá, coco e borracha (*C. pallida*). Numerosas espécies, entre as quais, *C. spectabilis*, *C. incana*, e *C. micans*, são indicadas como forrageiras, registrando-se em seu feno cerca de 15% a 20% de proteína. Entretanto, na época de frutificação tornam-se nocivas devido ao acúmulo de alcalóides altamente tóxicos nas sementes, o que tem limitado o seu uso como forrageira (LORENZI, 1982). *C. juncea* é a principal espécie cultivada. Na Índia sua fibra é empregada na fabricação de lonas, cordas, redes de pesca, papel e na confecção de diversos utensílios (DUKE, 1983). No Brasil foi introduzida no século XIX para adubação verde, principalmente na cultura da cana-de-açúcar. Ultimamente, esta espécie vem apresentando interesse crescente na indústria de papel, pelo que se tem fomentado o seu plantio como produtora de fibra de alta qualidade (AZZINI *et alii*, 1981).

As espécies de *Crotalaria* apresentam marcante diversidade de caracteres morfológicos, que permite

a sua separação em seções dentro do gênero. Estudos biossistemáticos envolvendo aspectos palinológicos, padrão da composição de aminoácidos livres e alcalóides nas sementes, conteúdo de DNA, área e massa nuclear têm contribuído no esclarecimento de relações de afinidade entre as espécies (DATTA & BAGCHI, 1969; MELHEM, 1966; GUPTA, 1976; PILBEAM & BELL, 1979; PILBEAM *et alii*, 1979.)

Os estudos citogenéticos realizados, embora numerosos, têm se limitado a determinações do número de cromossomos, descrição de cariótipos em algumas espécies e análises meióticas. Em tais estudos não tem sido explorado todo o potencial de avaliação da variabilidade cariotípica, como parâmetro de análise para mostrar possíveis relações entre espécies e seu uso em agrupamentos dentro do gênero.

No presente trabalho foram utilizadas espécies de *Crotalaria* que têm ocorrência no Brasil, com o objetivo de se analisar o cariótipo, como contribuição ao estudo da evolução cromossômica e a avaliação do tratamento taxonômico das espécies em seções dentro do gênero.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Posição taxonômica do gênero *Crotalaria*

O gênero *Crotalaria* pertence à família Leguminosae, subfamília Papilionoideae. Inicialmente foi incluído na tribo Genisteae, subtribo Crotalariinae (BENTHAN & HOOKER, 1865). Posteriormente, HUTCHINSON (1964) criou a tribo Crotalarieae para incluir *Crotalaria* e dois pequenos gêneros relacionados, *Heylandia* e *Priotropis*. POLHILL (1968) analisou a afinidade destes pequenos gêneros com *Crotalaria* e incorporou as espécies que os compõem, em subdivisões do gênero *Crotalaria*. Assim, a espécie *Priotropis inopinata* Harms passa a *C. inopinata*, na seção *Hedriocarpae* e o gênero monotípico *Heylandia* foi incluído em um grupo distinto da seção *Calycinae*. POLHILL (1981) ampliou os limites da tribo para incluir 16 gêneros, a maior parte dos quais provenientes de tribos da classificação de HUTCHINSON (1964), como: Lotononideae (*Lebeckia*, *Aspalathus*, *Lotononis*, *Pearsonia*, *Dichilus*, *Rothia*, *Wiborgia*, *Robynsiophyton*, *Bolusia*, *Buchenroedera*, *Sellocharis*, *Anarthrophyllum*, *Melolobium*), Borbonieae (*Rafnia*) e Genisteae (*Spartidium*). Todos os gêneros da tribo ocorrem no sul da África, com exceção de *Anarthrophyllum*, que se distribui nos Andes chilenos e argentinos, enquanto *Sellocharis*, no sudeste do Brasil.

2.2. Caracterização e subdivisões do gênero *Crotalaria*

POLHILL (1968), após dissecar centenas de flores de um grande número de espécies em todo o gênero, identificou oito características particularmente distintas para identificar o gênero: (1) estames monadelfos com bainha fendida, do ápice até a proximidade da base; (2) anteras alternadamente, longas basifixas e curtas dorsifixas; (3) estilete com uma ou duas fileiras de pelos, em direção ao ápice; (4) ovário estipitado; (5) carena projetada em uma quilha distinta; (6) asas com fileiras de sulcos, em forma de meia-lua, entre as veias superiores; (7) estandarte com uma curta unha e dois pequenos apêndices na face interna da base; (8) cálice com (4-)5 lobos desiguais, às vezes com os lobos superiores e laterais concrescidos ou unidos quase sempre até o ápice, ou com o tubo levemente alongado na parte inferior, ou bilabiado com o tubo alongado na parte superior e inferior, mas com lobos relativamente grandes. Os frutos, na maioria das espécies, são inflados. Embora estes caracteres ocorram quase sempre juntos, um ou dois podem estar ausentes em algumas espécies.

Vários sistemas de subdivisão do gênero foram propostos, desde Wight & Arnott(1834) a Baker(1914) e Wilczek(1953), separando as espécies em um número variável de seções, com base em caracteres como número de folíolos, número e tamanho das flores nas inflorescências, hábito da planta, entre outros(Cf.POLHILL,1968). Os referidos sistemas foram considerados insatisfatórios por POLHILL(1968),o qual apresentou, inicialmente, uma divisão em onze seções para o gênero, com base na morfologia floral.

Entretanto, a diversidade do gênero e a sobreposição de caracteres em espécies de diferentes grupos, levaram à realização de estudos envolvendo taxonomia numérica. Assim, BISBY (1970) analisou 52 caracteres morfológicos em 273 espécies de *Crotalaria*, o mesmo material usado por Polhill na classificação ortodoxa. Avaliou a contribuição de cada um destes caracteres e determinou os mais úteis neste tipo de classificação. BISBY (1973) aplicou métodos de classificação numérica, constatando que o agrupamento obtido pelo procedimento de ligação simples foi o que mais se aproximou da classificação de Polhill, utilizando métodos ortodoxos, em agrupamentos acima de espécie. O estudo forneceu evidências adicionais sobre o padrão de similaridades dentro dos grupos e uma indicação de afinidades em espécies isoladas e marginais, excluídas destes grupos. BISBY & POLHILL (1973) compararam estas classificações, discutiram as discrepâncias existentes quanto à posição de seções e de espécies nos grupos principais e à margem destes grupos. Disto resultou uma classificação melhor em que o número de seções foi reduzido para oito e novas subseções foram criadas (Quadro 1). Este sistema foi estabelecido com base em estudos das espécies africanas de *Crotalaria* e nem sempre é aplicável às espécies americanas.

Segundo POLHILL (1968) cerca de metade do gênero tem flores especializadas. Estas se caracterizam por apresentarem um cálice bilabiado e alongado na parte inferior; os apêndices do estandarte são estritamente piramidais ou lameliformes, restritos à lâmina; o bico da carena é freqüentemente retorcido; o estilete apresenta pelos organizados em espiral ou em duas fileiras. Para o autor esta especialização tem relação com a maior eficiência na polinização entomófila. Assim, o desenvolvimento de lábios no cálice pode aumentar o apoio à corola e maior proteção ao ovário; a espiral retorcida do bico da carena

reduz a abertura através da qual o pólen é expelido, controlando a sua saída; o padrão de pelos no estilete facilita a condução do pólen; e a forma dos apêndices do estandarte talvez estimule maior atividade do inseto, quando em acesso ao nectário, localizado na base do cálice (POLHILL, 1982).

Todas as características especializadas são encontradas nas espécies da seção *Dispermae*, que também apresentam outros padrões de especialização: são efêmeras, pirofíticas, os racemos primários são aumentados pelo agrupamento de flores axilares, os frutos pequenos, poucas sementes e estas freqüentemente são ariladas. POLHILL (1982) considera as características não especializadas como primitivas e as especializadas, avançadas, embora o padrão como um todo sugira que as especializações podem ter surgido em estágio relativamente inicial de evolução do gênero.

2.3. Representação do gênero *Crotalaria* no Brasil

O registro das espécies de *Crotalaria* que crescem no Brasil ainda é escasso e fragmentado. Alguns estudos envolvendo espécies do gênero tiveram por objetivo registrar sua ocorrência como plantas daninhas, tóxicas, além de sua utilização como adubação verde (HOEHNE, 1939; ARANHA, 1972; LORENZI, 1982; PIO CORREA, 1984). Outros dão enfoque taxonômico, mas em geral são restritos à flora de regiões específicas (BENTHAM, 1859; DUCKE, 1939; BRAGA, 1960; ANGELY, 1965; SOARES & SOUZA, 1976; KLEIN, 1979; HARLEY & MAYO, 1980; MORI & BOOM, 1981; LEWIS, 1987). A tabela 1 apresenta uma relação das espécies registradas por estes autores às quais foram associadas a seção e subseção a que pertencem, segundo a classificação de POLHILL (1982). Entretanto, para algumas espécies não há identificação da seção por não constarem da classificação de POLHILL (1982).

Destas, as registradas por WINDLER & SKINER(1982) são espécies novas, nativas da América tropical, ou espécies com nova nomenclatura. As denominações que correspondem a sinonímias foram colocadas logo após a nomenclatura vigente, seguido-se a orientação de POLHILL (1968, 1982), WINDLER & SKINER(1982) e LEWIS (1987). Este levantamento, realizado pelo presente autor, teve por objetivo organizar um quadro representativo das espécies de *Crotalaria* no Brasil, uma vez que um estudo taxonômico mais amplo do gênero ainda não foi realizado.

Quadro 1. Subdivisão do Gênero *Crotalaria*, segundo BISBY & POLHILL (1973).

Seção 1. *Grandiflorae*

Seção 2. *Chrysocalycinae*

Subseção *Incanae*

Subseção *Stipulosae*

Subseção *Glaucæ*

Subseção *Chrysocalycinae*

Subseção *Tetralobocalyx*

Seção 3. *Hedriocarpae*

Subseção *Hedriocarpae*

Subseção *Macrostachyae*

Seção 4. *Geniculatae*

Seção 5. *Schizostigma*

Seção 6. *Calycinae*

Seção 7. *Crotalaria*

Subseção *Crotalaria*

Subseção *Longirostres*

Seção 8. *Dispermae*

Tabela 1. Espécies de *Crotalaria* registradas no Brasil

Seção / Espécie / Referências	Origem
Seção <i>Chrysocalycinae</i>	
1. <i>C. incana</i> L. (BENTHAM, 1859; DUCKE, 1939; ANGELY, 1965; SOARES & SOUZA 1976; KLEIN, 1979; HARLEY & MAYO, 1980; MORI & BOOM, 1981; LORENZI, 1982; LEWIS, 1987)	Pantropical
2. <i>C. micans</i> H B K. (MORI & BOOM 1981; LEWIS 1987) <i>C. anagyroides</i> Kunth. (BENTHAM, 1859; DUCKE, 1939; BRAGA, 1960; ARANHA et alii, 1972; SOARES & SOUZA, 1976; KLEIN, 1979; LORENZI, 1982).	América Tropical
3. <i>C. holosericea</i> Nees et Mart. (BENTHAM, 1859; SOARES & SOUZA, 1976; HARLEY & MAYO, 1980; MORI & BOOM, 1981; LEWIS, 1987).	América Tropical
4. <i>C. bahiensis</i> Windler & Skinner (LEWIS, 1987)	América Tropical (Brasil)
5. <i>C. unifoliolata</i> Benth. (BENTHAM, 1859; PIO CORREA, 1984).	América Tropical
6. <i>C. rufipilia</i> Benth. (BENTHAM, 1859; PIO CORREA, 1984).	América Tropical
7. <i>C. vitellina</i> Ker. (BENTHAM, 1859; SOARES & SOUZA, 1976; KLEIN, 1979; LEWIS, 1987).	
8. <i>C. maypurensis</i> H.B.K. (BENTHAM, 1859; DUCKE, 1939). <i>C. depauperata</i> Mart. (BENTHAM, 1859; SOARES & SOUZA, 1976; PIO CORREA, 1984).	América Tropical
9. <i>C. pilosa</i> Miller (LEWIS, 1987).	Africa

Tabela 1 (Continuação)

Seção *Hedriocarpae*Subseção *Macrostachyae*

10. <i>C. pallida</i> Ait. (LEWIS, 1987).
<i>C. mucronata</i> Desv. (BRAGA, 1960;
ARANHA <i>et alii</i> , 1972; KLEIN, 1979;
LORENZI, 1982).
<i>C. striata</i> D.C. (BENTHAM, 1859; SOA-
RES & SOUZA, 1976; PIO CORREA,
1984).
var. <i>obovata</i> (G. dom) Polhill (MORI &
BOOM, 1981; HARLEY & MAYO, 1980).	Pantropical
11. <i>C. lanceolata</i> E. Mey (ARANHA <i>et alii</i>
1972; LORENZI, 1982; LEWIS, 1987).	Africa
12. <i>C. brevidens</i> Benth. (LEWIS, 1987)
<i>C. laeta</i> Mart (BENTHAM, 1859).	Africa

Seção *Geniculatae*

13. <i>C. sphaerocarpae</i> Perr. ex DC
<i>C. nubica</i> Benth. (HOEHNE, 1933).	Africa

Seção *Calycinae*

14. <i>C. juncea</i> L. (BENTHAM, 1859; BRAGA,
1960; LEWIS, 1987).	India
15. <i>C. paulina</i> Schrank. (BENTHAM, 1859;
HOEHNE, 1939; SOARES & SOUZA, 1976
LEWIS, 1987).	Brasil
16. <i>C. stipularia</i> Desv. BENTHAM, 1859);
DUCKE, 1939; BRAGA, 1960; ANGELY,
1965; SOARES & SOUZA, 1976; LEWIS,
1987).	India e
América
do Sul
17. <i>C. sagittalis</i> L. (HOEHNE, 1939).	
18. <i>C. nitens</i> H.B.K. (BENTHAM, 1859; PIO
CORREA, 1984; LEWIS, 1987).	
19. <i>C. breviflora</i> (BENTHAM, 1859; PIO
CORREA, 1984).	
20. <i>C. flavicoma</i> Benth. (BENTHAM, 1859).	

Tabela 1. (Continuação)

21. <i>C. goiasensis</i> Windler & Skinner. (WINDLER & SKINER, 1982).	América Tropical (Brasil)
Seção <i>Crotalaria</i>	
Subseção <i>Crotalaria</i>	
22. <i>C. retusa</i> L. (BENTHAM, 1859; HOEHNE, 1939; DUCKE, 1939; BRAGA, 1960; SOARES & SOUZA, 1976; PIO CORREA, 1984; LEWIS, 1987).	Ásia
23. <i>C. spectabilis</i> Roth. (SOARES & SOUZA 1976; LORENZI, 1982).	Ásia
24. <i>C. verrucosa</i> L. (BENTHAM, 1859; SOARES & SOUZA, 1976; PIO CORREA, 1984).	Ásia Tropical
Subseção <i>Longirostres</i>	
25. <i>C. brachycarpa</i> Benth. (BENTHAM, 1859 LEWIS, 1987).	
26. <i>C. virgulata</i> Klotzsch subsp. <i>grantiana</i> (Harv) Polhill. (COTIAS DE OLIVEIRA, trabalho de campo).	África
Espécies sem identificação de seção	
27. <i>C. pteroleuca</i> Desv. BENTHAM (1859).	
28. <i>C. pohliana</i> Benth. (BENTHAM, 1859).	
29. <i>C. otoptera</i> Benth. (BENTHAM, 1859).	
30. <i>C. subdecurrens</i> Benth. (BENTHAM, 1859).	
31. <i>C. vespertilio</i> Benth. (BENTHAM, 1859).	
32. <i>C. tweediana</i> Benth. (BENTHAM, 1859; ANGELY, 1965).	
33. <i>C. hilariana</i> Benth. (BENTHAM, 1859; ANGELY, 1965).	
34. <i>C. bellii</i> Windler & Skinner. (WINDLER & SKINER, 1982).	América Tropical

Tabela 1. (Continuação)

	(Brasil)
<i>C. foliosa</i> Benth.(BENTHAM,1859).	
<i>C. divaricata</i> Benth.(BENTHAM,1859).	
<i>C. acutiflora</i> Benth.(BENTHAM,1859).	
35. <i>C. claussenii</i> Benth.(BENTHAM,1859).	
36. <i>C. velutina</i> Benth.(BENTHAM,1859; DUCKE,1939).	
37. <i>C. barretoensis</i> Windler & Skinner. (WINDLER & SKINER,1982).	América Tropical (Brasil)
38. <i>C. brasiliensis</i> Windler & Skinner. (WINDLER & SKINER,1982).	América Tropical (Brasil)
39. <i>C. harleyi</i> Windler & Skinner.(LEWIS, 1987).	América Tropical (Brasil)
40. <i>C. hatschbachii</i> var <i>sericea</i> . Windler & Skinner (WINDLER & SKINER,1982).	América Tropical (Brasil)
41. <i>C. irwinii</i> Windler & Skinner.(WINDLER & SKINER,1982).	América Tropical (Brasil)

2.4. Estudos citogenéticos no gênero *Crotalaria*

Os primeiros estudos citológicos realizados em *Crotalaria* referem-se à determinação de número de cromossomos, iniciados nos anos 30. O levantamento realizado por SEN (1938), lista o número de cromossomos em dez espécies e registra pela primeira vez os números para *C. incana*, *C. argyrea* e *C. striata*. Todas apresentam $2n=16$, com exceção de *C. incana*, $2n=14$. ATCHINSON (1950) amplia essa lista para 29 espécies, incluindo os tetraplóides *C. pumila* e *C. pilosa*.

com $2n=32$. Atualmente, cerca de 136 espécies já foram analisadas citologicamente, das quais 86% são $2n=16$, 3%, $2n=14$ e 11%, $2n=32$. (Veja referências em DARLINGTON & WILIE, 1955; MOORE, 1973 e 1977; LOVE, 1970, 1973 e 1975; WINDLER (1974) ; GOLDBLAT, 1981 e 1984.)

O número básico de cromossomos do gênero é $x=8$, atribuído já nos estudos iniciais (SEN, 1938; ATCHINSON, 1950) e hoje confirmado por vários autores (RAINA & VERMA, 1979; GOLDBLAT, 1981; VERMA *et alii*, 1984). A origem do número derivado, $n=7$ foi explicada por dois mecanismos: através de redução aneuplóide, por perda de um par de cromossomos a partir de uma forma ancestral $x=8$ (SEN, 1938) ou por translocação, envolvendo a perda de centrômeros, sem perda de material genético essencial (ATCHINSON, 1950). A hipótese da redução aneuplóide foi apoiada pelas observações de ROY & SINHA (1959) ao constatarem a formação de gametas $n=7$ em *C. sericea*, de constituição $2n=16$ e de DATTA & GHOSHAL (1969) ao registrarem pela primeira vez o número de cromossomos de *C. capensis*, $2n=14$. Por outro lado, PATIL & CHENNAVEERAI AH (1975) admitiram a origem de *C. incana*, $2n=14$, a partir de *C. mucronata* (atual *C. pallida*), através de rearranjos cromossômicos, como translocação recíproca, após efetuarem comparação dos cariótipos destas espécies. Segundo GOLDBLAT (1981), a redução aneuplóide é observada em outros gêneros e espécies da tribo Crotalarieae. Este autor admite que $x=9$ é o número básico da tribo, ocorrendo nos gêneros *Lebeckia*, *Wiborgia*, *Aspalathus*, *Bolusia*, *Lotononis* e *Melolobium* . O gênero sul-africano *Aspalathus* apresenta aneuploidia em várias linhas, com $n=8$ em muitas espécies e $n=7$ em algumas outras. Os gêneros *Crotalaria* e *Rafnia* têm número básico $x=8$. O número derivado $n=7$ ocorre apenas no gênero *Crotalaria*, subseção *Incanae* e na espécie *C. capensis*, seção *Grandiflorae*. Os gêneros *Pearsonia* (*Gamwellia*), *Rothia* e *Dichilus* aparentemente têm número básico $x=7$, conhecidos apenas por uma contagem de

cromossomos. No gênero sul-americano *Anarthrophyllum*, duas espécies apresentam $n=12$ e, possivelmente, são $x=6$. Este número discordante daqueles observados nos demais gêneros, sugeriu a GOLDBLAT(1981) uma posição alternativa do gênero *Anarthrophyllum* na tribo Genisteae, próximo ao gênero *Lupinus*.

As análises cromossômicas efetuadas em espécies de *Crotalaria* mostraram que o comprimento absoluto dos cromossomos varia entre 1,1 μm em *C. medicaginea*, e 7,65 μm em *C. ferruginea*, enquanto o comprimento do lote haploide também varia em grande extensão, de 10,92 μm em *C. maxilaris* e 47,91 μm , em *C. ferruginea*, espécies diplóides, 53,95 μm em *C. nitens*, espécie tetraplóide(MAGDOOM *et alii*, 1963; DATTA & CHOUDHURY, 1966; DATTA & GANGULY, 1967; DATTA & GHOSHAL, 1969; CHENNAVEERAIHAH & PATIL, 1973; GUPTA & GUPTA, 1978; RAINA & VERMA, 1979; VERMA *et alii*, 1984). Os cromossomos são predominantemente metacêntricos e os cariótipos analisados apresentaram índices de simetria(TF%) elevados, alcançando 48,1 como observado em *C. anagyroides*, enquanto poucas espécies apresentaram índices mais baixos, próximos a 35,9, como em *C. verrucosa* (GUPTA & GUPTA, 1978). Os cariótipos foram classificados por VERMA *et alii*, (1984) em 1A, 2A, 1B, 2B e 3B, segundo as categorias propostas por STEBBINS(1971).

A maior parte dos trabalhos tem identificado constrições secundárias na maioria das espécies. Entretanto, o número e a posição variam nos diferentes pares de cromossomos(DATTA & GANGULY, 1967; CHENNAVEERAIHAH & PATIL, 1973; GUPTA & GUPTA, 1978). VERMA *et alii* (1984) referem-se a constrições secundárias sempre associadas ao primeiro par de homólogos e reconhecem três localizações diferentes nos cromossomos das espécies estudadas: (a) onde as constrições primária e secundária estão separadas por um pequeno segmento do braço curto; (b) onde as constrições

primária e secundária estão separadas por um segmento menor que o do tipo (a);(c) onde a constrição secundária divide o braço curto em duas metades iguais.

Um número variável de cromossomos B foi descrito em *C. browney*, *C. retusa*, *C. juncea*, *C. medicaginea*, *C. sericea* (GUPTA & GUPTA, 1977) e em *C. grahamiana*, *C. grantiana*, *C. mucronata*, *C. australis*, *C. leioloba*, *C. leubnitziana* (VERMA & RAINA, 1983), *C. sphaerocarpace* e *C. trifoliastrum* (VERMA et alii, 1984). Segundo os autores, estes cromossomos são pequenos e sem qualquer pareamento na meiose. Em todos os casos, a sua presença não foi associada a características morfológicas das plantas portadoras.

2.5. Citogenética e relações filogenéticas

A contribuição da citogenética para o esclarecimento de relações de afinidades entre as espécies tem sido efetuada através de vários enfoques. GREILHUBER(1984), em sua abordagem sobre evidências cromossômicas na taxonomia, considera que, além do número e morfologia dos cromossomos corados por métodos convencionais, outras informações devem ser obtidas sobre o conteúdo de DNA das espécies, a distribuição e quantidade de heterocromatina através do bandamento cromossômico, a distinção citoquímica de diferentes tipos de heterocromatina, a localização de organizadores nucleolares transcricionalmente ativos, corados pela impregnação com prata e, ainda, a identificação de DNA satélite no genoma e sua relação com bandas heterocromáticas através da hibridação "in situ".

Nesta revisão serão considerados alguns aspectos referentes a informações que se vêm obtendo em investigações desta natureza , destacando sua importância

para a compreensão da relação entre taxa em seus diversos níveis.

As determinações de número de cromossomos têm subsidiado discussões sobre relações filogenéticas em leguminosas, com proposições de linhas filéticas e conexões citológicas entre subfamílias e tribos (SEN, 1938; TURNER & FEARING, 1959, GOLDBLAT, 1981). Embora as contagens cromossômicas marquem o início das investigações citogenéticas e tenham alcance limitado, ainda constituem preocupação em muitos trabalhos, especialmente relacionados à flora de regiões tropicais, onde muitas espécies ainda não foram analisadas (BANDEL, 1974; BIR & KUMARI, 1977; GUERRA, 1986; SOARES *et alii*, 1988; BAIRIGANJAN & PATNAIK, 1989).

O cariótipo, ainda que baseado apenas na morfologia dos cromossomos, pode desempenhar papel importante na caracterização de grupos e fornecer evidências para a reorganização da taxonomia. Neste sentido, o trabalho clássico de Avdulov, 1931, (veja STEBBINS, 1971) em Gramineae, representa a mais abrangente análise de relações entre gêneros de uma grande família do ponto de vista citológico, combinado a características anatômicas, histológicas, de desenvolvimento e de distribuição geográfica.

As referências na literatura a respeito da contribuição que estudos sobre cariótipos têm dado à biossistemática são numerosas. Em categorias mais baixas, especialmente a nível de gênero, as informações obtidas são significativas. No gênero *Delphinium* (Ranunculaceae) existe considerável controvérsia em relação à posição do subgênero *Consolida* D.C.. AL-KELIDAR & RICHARDS (1981) compararam espécies de *Consolida* e espécies de quatro seções de *Delphinium* por meio do índice de similaridade do cariótipo. Em grau limitado, a distância entre as espécies mostrou correspondência com os agrupamentos taxonômicos, enfatizando

a relação entre espécies das seções e apoiando a separação de *Consolida* como gênero independente. As análises morfométricas e de conteúdo de DNA indicaram a posição evolutiva dos diferentes táxons.

Em outras situações, as evidências citológicas podem sugerir a transferência de espécies para gêneros afins, como ocorre com *Silene longipetala*. Esta espécie compartilha características morfológicas com espécies do seu gênero e com as de *Dianthus*. As análises comparativas do cariótipo em espécies de *Silene* recomendam sua remoção deste gênero. Entretanto, a sua colocação em *Dianthus* ainda requer que análises citológicas sejam efetuadas neste gênero (BADR *et alii*, 1987).

No gênero *Desmodium*, análises cromossômicas em espécies de diferentes seções dos subgêneros *Desmodium*, *Dolineria* e *Sagotia*, evidenciaram maior semelhança cariotípica entre espécies da mesma seção do que entre subgêneros. Por outro lado, as diferenças em espécies de seções diferentes de *Sagotia* refletiram a natureza polimórfica e avançada deste subgênero, como sugerido por características morfológicas (SANJAPPA & BHATT, 1985). Ainda na família Leguminosae, a delimitação dos gêneros *Macroptilium*, *Phaseolus* e *Vigna*, com base em caracteres morfológicos, bioquímicos e palinológicos foi reforçada pelas análises citológicas. FORNI-MARTINS & CRUZ (1985) analisaram parâmetros da morfologia cromossômica através de diferentes testes estatísticos, que permitiram individualizar cada espécie e reuni-las em grupos, muitos dos quais concordantes com a separação nos diferentes gêneros. As análises cromossômicas em *Stylosanthes* (Leguminosae), realizadas por VIEIRA (1988) mostraram que materiais tratados como variedades de *S. guianensis* são entidades distintas do ponto de vista citológico dentro do complexo *guianensis* que também inclui outras espécies com cariótipos distintos. Ainda

neste trabalho as evidências cromossômicas reforçaram o tratamento de *S. gracilis* e de *S. campestris* como espécies distintas dentro do complexo *guianensis* tal como proposto por Ferreira e Costa, 1977 e 1979 (Cf. referências em VIEIRA, 1988).

As relações entre gêneros muito próximos, às vezes, são definidas por um único atributo do cariótipo, tal como verificado por BRUYNS & VOSA (1987), em certos gêneros da família Liliaceae. A bimodalidade, observada nos cariótipos de espécies do gênero *Bowiea*, *Drimia*, *Rhadamanthus*, *Schizobasis* e *Litanthus*, sugere origem e evolução comuns. Entretanto, em cada gênero as espécies se distinguem pelo índice de bimodalidade, número e morfologia dos cromossomos. A estreita relação entre as subespécies de *Bowiea* é confirmada por seus cariótipos idênticos.

No gênero *Ixeris* (*Compositae-Lactuceae*) a posição sistemática das espécies é controvertida e sua delimitação com gêneros afins ainda é incerta. A análise de cariótipos em espécies e subespécies de cinco seções permitiu que PAK & KAWANO (1990) discriminassem as espécies ($x=7$) da seção *Ixeridium* como um grupo filogenético distinto que seria separado como um gênero independente - *Ixeridium* e as espécies remanescentes ($x=8$) seriam referidas como *Ixeris*. Neste caso, as características cariológicas forneceram critério rigoroso para definir *Ixeris* e gêneros afins, desde que elas são muito relacionadas por caracteres morfológicos. Situação inversa ocorre no gênero *Euphorbia*, que é considerado como altamente heterogêneo morfológica e embriologicamente. Citologicamente é complexo, polibásico, com larga faixa de número de cromossomos ($2n=12$ a $2n=200$) e com 40% de espécies poliplóides. Entretanto, a análise cromossômica em espécies de três seções garantiu a validade taxonômica das seções *Poinsetia* e *Euphorbium*, cujas espécies analisadas mostraram número básico $x=7$ e $x=10$, respectivamente (MEHRA & CHODA, 1978).

O potencial de análises cromossômicas para distinguir e caracterizar taxa pode ser constatado na observação de caracteres muito sutis, tal como revelado em *Gasteria* por VOSA & BENNET (1990). Das 40 espécies que compõem o gênero, 37 foram examinadas, observando-se um cariótipo com constante índice de bimodalidade e uniformidade na posição dos cromossomos organizadores de nucléolo. Entretanto, nas fases de prófase e prometáfase, observa-se marcante variação quanto à localização de segmentos alocíclicos em cromossomos específicos, de alto valor diagnóstico para a distinção interespecífica.

A nível infra-específico, investigações citológicas têm contribuído para definir a posição taxonômica em subespécies de *Trifolium subterraneum* (FALISTOCO *et alii*, 1987), caracterizar variedades em *Cajanus cajan* (SINHA & KUMAR, 1979) e variedades em *Clitoria ternatea* (MATHEW & NINAM, 1989).

A variação do conteúdo de DNA em espécies de plantas tem sido objeto de estudos evolutivos (NARAYAN, 1983), taxonômicos e de uso prático no melhoramento de espécies cultivadas (BENNET *et alii*, 1977). Marcante correspondência entre conteúdos de DNA é observada em espécies de um mesmo agrupamento taxonômico, tal como as espécies das seções *Montanae*, *Bovinae* e *Scariosae*, do gênero *Festuca* (SEAL, 1983), espécies das seções *Albicans*, *Lanceifolia* do gênero *Plantago* (BADR *et alii*, 1987) e espécies das seções *Micranthus* e *Flamula* do gênero *Ranunculus* (D'OVIDIO & MARCHI, 1990).

No gênero *Piper*, SAMUEL *et alii* (1986) observaram que as variações interespecíficas no conteúdo de DNA são altamente significativas entre os taxa como um todo e entre as espécies diplóides e tetraplóides. Entretanto, a constatação de que espécies diplóides do Novo Mundo têm maior quantidade de DNA nuclear do que os tetraplóides do

Novo e do Velho Mundo, e que as espécies selvagens em geral têm maior conteúdo de DNA, requer investigações mais amplas, úteis na solução de problemas taxonômicos no gênero.

A análise da diferenciação linear dos cromossomos através da caracterização de um padrão de bandas, utilizando-se metodologias diversas, tem sido importante na determinação de afinidade filogenética em plantas. A importância do bandamento cromossômico e o seu papel em estudos evolutivos e taxonômicos são discutidos por VOSA (1985), com referência em particular ao gênero *Allium*, que mostra variação interespecífica no padrão de bandamento C e Q. O autor faz referências a outros gêneros como *Anemone*, *Anacyclus* e *Tulipa*, cujos padrões de bandas heterocromáticas apresentados entre as espécies se mostrou de valor taxonômico. Em espécies cujos cariótipos são muito semelhantes, como em *Arachis*, CAI *et alii* (1987) demonstraram, através do padrão de bandamento C, maior interrelação entre as espécies da seção *Arachis*, com exceção de *A. batizocoi*. Entretanto, o padrão de bandas desta espécie indicou sua provável ancestralidade na origem alopóliplóide de *A. hypogaea*. A espécie *A. rigoni*, pertencente à seção *Erectoides*, é bastante distinta, sugerindo considerável divergência.

A aplicação mais generalizada do bandamento C em plantas apresenta limitações pelo fato de muitas espécies não apresentarem regiões de heterocromatina constitutiva que sejam detectáveis por estas técnicas. Neste aspecto, o bandamento G seria mais promissor porque produz diferenciação linear ao longo dos cromossomos, incluindo as regiões ocupadas por heterocromatina constitutiva. Entretanto a virtual ausência de banda G em plantas pode envolver aspectos de natureza estrutural e funcional dos cromossomos metafásicos (GREILHUBER, 1977), ou metodológica (LORINDA *et alii*, 1982). Em consonância com este último

argumento, tentativas vêm sendo realizadas para superar limitações técnicas (WANG & KAO, 1988). DREWRY (1988) obteve bandamento G em *Pinus resinosa*, cujo padrão obtido revelou semelhança entre membros do lote haplóide. Isto sugere que os cromossomos de cada um destes pares são originalmente homólogos e que a poliploidia desempenhou papel importante na evolução de *Pinus*. Para o autor, o bandamento G neste gênero pode ser significativo para esclarecer relações entre as espécies, uma vez que é marcante a uniformidade em número e quantidade de DNA nuclear neste gênero. Enquanto o bandamento G não se torna amplamente evidenciado em maior número de plantas, ainda faz parte das discussões atuais a presença ou ausência de banda G em plantas. VOSA (1989) afirma que há um consenso sobre a existência de diferenças entre cromossomos de plantas e de animais, no contexto de sua diferenciação linear.

Outros subsídios da citogenética à citotaxonomia provêm de investigações das regiões organizadoras de nucléolo dos cariótipos, as quais apresentam variação quanto ao número, posição e tamanho, podendo ser marcadores cromossômicos importantes, junto a outros parâmetros, na identificação de espécies e interrelações entre gêneros. A localização destas regiões, através da impregnação com prata, já foi observada em muitas espécies, como em *Pisum sativum* (LAMM, 1981), *Vicia faba* (SCHUBERT *et alii*, 1979), *Allium sativum* e *Beta vulgaris* (ARMSTRONG & FORD-LLOYD, 1989). No gênero *Helleborus* (Ranunculaceae), D'AMATO & BIANCHI (1989) identificaram espécies mais relacionadas quanto ao número de nucléolos, número e tamanho de NOR e de satélites. Consideraram a espécie *H. foetidus* como a mais primitiva e que a divergência e especiação no gênero foi acompanhada não só pelo aumento de assimetria do cariótipo, mas também pela perda de heterocromatina e redução no comprimento da NOR.

Além da distribuição específica do padrão de bandas, as sequências de DNA altamente repetitivo, podem ser detectadas por técnicas de hibridação *in situ*. Estas técnicas podem evidenciar que espécies e gêneros afins compartilham sequências comuns. Estudos desta natureza, realizados em Triticeae, revelaram a existência de sequências homólogas de DNA repetitivo, em número tanto maior quanto mais as espécies são relacionadas filogeneticamente (FLAVELL *et alii*, 1983).

No gênero *Crotalaria*, estudos citogenéticos visando estabelecer relações entre as espécies, são escassos. Logo após a primeira revisão taxonômica do gênero, quando POLHILL (1968) propôs sua divisão em onze gêneros, BOULTER *et alii* (1970) analisaram os cromossomos de 57 espécies, classificando-os, segundo o tamanho, em três categorias. Segundo constataram, as espécies das seções *Grandiflorae* e *Incanae* apresentavam os maiores cromossomos; as espécies das seções *Hedriocarpae* e *Macrostachyae* mostravam cromossomos de forma e tamanho variáveis; enquanto na subseção *Longirostres* e seção *Dispermae* as espécies apresentavam os menores cromossomos. Este trabalho foi baseado em dados puramente qualitativos, uma vez que não foram realizadas medidas cromossômicas. Os autores reconheceram esta limitação e a necessidade de uma investigação citológica mais ampla, com referência a comprimento absoluto de cromossomos, localização do centrômero, comprimento relativo e posição da constrição secundária, a fim de que se obtenham maiores informações sobre afinidades dentro do gênero. O presente trabalho se coloca dentro desta perspectiva.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

Foram estudadas citologicamente onze espécies, pertencentes a quatro seções do gênero *Crotalaria*: *C. incana* L., *C. holosericea* Nees et Mart. (Seção *Chrysocalycinae*); *C. brevidens* Benth., *C. lanceolata* L., *C. pallida* Ait. (Seção *Macrostachyae*); *C. juncea* L., *C. stipularia* Desv., *C. paulina* Schrank (Seção *Calycinae*); *C. retusa* L., *C. spectabilis* Roth., *C. virgulata* Klotsch subsp. *grantiana* (Harv.) Polhill (Seção *Crotalaria*). As figuras de 1 a 4 apresentam aspectos da inflorescência das espécies estudadas. Todas as espécies são anuais, com exceção de *C. pallida* que é perene de ciclo curto.

As sementes das espécies selvagens usadas neste estudo foram coletadas no campo em seu habitat natural. As sementes de *C. juncea*, a espécie mais cultivada, foram doadas pela Empresa de Papéis Pirahy (Piracicaba-SP), as de *C. spectabilis* e *C. paulina*, também cultivadas, foram doadas pelo Centro de Pesquisa Agropecuária do Cerrado (Brasília-DF) e posteriormente multiplicadas por plantios nos campos experimentais da ESALQ/USP. Após a coleta, as sementes foram acondicionadas em sacos de papel e mantidas em câmara seca, para conservar sua viabilidade.

Para cada espécie em estudo foram feitas exsicatas dos ramos florais, frutos e sementes, que foram registradas e mantidas no Herbário Alexandre Leal Costa (ALCB), do Departamento de Botânica do Instituto de Biologia

da Universidade Federal da Bahia. A identificação das espécies foi feita por comparação com materiais existentes no Herbário ALCB e, quando necessário, por especialistas no estudo da família Leguminosae. A tabela 2 lista o nome das espécies por seção e subseção do gênero, o seu número de registro no Herbário e local de coleta.

3.2. Análise dos cariótipos

As análises citológicas foram realizadas em células meristemáticas de ponta de raiz, obtidas de sementes em germinação.

3.2.1. Obtenção das raízes, pré-tratamento e fixação

As sementes das espécies em estudo foram escarificadas mecanicamente e postas para embebição durante 2-3 horas. Em seguida, foram transferidas para vasos contendo vermiculita umedecida e mantidas à temperatura ambiente, entre 24°C e 28°C, ou em banho-maria a 28°C.

As raízes crescendo ativamente, ao atingirem 1-2cm de comprimento, foram coletadas entre 11:00 horas e 16:00 horas e submetidas a pré-tratamento em solução de 8-hidroxiquinolina 0,002 M durante 2 a 2:30 horas, à temperatura ambiente. Após o pré-tratamento, as raízes foram fixadas em etanol acético (3 partes de etanol e 1 parte de ácido acético) durante 18-24 horas, transferidas para álcool a 70%, passando para novo álcool a 70% e estocadas em freezer, à temperatura -5°C, por tempo variável, até o uso.

Tabela 2. Espécies de *Crotalaria* utilizadas nas análises citológicas..

Espécie	Registro	Local de Coleta	Seção/Subseção
01 <i>C. incana</i> L.	ALCB-23154* ALCB-22975	Itaparica-Ba Salvador-Ba	<i>Chrysocalycinae</i> <i>Incanae</i>
02 <i>C. holosericea</i> Nees et Mart.	ALCB-22953	Alagoinhas-Ba	<i>Chrysocalycinae</i> **
03 <i>C. brevidens</i> Benth.	ALCB-22941 ALCB-22942	Campinas-SP Piracicaba-SP	<i>Hedriocarpae</i> <i>Nachrostachyae</i>
04 <i>C. lanceolata</i> L.	ALCB-22966	Salvador-Ba	<i>Hedriocarpae</i> <i>Nachrostachyae</i>
05 <i>C. pallida</i> Ait.	ALCB-22964 ALCB-22977	Salvador-Ba Piracicaba-SP	<i>Hedriocarpae</i> <i>Nachrostachyae</i>
06 <i>C. juncea</i> L.	ALCB-22976	Piracicaba-SP	<i>Calycinae</i>
07 <i>C. stipularia</i> Desv.	ALCB-22965 ALCB-22959	Campinas-SP Salvador-Ba	<i>Calycinae</i>
08 <i>C. paulina</i> Schrank	ALCB-22970	Brasília-DF	<i>Calycinae</i>
09 <i>C. retusa</i> L.	ALCB-22963 ALCB-23153	Salvador-Ba Itaparica-Ba	<i>Crotalaria</i> <i>Crotalaria</i>
10 <i>C. spectabilis</i> Roth.	ALCB-22972 ALCB-22925	Brasília-DF Esplanada-Ba	<i>Crotalaria</i> <i>Crotalaria</i>
11 <i>C. virgulata</i> Klotzch sub- esp. <i>grantiana</i> (Harv.) Polhill	ALCB-22940	Piracicaba-SP	<i>Crotalaria</i> <i>Longirostres</i>

* - ALCB - Herbario Alexandre Leal Costa - Bahia

** - Segundo Lewis, G. P.. Comunicação Pessoal, 2/7/1991.

3.2.2. Coloração pelo método de Feulgen e preparação de lâminas

As raízes em álcool a 70% foram lavadas em água destilada e em seguida hidrolisadas em HCl 1N, em banho-maria a 60°C, por 8 minutos. Após a hidrólise, foram lavadas em água destilada e coradas no reativo de Schiff por 45 minutos.

Para montagem das lâminas, a ponta de uma raiz foi macerada em 1 gota de ácido acético a 45%, com o auxílio de um bastão até a obtenção de uma suspensão celular. Após a sobrecoloração com carmim acético a 1%, o material foi coberto com laminula, aquecido rapidamente sobre a chama e esmagado.

Como o comprimento absoluto dos cromossomos está sujeito a uma larga faixa de variação em função do seu grau de condensação, procurou-se padronizar a duração do tratamento na hidroxiquinolina, bem como estabelecer um critério de seleção de metáfases, nas quais os cromossomos não se apresentassem alongados, nem muito contraídos, preservando uma morfologia típica de cromossomo metafásico. Este último critério foi mais importante porque em uma mesma preparação observaram-se metáfases em diferentes graus de condensação dos cromossomos, apesar da padronização do pré-tratamento. As lâminas contendo metáfases com cromossomos espalhados, morfologia nítida e condensação adequada, foram transformadas em permanentes: as laminulas foram removidas em ácido acético a 45%. Após a secagem à temperatura ambiente, foram montadas em bálsamo do Canadá e mantidas em estufa a 40°C por 8-10 dias. As lâminas permanentes foram fotografadas em microscópio Nikon utilizando-se a objetiva

de imersão 100X, fator da projetiva 5X e filtro ND2. Utilizou-se o filme Copex Pan-Agfa, 32 ASA. As cópias fotográficas foram feitas em papel kodabromide F-3, com ampliação final de 3.200X. Foram fotografadas 10 metáfases por espécie, de modo geral, duas de cinco plantas diferentes.

3.2.3. Análise morfométrica dos cromossomos

As medidas cromossômicas foram feitas nas cópias fotográficas, utilizando-se um compasso de ponta seca e régua milimetrada com precisão de 0,5 mm. Foram medidos o braço curto e o braço longo, obtendo-se pela soma de ambos o comprimento absoluto dos cromossomos. Nos cromossomos que apresentavam constrição secundária, foram medidos os segmentos proximal e distal, descartando a constrição secundária. Com a soma destes valores, obteve-se o comprimento do respectivo braço.

Os valores obtidos para braço curto, braço longo e comprimento absoluto dos cromossomos foram utilizados para calcular:

- relação de braços (R.B) = comprimento do braço longo/comprimento do braço curto;
- comprimento do lote haplóide (CLH) = somatória do comprimento dos cromossomos do lote haplóide;
- comprimento relativo (CR) = comprimento absoluto do cromossomo/comprimento do lote haplóide x 100;

- índice de simetria do cariótipo (TF%) =
somatória do comprimento dos braços curtos do
lote haplóide/comprimento do lote haplóide x
100 (HUZIWARA, 1962).

Os valores para comprimento absoluto e comprimento do lote haplóide, originalmente em milímetros foram convertidos para micrômetro (μm). Os pares de homólogos foram identificados com base no comprimento absoluto e relação de braços dos cromossomos. Os valores para comprimento absoluto foram utilizados para a construção dos ideogramas.

Os cromossomos foram classificados em sua morfologia segundo a nomenclatura de LEVAN *et alii* (1964).

Os dados referentes a cada metáfase foram registrados em tabela, como a ilustrada no Apêndice 1. E o conjunto de dados para uma determinada espécie foi registrado em tabela, como ilustrado no Apêndice 2, para *C. incana*.

3.3. Padrão de bandamento C

Para análise dos cromossomos através de bandamento C foi seguido o método de AGUIAR-PERECIN (1985). As raízes pré-tratadas com 8-hidroxiquinolina foram mantidas no fixador por 2-3 dias. Antecedendo a preparação das lâminas, as raízes foram mantidas no ácido acético a 45%, durante 45 minutos, aproximadamente. Uma ponta de raiz foi esmagada em ácido acético a 45% conforme descrição anterior. Após observação em microscópio de fase, as lâminas contendo células em metáfases foram separadas das laminulas, secas ao ar, à temperatura ambiente. As lâminas e laminulas foram conservadas em etanol absoluto, em geladeira, por alguns dias.

Para aplicação da técnica de bandamento C propriamente dita, as lâminas e laminulas foram retiradas do álcool e secas à temperatura ambiente. As lâminas foram colocadas em incubação em solução saturada de hidróxido de bário, em estufa a 37°C, por períodos variáveis de 10, 20 e 30 minutos. Em seguida, foram lavadas em água deionizada e transferidas para solução salina 2XSSC (NaCl 0,3M + citrato de sódio 0,03 M, pH 7,0) e mantidas na estufa a 60°C por 1 hora. Posteriormente, lâminas e laminulas foram lavadas em água deionizada e passadas na série alcoólica 70%, 95% e absoluto. Depois de secas, as lâminas foram mergulhadas por 4-5 minutos em solução de Giemsa a 2% (preparada no momento do uso, a partir da solução estoque R 66 (GURR), diluída a 2% em solução fosfatada, pH 6,8 GURR). Após lavagem rápida em água destilada, as lâminas foram secas, mergulhadas no xilol e montadas em bálsamo do Canadá.

3.4. Análise estatística

Foram calculadas as médias, desvio padrão e coeficiente de variação dos dados referentes a comprimento absoluto, comprimento relativo, relação de braços dos pares de cromossomos, o índice de simetria do cariótipo e comprimento do lote haplóide das onze espécies estudadas.

Todas as espécies diplóides e poliplóides foram comparadas entre si através de análise de variância envolvendo os dados de simetria do cariótipo, comprimento absoluto e relação de braços do maior e do menor par de cromossomos. Posteriormente, os dados das espécies diplóides e poliplóides foram submetidos separadamente a análise de variância, considerando o comprimento absoluto e relação de braços de cada par de cromossomos e comprimento do lote

haplóide dos cariótipos. Seguindo-se cada análise de variância, foi aplicado o teste de Student-Newman-Keuls (S.N.K) de comparação de médias múltiplas (SOKAL & ROHLF,1969), visando agrupar as espécies de acordo com a significância das médias, relativas a cada parâmetro analisado.

Para processamento destas análises foi utilizado o programa SPSS/PC (Universidade de Londres).

Figura 1. Espécies da seção *Chrysocalycinae*. 1. *C. holosericea*, inflorescência; 2. *C. holosericea*, inflorescência com frutos; 3. *C. incana*, inflorescência e frutos.

Figura 2 . Espécies da seção Hedriocarpae, subseção Machrostachyae. 1. *C. lanceolata*; 2. *C. brevidens*; 3. *C. pallida*.

Figura 3. Espécies da seção *Calycinae*. 1. *C. stipularia*; 2. *C. paulina*; 3. *C. juncea*.

Figura 4. Espécies da seção *Crotalaria*. 1. *C. virgulata* subsp. *grantiana*; 2. *C. retusa*; 3. *C. spectabilis*.

4. RESULTADOS

As análises citológicas realizadas, evidenciaram constituição cromossômica $2n=16$ em *C. pallida*, *C. brevidens*, *C. lanceolata*, *C. spectabilis*, *C. retusa*, *C. virgulata* subsp. *grantiana*, *C. juncea*, *C. holosericea*, $2n=14$ em *C. incana* e $2n=32$, em *C. paulina* e *C. stipularia*. Os cariótipos das espécies analisadas estão representados nas Figuras 5 a 8 e os respectivos ideogramas na Figura 9. Existe predominância de cromossomos com centrômero em posição mediana em todas as espécies. Observou-se em todas elas, que o primeiro par de cromossomos apresenta uma constrição secundária no braço curto, exceto em *C. spectabilis*, cuja localização está no braço longo. A Figura 10 mostra uma metáfase de um triplóide de *C. incana* ($2n=21$). Na mesma lâmina observou-se mais oito células com a mesma constituição cromossômica. Neste triplóide foram observados três cromossomos com constrição secundária.

Os dados sobre comprimento absoluto, comprimento relativo, relação de braços dos pares de cromossomos, comprimento do lote haplóide, e simetria do cariótipo de cada uma das espécies estão apresentados nas Tabelas 3 a 13. *C. incana* (Tabela 3) apresentou os maiores cromossomos, entre 3,65 μm e 2,17 μm e a *C. virgulata* subsp. *grantiana* (Tabela 13), os menores, entre 1,81 μm e 1,10 μm . O comprimento absoluto dos cromossomos das demais espécies variou entre estes limites. Na maioria das espécies, o par de cromossomos mais longo é no máximo 1,8 vezes maior que o cromossomo mais curto, como observado em *C. pallida* (Tabela

7). A menor razão cromossomo mais longo/cromossomo mais curto foi 1.27, encontrada em *C. holosericea* (Tabela 4).

O tamanho reduzido dos cromossomos de *C. virgulata subsp grantiana* se refletiu no menor valor de comprimento do lote haplóide, 11,10 μm , para esta espécie. Entre as demais $2n=16$, o maior comprimento do lote haplóide foi observado em *C. brevidens* com 20,41 μm , enquanto os tetraplóides *C. paulina* e *C. stipularia*, apresentaram 31,15 μm e 29,04 μm , respectivamente (Tabelas 9 e 10).

Os valores de relação de braços variaram de 1,03 a 2,23, observados em *C. virgulata subsp grantiana* (Tabela 13). Entre todas as espécies verificou-se maior frequência de valores inferiores a 1,7, correspondentes a cromossomos com centrômero em posição mediana. Apenas *C. incana*, *C. holosericea*, *C. pallida* e *C. virgulata subsp grantiana*, apresentaram um ou dois cromossomos com valores entre 1,73 e 2,23, que caracterizam cromossomos com centrômero em posição submediana. O índice de simetria do cariótipo variou de 40,45, observado em *C. holosericea*, e 46,74 em *C. juncea*. A Tabela 14 apresenta os valores médios de comprimento absoluto dos cromossomos, comprimento do lote haploide e de índice de simetria do cariótipo das espécies analisadas neste trabalho, por seção.

Com referência ao primeiro par de cromossomos, o qual apresenta uma constrição secundária, a tabela 15 mostra o valor percentual do segmento proximal e distal ao centrômero, no braço longo de *C. spectabilis* e no braço curto das demais espécies. Observa-se que a constrição primária e secundária estão separadas por um pequeno segmento do braço curto, representado por 17,16% de seu comprimento, como em *C. retusa* ou por um segmento maior, de 42,24%, em *C. incana*.

Os resultados das análises de variância para comprimento absoluto, e relação de braços de cada par de cromossomos das espécies diplóides, estão apresentados nos Apêndices 3 e 4 .Ficou evidenciado que existem diferenças significativas entre as espécies diplóides com relação a todos os pares de cromossomos. Considerando as espécies poliplóides separadamente, as análises de variância evidenciaram que existem diferenças significativas entre *C. paulina* e *C. stipularia* quanto aos valores de comprimento absoluto dos pares de cromossomos 1, 2, 5, 6, 7, 8, 10 a 14 (Apêndice 5) e da relação de braços dos pares de cromossomos 3, 4, 8 e 14 (Apêndice 6). Tanto as espécies diplóides quanto as poliplóides diferem significativamente entre si quanto aos valores de comprimento do lote haplóide(Apêndice 7).

O Apêndice 8 apresenta os resultados da análise de variância para comprimento absoluto e relação de braços do maior par de cromossomos de todas as espécies, diplóides e poliplóides; no Apêndice 9 são mostrados os resultados das análises de variâncias destes parâmetros, para o menor par de cromossomos destas espécies. Os resultados da análise de variância do índice de simetria do cariótipo estão apresentados no Apêndice 10. Em todos os casos, as diferenças são significativas .

Os resultados dos testes de Student-Newman-Keuls (S.N.K) referentes às espécies diplóides estão apresentados na Tabela 16, para comprimento absoluto dos pares de cromossomos; na Tabela 17, para relação de braços dos pares de cromossomos; e na Tabela 18, para comprimento do lote haplóide. As comparações envolvendo, conjuntamente, as espécies diplóides e poliplóides, através do teste S.N.K.,estão apresentadas na Tabela 19, para comprimento absoluto do maior e do menor par de cromossomos e do índice de simetria do cariótipo.

As preparações citológicas resultantes da aplicação da técnica de bandamento C não revelaram qualquer diferenciação de coloração ao longo dos cromossomos mitóticos, que corresponda à presença de segmentos de heterocromatina. Esta observação é consonante com o aspecto dos núcleos interfásicos, os quais não apresentam cromocentros intensamente corados que se correlacionem a blocos heterocromáticos. (Figura 11). As implicações destes resultados são discutidas dentro de cada seção.

Figura 5. Cariótipo das espécies de *Crotalaria* da seção *Chrysocalycinae*.

Figura 6. Cariótipo das espécies de *Crotalaria* da seção *Hedriocarpae*.

Figura 7. Cariótipo das espécies de *Crotalaria* da seção *Calycinae*.

Figura 8. Cariótipo das espécies de *Crotalaria* da seção *Crotalaria*.

SECÃO *Chrysocalycinae*

C. incana

C. holosericea

SECÃO *Calycinae*

C. juncea

C. paulina

C. stipularia

SECÃO *Hedriocarpae*

43

C. pallida

C. brevidens

C. lanceolata

SECÃO *Crotalaria*

C. retusa

C. spectabilis

C. virgulata
ssp grantiana

Figura 9. Ideograma das espécies de *Crotalaria*.

Figura 10. *C. incana*. Metáfase de um triploide ($2n=21$), mostrando três cromossomos com constrição secundária.

Figura 11. Aspecto do núcleo interfásico de *C. incana*, corado com giemsa.

Tabela 3. Dados cromossômicos de *Crotalaria incana*.
(Valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita, e coeficiente de variação (%) na linha inferior).

Par cromossômico	Comprimento absoluto (µm)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços	Posição do centrômero
1	3,65±0,26 7,09	18,98±0,88 4,64	1,17±0,06 4,76	m*
2	3,34±0,17 5,03	17,35±0,83 4,80	1,27±0,07 5,20	m
3	2,81±0,18 6,24	14,61±0,62 4,27	1,40±0,07 5,02	m
4	2,57±0,18 7,00	13,35±0,52 3,88	1,55±0,12 7,89	m
5	2,40±0,14 6,02	12,51±0,45 3,57	1,78±0,11 5,90	sm
6	2,31±0,14 6,15	11,98±0,48 4,05	1,48±0,13 8,97	m
7	2,17±0,15 6,79	11,29±0,40 3,51	1,36±0,05 3,62	m
Comprimento do lote haplóide (µm)		19,25±0,91 4,72		
Comprimento absoluto do mais longo/ comprimento absoluto do mais curto par:				1,68
Índice de simetria do cariótipo (TF%)		41,90±0,62 1,48		

m = mediana

sm = submediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 4. Dados cromossômicos de *Crotalaria holosericea*.
(Valores correspondentes à média de 10 metáfases,
seguidos de desvio padrão, à direita e coeficiente de
variação (%), na linha inferior).

Par cromossômico	Comprimento absoluto (μm)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços	Posição do centrômero
1	$2,54 \pm 0,24$ 9,27	$14,12 \pm 0,58$ 4,12	$1,58 \pm 0,15$ 9,53	m*
2	$2,48 \pm 0,19$ 7,80	$13,76 \pm 0,28$ 2,04	$1,33 \pm 0,12$ 9,14	m
3	$2,36 \pm 0,18$ 7,56	$13,11 \pm 0,39$ 2,99	$1,33 \pm 0,09$ 6,90	m
4	$2,29 \pm 0,21$ 9,03	$12,68 \pm 0,27$ 2,10	$1,74 \pm 0,15$ 8,89	sm
5	$2,23 \pm 0,20$ 8,95	$12,32 \pm 0,25$ 2,05	$1,34 \pm 0,12$ 9,13	m
6	$2,09 \pm 0,18$ 8,49	$11,62 \pm 0,17$ 1,46	$1,50 \pm 0,17$ 11,33	m
7	$2,03 \pm 0,19$ 8,17	$11,28 \pm 0,24$ 2,17	$1,73 \pm 0,11$ 6,37	sm
8	$2,00 \pm 0,20$ 10,03	$11,10 \pm 0,33$ 2,97	$1,37 \pm 0,10$ 7,06	m

Comprimento do	$18,02 \pm 1,55$
lote haplóide (μm)	8,60

Comprimento absoluto do mais longo/ comprimento absoluto do mais curto par:	1,27
--	------

Índice de simetria	$40,45 \pm 0,60$
do cariótipo (TF%)	1,48

m = mediana
sm = submediana
* = cromossomo com satélite

Tabela 5. Dados cromossômicos de *Crotalaria brevidens*
(Valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita, e coeficiente de variação (%), na linha inferior).

Par cromossômico	Comprimento absoluto (µm)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços centrômero	Posição do centrômero
1	3,14±0,25 7,94	15,40±0,68 4,41	1,06±0,06 5,67	m*
2	3,00±0,28 9,39	14,68±0,66 4,49	1,18±0,09 7,30	m
3	2,81±0,16 5,63	13,79±0,31 2,22	1,32±0,09 7,03	m
4	2,71±0,21 7,70	13,28±0,42 3,14	1,20±0,10 8,32	m
5	2,53±0,20 8,08	12,39±0,45 3,62	1,31±0,09 6,54	m
6	2,28±0,13 5,84	11,16±0,44 3,97	1,45±0,11 7,31	m
7	2,10±0,12 5,87	10,28±0,25 2,46	1,41±0,10 7,39	m
8	1,84±0,17 9,20	9,02±0,51 5,67	1,26±0,13 10,62	m
Comprimento do lote haplóide (µm)		20,41±1,33 6,52		
Comprimento absoluto do mais longo/ comprimento absoluto do mais curto par:				1,71
Índice de simetria do cariótipo (TF%)		44,21±0,47 1,06		

m = mediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 6. Dados cromossômicos de *Crotalaria lanceolata*. (Valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita, e coeficiente de variação (%), na linha inferior).

Par cromossômico	Comprimento absoluto (μm)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços centrômero	Posição do
1	2,95 $\pm$ 0,21 7,13	14,96 $\pm$ 0,95 6,35	1,09 $\pm$ 0,06 5,94	m*
2	2,89 $\pm$ 0,25 8,61	14,63 $\pm$ 0,31 2,14	1,13 $\pm$ 0,07 6,53	m
3	2,82 $\pm$ 0,32 11,27	14,25 $\pm$ 0,54 3,78	1,24 $\pm$ 0,06 5,04	m
4	2,62 $\pm$ 0,30 11,44	13,19 $\pm$ 0,43 3,23	1,39 $\pm$ 0,13 9,48	m
5	2,41 $\pm$ 0,23 9,54	12,18 $\pm$ 0,41 3,33	1,34 $\pm$ 0,10 7,29	m
6	2,25 $\pm$ 0,20 8,76	11,33 $\pm$ 0,33 2,90	1,55 $\pm$ 0,11 7,26	m
7	2,08 $\pm$ 0,22 10,56	10,36 $\pm$ 0,69 6,69	1,45 $\pm$ 0,09 6,25	m
8	1,78 $\pm$ 0,27 15,12	8,95 $\pm$ 0,62 6,94	1,23 $\pm$ 0,10 8,40	m
Comprimento do lote haplóide (μm)		19,80 $\pm$ 1,80 9,09		
Comprimento absoluto do mais longo/ comprimento absoluto do mais curto par:				1,66
Índice de simetria do cariótipo (TF%)		43,47 $\pm$ 0,47 1,08		

m = mediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 7. Dados cromossômicos de *Crotalaria pallida* (Valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita, e coeficiente de variação (%), na linha inferior)

Par cromossômico	Comprimento absoluto (μm)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços	Posição do centrômero
1	$3,06 \pm 0,26$ 8,64	$16,47 \pm 0,60$ 3,65	$1,46 \pm 0,12$ 8,01	m*
2	$2,74 \pm 0,33$ 12,04	$14,57 \pm 0,57$ 3,89	$1,15 \pm 0,08$ 7,39	m
3	$2,61 \pm 0,28$ 10,55	$13,90 \pm 0,52$ 3,72	$1,57 \pm 0,11$ 7,13	m
4	$2,36 \pm 0,25$ 10,50	$12,70 \pm 0,23$ 1,79	$1,80 \pm 0,16$ 8,66	sm
5	$2,21 \pm 0,21$ 9,67	$11,79 \pm 0,29$ 2,43	$1,49 \pm 0,17$ 11,25	m
6	$2,13 \pm 0,18$ 8,63	$11,37 \pm 0,23$ 2,03	$1,60 \pm 0,14$ 9,01	m
7	$2,02 \pm 0,20$ 10,12	$10,78 \pm 0,44$ 4,09	$1,30 \pm 0,12$ 8,95	m
8	$1,63 \pm 0,16$ 9,73	$8,72 \pm 0,40$ 4,56	$1,27 \pm 0,10$ 7,97	m

Comprimento do lote haplóide (μm) $18,76 \pm 1,77$
9,42

Comprimento absoluto do mais longo/
comprimento absoluto do mais curto par: 1,88

Índice de simetria do cariótipo $41,10 \pm 1,02$
2,48

m = mediana

sm = submediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 8. Dados cromossômicos de *Crotalaria juncea*. (Valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita, e coeficiente de variação (%), na linha inferior).

Par cromossômico	Comprimento absoluto (μm)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços	Posição do centrômero
1	$2,90 \pm 0,20$ 7,03	$14,82 \pm 0,51$ 3,46	$1,12 \pm 0,06$ 5,14	m*
2	$2,88 \pm 0,14$ 4,72	$14,71 \pm 0,52$ 3,53	$1,10 \pm 0,06$ 5,18	m
3	$2,65 \pm 0,14$ 5,23	$13,56 \pm 0,40$ 2,97	$1,13 \pm 0,05$ 4,09	m
4	$2,47 \pm 0,14$ 5,78	$12,64 \pm 0,44$ 3,50	$1,20 \pm 0,06$ 5,22	m
5	$2,32 \pm 0,12$ 5,33	$11,89 \pm 0,22$ 1,86	$1,08 \pm 0,06$ 5,40	m
6	$2,21 \pm 0,15$ 6,68	$11,27 \pm 0,27$ 2,39	$1,35 \pm 0,12$ 8,99	m
7	$2,15 \pm 0,14$ 6,73	$11,00 \pm 0,42$ 3,85	$1,18 \pm 0,07$ 5,68	m
8	$1,98 \pm 0,14$ 7,06	$10,09 \pm 0,44$ 4,32	$1,08 \pm 0,04$ 3,33	m
Comprimento do lote haplóide (μm)		$19,56 \pm 1,00$ 5,11		
Comprimento absoluto do mais longo/ comprimento absoluto do mais curto par:				1,46
Índice de simetria do cariótipo (TF%)		$46,74 \pm 0,47$ 1,01		

m = mediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 9. Dados cromossômicos de *Crotalaria paulina*
(Valores correspondentes à média de 10
metáfases, seguidos de desvio padrão, à
direita, e coeficiente de variação (%) na
linha inferior.

Par cromossômico	Comprimento absoluto (μm)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços	Posição do centrômero
1	$2,43 \pm 0,12$ 4,79	$7,81 \pm 0,34$ 4,37	$1,12 \pm 0,09$ 8,18	m*
2	$2,36 \pm 0,16$ 6,70	$7,58 \pm 0,38$ 5,01	$1,12 \pm 0,08$ 7,27	m
3	$2,22 \pm 0,18$ 7,91	$7,13 \pm 0,27$ 3,72	$1,17 \pm 0,11$ 9,17	m
4	$2,15 \pm 0,15$ 6,89	$6,90 \pm 0,21$ 3,00	$1,42 \pm 0,12$ 8,17	m
5	$2,09 \pm 0,15$ 7,17	$6,65 \pm 0,11$ 1,66	$1,25 \pm 0,16$ 12,44	m
6	$2,02 \pm 0,15$ 7,25	$6,49 \pm 0,10$ 1,50	$1,34 \pm 0,12$ 8,92	m
7	$1,98 \pm 0,14$ 7,11	$6,37 \pm 0,16$ 2,44	$1,15 \pm 0,12$ 10,59	m
8	$1,95 \pm 0,14$ 7,10	$6,27 \pm 0,13$ 2,01	$1,16 \pm 0,15$ 13,19	m
9	$1,90 \pm 0,14$ 7,17	$6,10 \pm 0,14$ 2,23	$1,31 \pm 0,12$ 9,27	m
10	$1,85 \pm 0,12$ 6,56	$5,98 \pm 0,09$ 1,57	$1,20 \pm 0,14$ 11,75	m
11	$1,82 \pm 0,12$ 6,47	$5,89 \pm 0,14$ 2,38	$1,21 \pm 0,15$ 12,00	m
12	$1,78 \pm 0,11$ 6,28	$5,73 \pm 0,11$ 2,01	$1,26 \pm 0,14$ 11,36	m

Tabela 9. (Continuação)

13	$1,76 \pm 0,11$ 6,18	$5,66 \pm 0,15$ 2,71	$1,15 \pm 0,10$ 8,96	m
14	$1,72 \pm 0,11$ 6,47	$5,52 \pm 0,14$ 2,50	$1,20 \pm 0,10$ 8,48	m
15	$1,61 \pm 0,11$ 7,04	$5,18 \pm 0,18$ 3,39	$1,12 \pm 0,11$ 10,99	m
16	$1,51 \pm 0,11$ 7,39	$4,86 \pm 0,23$ 4,64	$1,20 \pm 0,11$ 9,07	m
<hr/>				
Comprimento do		$31,15 \pm 1,91$		
lote haplóide (μm)		6,13		
<hr/>				
Comprimento absoluto do mais longo/ comprimento absoluto do mais curto par: 1,61				
<hr/>				
Índice de simetria		$45,56 \pm 0,66$		
do cariótipo (TF%)		1,45		

m = mediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 10. Dados cromossômicos de *Crotalaria stipularia*.
(Valores correspondentes à média de 10 metáfases,
seguidos de desvio padrão, à direita, e
coeficiente de variação (%), na linha inferior).

Par cromossômico	Comprimento absoluto (μ m)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços centrômero	Posição do
1	$2,23 \pm 0,21$ 9,31	$7,69 \pm 0,44$ 5,67	$1,08 \pm 0,08$ 7,37	m*
2	$2,19 \pm 0,19$ 8,54	$7,53 \pm 0,25$ 3,38	$1,07 \pm 0,07$ 6,83	m
3	$2,10 \pm 0,17$ 8,14	$7,24 \pm 0,29$ 3,97	$1,33 \pm 0,12$ 8,78	m
4	$2,01 \pm 0,18$ 8,86	$6,93 \pm 0,26$ 3,77	$1,27 \pm 0,14$ 11,40	m
5	$1,93 \pm 0,17$ 8,58	$6,64 \pm 0,20$ 3,03	$1,28 \pm 0,13$ 10,51	m
6	$1,88 \pm 0,14$ 7,39	$6,48 \pm 0,13$ 1,97	$1,25 \pm 0,18$ 14,25	m
7	$1,84 \pm 0,14$ 7,39	$6,36 \pm 0,10$ 1,50	$1,27 \pm 0,19$ 18,60	m
8	$1,81 \pm 0,13$ 7,10	$6,22 \pm 0,08$ 1,25	$1,31 \pm 0,12$ 9,45	m
9	$1,78 \pm 0,14$ 7,71	$6,13 \pm 0,12$ 1,92	$1,44 \pm 0,04$ 4,57	m
10	$1,73 \pm 0,14$ 7,71	$5,97 \pm 0,07$ 1,17	$1,27 \pm 0,19$ 14,83	m
11	$1,69 \pm 0,13$ 7,77	$5,81 \pm 0,10$ 1,76	$1,13 \pm 0,13$ 11,36	m
12	$1,67 \pm 0,13$ 7,79	$5,74 \pm 0,08$ 1,37	$1,40 \pm 0,12$ 8,83	m

Tabela 10. (Continuação)

13	$1,62 \pm 0,13$ 7,81	$5,58 \pm 0,10$ 1,87	$1,23 \pm 0,14$ 11,11	m
14	$1,57 \pm 0,14$ 8,69	$5,41 \pm 0,22$ 4,13	$1,46 \pm 0,14$ 9,62	m
15	$1,52 \pm 0,14$ 8,96	$5,24 \pm 0,21$ 4,07	$1,18 \pm 0,11$ 8,96	m
16	$1,47 \pm 0,13$ 9,0	$5,05 \pm 0,24$ 4,77	$1,33 \pm 0,18$ 13,57	m

Comprimento do lote haplóide (μ m)	$29,04 \pm 2,18$ 7,51
--	--------------------------

Comprimento absoluto do mais longo/ comprimento absoluto do mais curto par:	1.52
--	------

Índice de simetria do cariótipo (TF%)	$44,58 \pm 0,89$ 1,99
--	--------------------------

m = mediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 11. Dados cromossômicos de *Crotalaria retusa*.
(Valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita, e coeficiente de variação (%), na linha inferior.

Par Cromossômico	Comprimento absoluto (µm)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços	Posição do centrômero
1	2,60±0,30 11,41	14,71±0,70 4,76	1,05±0,05 4,78	m*
2	2,60±0,34 13,00	14,77±0,65 4,40	1,14±0,08 7,39	m
3	2,35±0,28 11,84	13,29±0,34 2,56	1,61±0,09 5,48	m
4	2,29±0,27 11,69	12,91±0,41 3,19	1,18±0,06 5,37	m
5	2,10±0,26 12,17	11,91±0,60 5,07	1,12±0,07 5,98	m
6	2,01±0,23 11,24	11,36±0,20 1,77	1,47±0,09 6,10	m
7	1,94±0,21 10,78	10,94±0,38 3,51	1,32±0,06 4,28	m
8	1,83±0,17 9,45	10,33±0,48 4,67	1,13±0,07 5,84	m
Comprimento do lote haplóide (µm)		17,72±1,94 10,97		
Comprimento absoluto do mais longo/ comprimento absoluto do mais curto par:		1.42		
Índice de simetria do cariótipo (TF%)		44,69±0,80 1,79		

m = mediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 12. Dados cromossômicos de *Crotalaria spectabilis* (Valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita, e coeficiente de variação (%), na linha inferior)

Par Cromossômico	Comprimento absoluto (μm)	Comprimento relativo (%)	Relação de braços centrômero	Posição do centrômero
1	2,65 $\pm$ 0,25 9,53	15,19 $\pm$ 0,72 4,71	1,20 $\pm$ 0,10 7,99	m*
2	2,59 $\pm$ 0,45 17,54	14,67 $\pm$ 0,60 4,11	1,09 $\pm$ 0,06 5,70	m
3	2,39 $\pm$ 0,38 15,92	13,60 $\pm$ 0,56 4,12	1,31 $\pm$ 0,16 12,29	m
4	2,16 $\pm$ 0,36 16,41	12,30 $\pm$ 0,46 3,77	1,54 $\pm$ 0,12 7,52	m
5	2,06 $\pm$ 0,29 13,86	11,78 $\pm$ 0,28 2,36	1,17 $\pm$ 0,15 12,95	m
6	2,00 $\pm$ 0,28 13,94	11,39 $\pm$ 0,20 1,78	1,30 $\pm$ 0,17 12,96	m
7	1,93 $\pm$ 0,25 12,98	11,01 $\pm$ 0,26 2,33	1,30 $\pm$ 0,15 11,24	m
8	1,78 $\pm$ 0,23 13,18	10,13 $\pm$ 0,60 5,97	1,21 $\pm$ 0,06 4,95	m

Comprimento do lote haplóide (μm) 17,56 $\pm$ 2,47
14,05

Comprimento absoluto do mais longo/
comprimento absoluto do mais curto par: 1,49

Índice de simetria 44,62 $\pm$ 0,75
do cariótipo (TF%) 1,68

m = mediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 13. Dados cromossômicos de *Crotalaria virgulata* subsp. *grantiana* (Valores correspondentes à média de 10 metáfases, seguidos de desvio padrão, à direita, e coeficiente de variação (%), na linha inferior).

Par cromossômico	Comprimento absoluto (µm)	Comprimento Relativo (%)	Relação de braços	Posição do centrômero
1	1,81±0,25 13,68	16,26±1,28 7,87	1,77±0,17 9,61	sm*
2	1,75±0,19 10,86	15,94±1,05 6,59	2,23±0,25 11,02	sm
3	1,39±0,11 7,74	12,52±0,57 4,57	1,58±0,15 9,18	m
4	1,32±0,08 6,30	11,90±0,31 2,57	1,41±0,12 8,31	m
5	1,28±0,06 4,71	11,59±0,39 3,38	1,41±0,12 8,51	m
6	1,26±0,06 5,14	11,29±0,35 3,13	1,25±0,09 7,24	m
7	1,19±0,08 6,92	10,69±0,42 3,94	1,30±0,10 7,87	m
8	1,10±0,09 8,43	9,97±0,55 5,48	1,03±0,05 4,77	m
Comprimento do lote haplóide (µm)		11,10±0,80 7,22		
Comprimento absoluto do mais longo/ comprimento absoluto do mais curto par:				1,65
Índice de simetria do cariótipo (TF%)		40,83±0,80 1,96		

m = mediana

sm = submediana

* = cromossomo com satélite

Tabela 14. Dados comparativos da constituição cromossômica, do tamanho médio dos cromossomos, do comprimento do lote haplóide (C.L.H.) e do índice de simetria do cariótipo (TF%) das espécies de *Crotalaria*.

Espécie	2n	Tamanho médio dos cromossomos (µm)	CLH (µm)	TF%
Seção <i>Chrysocalycinae</i>				
<i>C. incana</i>	14	2,75	19,25	41,90
<i>C. holosericea</i>	16	2,25	18,02	40,45
Seção <i>Hedriocarpae</i>				
<i>C. pallida</i>	16	2,34	18,76	41,10
<i>C. lanceolata</i>	16	2,48	19,80	43,47
<i>C. brevidens</i>	16	2,55	20,41	44,21
Seção <i>Calycinae</i>				
<i>C. juncea</i>	16	2,46	19,56	46,74
<i>C. paulina</i>	32	1,95	31,15	45,56
<i>C. stipularia</i>	32	1,82	29,04	44,58
Seção <i>Crotalaria</i>				
<i>C. retusa</i>	16	2,22	17,72	44,69
<i>C. spectabilis</i>	16	2,20	17,56	44,62
<i>C. virgulata</i>	16	1,39	11,10	40,83
subsp. <i>grantiana</i>				

Tabela 15. Posição relativa da constrição secundária no 1º par de cromossomos das espécies de *Crotalaria*.

Espécie	Segmento de braço proximal ao centrômero	Segmento de braço distal ao centrômero	Localização
<i>C. pallida</i>	39,79	60,21	b.c.
<i>C. lanceolata</i>	26,01	73,99	b.c.
<i>C. brevidens</i>	25,14	74,86	b.c.
<i>C. retusa</i>	17,16	82,84	b.c.
<i>C. spectabilis</i>	34,49	65,51	b.l.
<i>C. virgulata subsp grantiana</i>	40,23	59,77	b.c.
<i>C. paulina</i>	30,61	69,39	b.c.
<i>C. stipularia</i>	41,90	58,10	b.c.
<i>C. juncea</i>	27,50	72,50	b.c.
<i>C. incana</i>	42,24	57,76	b.c.
<i>C. holosericea</i>	34,62	65,38	b.c.

b.c. - Braço curto.

b.l. - Braço longo.

Tabela 16. Teste de Student - Newman - Keuls para comprimento absoluto dos pares de cromossomos das espécies diplóides de *Crotalaria*

Cromossomos	1	2	3	4	5	6	7	8
Espécie								
<i>C. incana</i>	3,65 ^d	3,34 ^e	2,81 ^c	2,57 ^{cde}	2,40 ^{dc}	2,31 ^c	2,17 ^b	----
<i>C. holosericea</i>	2,54 ^b	2,48 ^b	2,36 ^b	2,29 ^{bc}	2,23 ^{bcd}	2,09 ^b	2,03 ^b	2,00 ^c
<i>C. brevidens</i>	3,14 ^c	3,00 ^d	2,81 ^c	2,71 ^e	2,53 ^e	2,28 ^c	2,10 ^b	1,84 ^{bc}
<i>C. lanceolata</i>	2,95 ^c	2,89 ^{cd}	2,82 ^c	2,62 ^{de}	2,41 ^{de}	2,25 ^c	2,08 ^b	1,78 ^{bc}
<i>C. pallida</i>	3,06 ^c	2,74 ^{bcd}	2,61 ^{bc}	2,36 ^{bc}	2,21 ^{bcd}	2,13 ^{bc}	2,02 ^b	1,63 ^b
<i>C. juncea</i>	2,90 ^c	2,88 ^{cd}	2,65 ^{bc}	2,47 ^{cde}	2,32 ^{cdc}	2,21 ^{bc}	2,15 ^b	1,98 ^c
<i>C. retusa</i>	2,60 ^b	2,61 ^{bc}	2,35 ^b	2,29 ^{bc}	2,10 ^{bc}	2,01 ^b	1,94 ^b	1,83 ^{bc}
<i>C. spectabilis</i>	2,65 ^b	2,59 ^{bc}	2,39 ^b	2,16 ^b	2,06 ^b	2,06 ^b	1,93 ^b	1,73 ^{bc}
<i>C. virgulata</i>	1,81 ^a	1,75 ^a	1,39 ^a	1,32 ^a	1,28 ^a	1,26 ^a	1,19 ^a	1,10 ^a
Subsp. <i>grantiana</i>								

Médias para um mesmo par, seguidas de letras distintas diferem entre si a nível de 5% de significância.

Tabela 17. Teste de Student - Newman - Keuls para relação de braços dos pares de cromossomos das espécies diplóides de *Crotalaria*

Cromossomos	1	2	3	4	5	6	7	8
Espécie								
<i>C. incana</i>	1,17 ^c	1,27 ^b	1,40 ^b	1,55 ^b	1,78 ^a	1,48 ^a	1,36 ^b	----
<i>C. holosericea</i>	1,58 ^{ab}	1,33 ^b	1,33 ^{bc}	1,74 ^a	1,34 ^b	1,50 ^{ab}	1,73 ^a	1,37 ^a
<i>C. brevidens</i>	1,06 ^a	1,18 ^c	1,32 ^{bc}	1,20 ^d	1,31 ^b	1,45 ^a	1,41 ^b	1,26 ^b
<i>C. lanceolata</i>	1,09 ^{de}	1,13 ^c	1,24 ^c	1,39 ^c	1,34 ^b	1,55 ^a	1,45 ^b	1,23 ^b
<i>C. pallida</i>	1,46 ^b	1,15 ^c	1,57 ^a	1,80 ^a	1,49 ^b	1,60 ^a	1,30 ^b	1,27 ^{ab}
<i>C. juncea</i>	1,12 ^{cd}	1,10 ^c	1,13 ^d	1,20 ^d	1,08 ^d	1,35 ^{ab}	1,18 ^c	1,08 ^c
<i>C. retusa</i>	1,05 ^c	1,14 ^c	1,61 ^a	1,18 ^d	1,12 ^{cd}	1,47 ^a	1,32 ^b	1,13 ^c
<i>C. spectabilis</i>	1,20 ^c	1,09 ^c	1,31 ^c	1,54 ^b	1,17 ^c	1,30 ^b	1,30 ^b	1,21 ^b
<i>C. virgulata</i>	1,77 ^a	2,23 ^a	1,58 ^a	1,41 ^{bc}	1,41 ^b	1,25 ^{ab}	1,30 ^b	1,03 ^d
Subsp. grantiana								

Médias para um mesmo par seguidas de letras distintas diferem entre si a nível de 5% de significância.

Tabela 18. Teste de Student - Newman - Keuls para comprimento do lote haplóide das espécies diplóides de *Crotalaria*.

Espécies	Comprimento do lote haplóide
<i>C. incana</i>	19,25bcd
<i>C. holosericea</i>	18,02bc
<i>C. brevidens</i>	20,41d
<i>C. lanceolata</i>	19,80cd
<i>C. pallida</i>	18,76bcd
<i>C. juncea</i>	19,56bcd
<i>C. retusa</i>	17,72b
<i>C. spectabilis</i>	17,56b
<i>C. virgulata</i>	11,10a
Subsp. grantiana	

Médias para um valor, seguidas de letras distintas, diferem entre si a nível de 5% de significância.

Tabela 19. Teste de Student - Newman - Keuls para comprimento absoluto do maior e do menor par de cromossomos (μm) e do índice de simetria do cariótipo (TF%) das espécies de *Crotalaria*.

Espécie	Comprimento absoluto do maior par	Comprimento absoluto do menor par	TF%
<i>C. incana</i>	3.65 ^e	2.17 ^f	41.90 ^b
<i>C. holosericea</i>	2.54 ^c	2.00 ^e	40.45 ^a
<i>C. brevidens</i>	3.14 ^d	1.84 ^{cde}	42.21 ^d
<i>C. lanceolata</i>	2.95 ^d	1.78 ^{bc}	43.47 ^c
<i>C. pallida</i>	3.06 ^d	1.63 ^{bc}	41.10 ^{ab}
<i>C. juncea</i>	2.90 ^d	1.98 ^{de}	46.74 ^f
<i>C. stipularia</i>	2.23 ^b	1.51 ^b	44.58 ^d
<i>C. paulina</i>	2.43 ^{bc}	1.47 ^b	45.56 ^e
<i>C. retusa</i>	2.60 ^c	1.83 ^{cde}	44.69 ^b
<i>C. spectabilis</i>	2.65 ^c	1.78 ^{cd}	44.62 ^d
<i>C. virgulata</i> Subsp. <i>grantiana</i>	1.81 ^a	1.10 ^a	40.83 ^{ab}

Médias para um mesmo par seguidas de letras distintas diferem entre si a nível de 5% de significância.

5. DISCUSSÃO

O número de cromossomos de dez espécies, das onze de *Crotalaria* analisadas no presente trabalho confirma determinações realizadas anteriormente (SEN, 1938; ATCHINSON, 1950; DATTA & BISWAS, 1962; MAGDOM *et alii*, 1963; GUPTA & GUPTA, 1978; RAINA & VERMA, 1979; VERMA & RAINA 1980, 1983; VERMA *et alii*, 1984). Há discordância em relação à *C. holosericea*, cujo primeiro registro foi $2n = 14$ (SOARES *et alii*, 1988). Análises citológicas realizadas neste trabalho, envolvendo cinco plantas diferentes desta espécie, revelaram número somático $2n=16$. Tal discordância sugeriu a existência de citótipos diferentes para esta espécie, como já observado em outras do gênero, como *C. medicaginea* $n = 8$ e $n = 16$ (BIR & KUMARI, 1977), *C. ferruginea*, $n=8$, $n=24$ e $n=21$ (Cf. MANGROTA & KOUL, 1979); *C. pumila* $2n=32$ (ATCHINSON, 1950) e $2n=16$ (ROY & MISHRA, 1979). Semelhante à *C. ferruginea*, os citótipos de *C. holosericea* estão relacionados ao número básico do gênero, $x=8$ e seu derivado, $n=7$.

A maioria dos trabalhos citados na literatura, em que se analisou o cariótipo de espécies de *Crotalaria* tem evidenciado que as espécies, de maneira geral, apresentam um cariótipo bastante conservativo (RAINA & VERMA, 1979; VERMA *et alii*, 1984). As análises citológicas realizadas neste trabalho evidenciaram que existe um padrão básico, caracterizado pela presença do cromossomo maior com constrição secundária, predominância de cromossomos com centrômero em posição mediana e gradação no tamanho dos cromossomos, resultando num cariótipo geralmente simétrico. Entretanto quando se considera um conjunto de variáveis

cromossômicas, os cariótipos apresentam-se marcadamente distintos, embora existam pares de espécies muito semelhantes. A existência de um padrão geral reforça a caracterização de *Crotalaria* como um grupo natural e as semelhanças e diferenças em seus cariótipos refletem relações de afinidade entre espécies. Isto justifica a discussão destes dados, considerando as espécies de acordo com a separação em seções. Esta discussão, porém deve ser precedida da abordagem de aspectos gerais deste padrão básico.

Em todas as espécies analisadas, o primeiro par de cromossomos apresentou-se como o mais diferenciado do cariótipo devido à presença de uma constrição secundária no braço curto e apenas em *C. spectabilis*, no braço longo. A localização da constrição secundária no braço curto é predominante no gênero e foi registrada em várias outras espécies diplóides. Todavia, a sua localização ocupa posições variáveis no braço curto, separando-se do centrômero por um segmento muito curto ou gradativamente maior, mas que não ultrapassa 42,24% do comprimento do braço curto. Em nenhuma das espécies analisadas, a constrição secundária divide o braço curto em duas metadas iguais, como registrado em algumas espécies (VERMA *et alii*, 1984). Outras localizações no 2º e 3º pares de cromossomos já foram citadas para um pequeno número de espécies, bem como sua presença em dois ou três pares de cromossomos do cariótipo (DATTA & BISWAS, 1963; DATTA & CHOUDHURY, 1966; DATTA & GHOSHAL, 1969; DATTA & GANGULY, 1967; CHENNAVEERAIHAH & PATIL, 1973; GUPTA & GUPTA, 1978). Estas divergências muito provavelmente decorrem de falhas de observação, uma vez que as fotos apresentadas nestes trabalhos são pouco nítidas. VERMA *et alii* (1984), observaram constrição secundária somente no primeiro par de cromossomos, como constatado no presente trabalho. As constrições secundárias têm sido associadas à função de organização do nucléolo em *Crotalaria*

(RAINA & VERMA, 1979; GUPTA & GUPTA, 1978) e em várias espécies, dos gêneros *Cicer*, *Trifolium*, *Crinum* (AHMAD, 1989; FALISTOCCO *et alii*, 1987; RAINA & KHOSHOO, 1971).

A posição da constrição secundária em diferentes posições do braço curto e sua localização no braço longo em *C. spectabilis* sugerem que rearranjos estruturais como duplicação de segmentos cromossômicos, inversões e translocações simples tiveram papel importante, produzindo modificações na morfologia deste par de cromossomos.

Nas espécies analisadas, houve ocorrência predominante de cariótipos simétricos. Observou-se uma totalidade de cromossomos com centrômeros em posição mediana em *C. lanceolata*, *C. brevidens*, *C. retusa*, *C. spectabilis*, *C. paulina*, *C. stipularia* e *C. juncea*. Enquanto o cariótipo de *C. virgulata* subsp. *grantiana* e *C. holosericea* apresentaram dois cromossomos com centrômeros em posição submediana, o cariótipo de *C. incana* e *C. pallida* apenas um cromossomo com centrômero em posição submediana. Em cada cariótipo, os cromossomos formam uma série gradualmente contínua do maior ao menor par, com maior uniformidade em *C. holosericea* (Figura 9). Entretanto, em *C. virgulata* subsp. *grantiana* e em *C. incana*, os primeiros pares são marcadamente maiores. Observou-se leve descontinuidade entre o segundo e terceiro pares de cromossomos, o que se reflete em maior diferença de comprimento relativo nestes cromossomos, tornando os cariótipos mais heterogêneos (Tabelas 3 e 13). Os valores de TF% em *C. incana*, *C. holosericea*, *C. pallida* e *C. virgulata* subsp. *grantiana* foram os mais baixos, entre 40,45 e 41,90, enquanto nas demais espécies variou entre 43,47 e 46,74. No gênero *Crotalaria* o maior valor de TF% já registrado foi 48,1 em *C. verrucosa*, (GUPTA & GUPTA, 1978), cujo cariótipo se aproxima da simetria máxima, que é atingida por TF%=50.

A leve tendência à assimetria, observada em quatro das onze espécies analisadas, decorre de mudanças na posição do centrômero, as quais podem ter resultado de inversões pericêntricas, translocações desiguais de pequenos segmentos cromossômicos e alterações estruturais envolvendo ganho ou perda de DNA. Este último fator deve ter sido também responsável por diferenças de tamanho entre cromossomos considerados correspondentes nos diversos cariótipos e consequente efeito no comprimento do lote haplóide. Este aspecto é particularmente evidente em *C. virgulata* subesp. *grantiana*, com o menor valor de 11.10, e em espécies tetraplóides, nas quais parece ter ocorrido redução do tamanho dos cromossomos.

5.1. O cariótipo das espécies analisadas da seção *Chrysocalycinae*

As espécies *C. incana* e *C. holosericea* analisadas nesta seção apresentaram cariótipos distintos, permitindo uma identificação precisa das espécies principalmente pelo diferente número de cromossomos, $2n=14$ e $2n=16$, respectivamente, (Figura 5). *C. incana* apresenta os maiores cromossomos (3,65 μm a 2,17 μm) entre todas as espécies analisadas aqui, especialmente os dois primeiros pares (Tabela 16). Em concordância ao grande tamanho dos cromossomos, o comprimento do lote haplóide é um dos mais altos (19,25 μm) comparável às espécies diplóides $2n=16$, à exceção de *C. virgulata* subsp. *grantiana* (Tabela 14). Os pares de cromossomos 1, 2, 3, 4, 6, e 7 têm centrômeros em posição mediana com valores altos de relação de braços, sendo o par de cromossomos 5, único com centrômero submediano, com relação de braços 1,78. A assimetria do cariótipo (TF%=41,90), resulta destes valores relativamente

altos de relação de braços, como podem ser observados na Tabela 17.

C. holosericea tem cromossomos menores ($2,54\mu\text{m}$ a $2,00\mu\text{m}$) e menor comprimento do lote haplóide ($18,02\mu\text{m}$). O índice de simetria do cariótipo ($\text{TF}\%=40,45$) é marcadamente determinado pela relação de braços alta nos pares de cromossomos 1 (1,58), 4 (1,74) e 7 (1,73), (Tabela 17).

A morfologia do primeiro par de cromossomos é significativamente diferente, entre as espécies (Figura 9). Em *C. incana*, um longo segmento, representado por 42,24% do comprimento do braço curto separa o centrômero da constrição secundária enquanto, em *C. holosericea*, este segmento corresponde a 34,62%.

Em todo o gênero, a constituição cromossômica $2n=14$ foi registrada apenas em quatro espécies da subseção *Incanae*, incluindo *C. incana*, e em *C. capensis* (seção *Grandiflorae*). Devido a esta constituição cromossômica particular, BOULTER et alii (1970) sugeriram a elevação da subseção *Incanae* à categoria de seção. Entretanto, a subseção é constituída de mais onze espécies, das quais *C. barkae* é $2n=16$, e para as demais ainda não há registro do número de cromossomos. Além disso, as espécies da subseção *Incanae* têm distribuição anfiatlântica e, embora pouco representadas na América do Sul, apresentam um padrão aparentemente muito polimórfico (POLHILL, 1968). Na África, a *C. incana* apresenta duas subespécies, *incana* e *purpurascens*. Segundo POLHILL (1982), as espécies de *C. incana* que crescem na América do Sul, assemelham-se a *purpurascens*, as quais podem estar incluídas nesta subespécie. Entretanto no levantamento de espécies de leguminosas do Estado da Bahia, LEWIS (1987) afirma que esta espécie está representada apenas por *incana*, referida como uma variedade.

A comparação dos dados cromossômicos de *C. incana*, neste trabalho, com aqueles já obtidos para as duas subespécies *incana* e *purpurascens* (GUPTA & GUPTA, 1978), mostrou maior similaridade com a subespécie *purpurascens*, quanto à relação de braços dos cromossomos e valor do índice de simetria, o que reforça a proximidade referida por POLHILL (1982), com base na maior semelhança morfológica.

A espécie *C. holosericea* faz parte de um grupo de espécies que têm distribuição restrita na América tropical, o qual apresenta um padrão geral razoavelmente simples, de características não especializadas. POLHILL (1968) considera *C. holosericea* junto a *C. eriocarpa*, *C. rufipilia* e *C. filifolia* muito representativas neste grupo cujas características morfológicas formam a base para a criação de uma nova seção. No momento, a posição subseccional de *C. holosericea* é indefinida, devido à falta de estudos taxonômicos das espécies sul-americanas de *Crotalaria*. No entanto, LEWIS (comunicação pessoal) reconhece uma marcante similaridade morfológica de *C. holosericea* com as espécies da subseção *Incanae* (Figura 1).

O cariótipo de *C. holosericea* é descrito pela primeira vez no presente trabalho: Nenhum dado citológico, além do número de cromossomos (SOARES et alii, 1988), foi registrado até agora.

5.2. O cariótipo de espécies analisadas da seção *Hedriocarpae*

As análises citológicas mostram que *C. pallida*, *C. lanceolata* e *C. brevidens* são estreitamente relacionadas cromossomicamente. Apresentam cromossomos grandes, entre 3,14 μ m e 1,63 μ m, observando-se, em geral;

um gradiente decrescente de tamanho nos pares de cromossomos correspondentes de *C. brevidens* a *C. lanceolata* e *C. pallida*, (Tabela 16) e nos valores de comprimento do lote haplóide, maior em *C. brevidens* (20,41 μm), intermediário em *C. lanceolata* (19,80 μm) e menor em *C. pallida* (18,76 μm) (Tabela 18). Existe alta similaridade entre *C. lanceolata* e *C. brevidens* quanto aos valores de relação de braços de todos os pares de cromossomos que correspondem a centrômeros em posição mediana (Tabela 17). *C. pallida* apresenta características diferentes, apresentando relação de braços mais alta nos pares de cromossomos 1 (1,46), 3 (1,57) e 4 (1,80), (Tabela 17). Estes valores contribuem para menor simetria de seu cariótipo (TF%=41,10) enquanto se observa maior simetria em *C. lanceolata* (TF% 43,47) e *C. brevidens* (TF% 44,21). Ainda para índice de simetria de cariótipos, observa-se o gradiente de valores de *C. brevidens* para *C. lanceolata* e *C. pallida* (Tabela 19).

O ideograma e os dados cromossômicos das espécies mostram que os cariótipos de *C. lanceolata* e *C. brevidens* são mais semelhantes e o de *C. pallida*, mais divergente. Isto é mais evidente na relação de braços dos pares de cromossomos 3 e 4 (Tabela 17), e no par 1, no qual a constrição secundária está separada do centrômero por um segmento maior (39,79% do braço curto), do que o observado em *C. lanceolata* e *C. brevidens* (26,01% e 25,14% do braço curto) (Tabela 15).

Comparando os dados obtidos neste trabalho com os já registrados na literatura, observa-se uma concordância em *C. lanceolata* quanto à totalidade de cromossomos com centrômero em posição mediana e valores muito próximos do índice de simetria obtidos por GUPTA & GUPTA (1978). Os dados cromossômicos para *C. pallida* são bastante divergentes entre os autores (GUPTA & GUPTA, 1978; VERMA & RAINA, 1979). A espécie *C. pallida* apresenta várias

sinonímias, *C. striata* e *C. mucronata*, entre outras e reúne duas variedades *obovata* e *pallida* (POLHIL, 1982). Nas análises citológicas realizadas por GUPTA & GUPTA (1978) *C. pallida*, *C. striata* e *C. mucronata* são tratadas como espécies diferentes e observa-se total discordância quanto aos valores de relação de braços, índice de simetria e comprimento relativo. Os dados obtidos no presente trabalho divergem nos valores de relação de braços e comprimento relativo dos cromossomos das taxa referidos como *C. striata* e *C. pallida*, e mostram maior semelhança com aqueles registrados para *C. mucronata*. GUPTA & GUPTA (1978) analisaram ainda o cariótipo de *C. brevidens* var. *intermedia* e encontraram valores muito altos de relação de braços nos pares de cromossomos 4 e 5 e baixo índice de simetria, o que discorda muito dos dados obtidos neste trabalho. Estes autores não observaram constrição secundária em qualquer destas taxa, contrariando as observações ilustradas na Figura 6. Entretanto, RAINA & VERMA, (1979) registraram constrição secundária no braço curto do cromossomo mais longo destas espécies, confirmada neste trabalho.

Um dos mecanismos propostos para explicar a origem de $n=7$ em espécies da seção *Incanae* fundamenta-se na comparação da morfologia dos cromossomos de *C. mucronata* (*C. pallida*) e *C. incana*. ATCHINSON (1950) observa que *C. mucronata* apresenta dois pares de cromossomos longos e dois pares curtos, enquanto *C. incana*, contém três pares longos e um par de cromossomos curtos. Segundo este autor, uma translocação envolvendo um dos pares de cromossomos curtos em *C. mucronata*, resultou na perda de um centrômero, sem perda de material genético essencial, originando $n=7$. Esta hipótese foi defendida por PATIL & CHENNAVEERAIHAH (1975), através da comparação do cariótipo de *C. incana* e *C. mucronata*, admitindo a perda de um par de cromossomos curtos, com centrômeros medianos em *C. incana*. Os dados obtidos no presente trabalho não reforçam esta hipótese

porque evidenciam que o tamanho de todos os pares de cromossomos e o comprimento de lote haplóide de *C. incana* são superiores aos de *C. pallida*; é pouco provável que a leve descontinuidade do comprimento relativo, observada entre os pares de cromossomos 2 e 3 de *C. incana*, seja explicada por uma translocação, envolvendo o oitavo par de cromossomos, perdido neste processo. Além disso, a hipótese da translocação deveria admitir que houve ganho posterior de material genético em *C. incana*. GUPTA (1976) obteve um valor de conteúdo de DNA de 6.86 para *C. incana*, 5.12 para *C. mucronata* e 5.00 para *C. pallida*. Por outro lado, estas espécies são também pouco relacionadas morfológicamente (Figura 12), conforme estudo de POLHILL (1968, 1982) e BISBY & POLHILL (1973). Diante destas considerações, é pouco provável que *C. pallida* esteja envolvida na origem de *C. incana*.

O padrão de semelhanças cromossômicas evidenciado em *C. pallida*, *C. lanceolata* e *C. brevidens* está em concordância com o padrão de variação morfológica. Os limites taxonômicos entre estas espécies são muito estreitos. Pertencem à mesma subseção *Macrostachyae*. Dentro desta, *C. pallida* é classificada no grupo 1 (plantas com brácteas caducas, antes da abertura completa das flores) e *C. lanceolata* e *C. brevidens*, no grupo 2 (plantas com brácteas persistentes). Apresentam padrão de variação contínua em vários caracteres morfológicos, como folíolos de forma obovada em *C. pallida* a estreitamente lineares em *C. lanceolata*, enquanto *C. brevidens* tem forma intermediária (Cf. referências botânicas em POLHILL, 1982 e LEWIS, 1987). Variação contínua também é observada na forma da inflorescência (Figura 2) e tamanho das sementes.

Figura 12. Organização esquemática de seções (em maiúsculo) e subseções (em minúsculo) de *Crotalaria* da África e Madagascar. Alta similaridade morfológica é indicada por linhas duplas, alguma similaridade, por uma linha e leve similaridade, por uma linha pontilhada. Seções à direita da linha interrompida, têm flores com estrutura, geralmente, mais especializada. [Segundo POLHILL, 1982].

5.3. O cariótipo de espécies analisadas da seção *Calycinae*

As espécies analisadas nesta seção foram separadas em dois grupos distintos pelas suas características cromossômicas e nível de ploidia. *C. juncea* é uma espécie diplóide ($2n=16$), *C. stipularia* e *C. paulina*, tetraplóides ($2n=32$). Uma característica comum a todas é a simetria elevada do cariótipo com valores de TF% entre 44,58 em *C. stipularia* e 46,74 em *C. juncea*, que representam os maiores valores observados entre as espécies analisadas. Entretanto as diferenças apresentadas, embora pequenas, são significativas estatisticamente (Tabela 19). As espécies tetraplóides têm cromossomos comparativamente menores, entre 2.43 μ m e 1.47 μ m. Quando comparadas com as espécies diplóides, através do comprimento absoluto do maior par de cromossomos, *C. paulina* e *C. stipularia* apresentam os valores mais baixos, com exceção do observado para *C. virgulata* subsp *grantiana*. Entretanto, para os valores de comprimento absoluto do menor par de cromossomos não há diferenças significativas quando comparados com os da maioria das espécies diplóides (Tabela 19). É interessante notar a semelhança entre *C. juncea* e *C. paulina* quanto à posição da constrição secundária no primeiro par de cromossomos (Figura 9 e Tabela 15). A média de comprimento absoluto dos cromossomos (1,82 μ m e 1,95 μ m) e o comprimento do lote haplóide nestas espécies, entre 29.04 e 31.15 μ m, em *C. stipularia* e *C. paulina*, comparados aos da maioria das espécies diplóides (Tabela 14), sugere que durante a evolução das espécies poliplóides deve ter ocorrido redução do conteúdo de DNA.

A correlação negativa entre tamanho dos cromossomos com o aumento do nível de ploidia é uma ocorrência freqüente, já registrada em outros gêneros como *Chrysanthemum*, *Allium* e *Piper* (DOWRICK, 1952; BRAT, 1965;

SAMUEL *et alii*, 1986). Em termos do conteúdo de DNA, esta correlação negativa foi mostrada nos gêneros *Betula*, *Morus*, *Leucanthemum*, *Festuca*, *Mentha*, *Plantago* e *Ranunculus* (GRANT, 1969; ALI-ZADE & ACHUNDOVA, 1970; MARCHI *et alii*, 1983; SEAL, 1983; KUNDU & SHARMA, 1985, BADR *et alii*, 1987; D'OVIDIO & MARCHI, 1990). A diminuição do conteúdo de DNA por genoma é mais acentuada nos níveis de ploidia mais elevados e tem sido apontada como condição necessária à sobrevivência e conseqüente estabelecimento dos poliplóides na natureza. Citologicamente está relacionado ao papel do conteúdo de DNA determinar efeitos nucleotípicos (fenotípicos) produzidos pela massa de DNA, independente da informação genética codificada (SAMUEL *et alii*, 1986). Nos autopoliplóides, a redução de DNA atua como um mecanismo de correção adaptativa, livrando os poliplóides do material genético excedente, representado inclusive pela repetição de genes com funções semelhantes.

Os poliplóides *C. stipularia* e *C. paulina* tal como os diplóides analisados neste trabalho, apresentam apenas um par de cromossomos organizadores de nucléolo. Conseqüentemente, o número destes não corresponde ao nível de ploidia, tal como observado em *Crinum*, *Costus*, *Plantago* (RAINA & KHOSHO, 1971, SHARMA *et alii*, 1984; SUBRAHMANYAN & KHOSHO 1986). O fenômeno está relacionado a anfiplastia tal como denominou NAVASHIM, 1928 (citado por NAVASHIM, 1934), às mudanças morfológicas que ocorrem nos cromossomos após a hibridação interespecífica. Estas modificações são evidentes em cromossomos com constricção secundária, tal como observado em *Crepis* (NAVASHIM, 1934). A anfiplastia verificada nestes cromossomos (anfiplastia diferencial) reflete diferenças na capacidade competitiva entre espécies relacionadas quanto à supressão da função nucleolar a nível transcricional (LACADENA *et alii*, 1984). Tal supressão de organizadores nucleolares não ocorre em autopoliplóides, como relatado por RAINA & KHOSHO (1971), o que concorda com o observado nos

triplóides de *C. incana* neste trabalho, onde o número de cromossomos nucleolares coincide com o nível de ploidia (Figura 10). A ocorrência de anfiplastia em *C. stipularia* e *C. paulina* pode indicar uma origem alopoliplóide. VERMA & RAINA (1983) também admitem que os tetraplóides em *Crotalaria* são alopoliplóides ou alopoliplóides segmentados, tendo em vista as associações cromossômicas observadas na meiose, com completa formação de bivalentes. Entretanto, deve-se ressaltar que pode haver ainda um mecanismo de controle genético determinando o pareamento regular dos cromossomos, tal como se observa no trigo e em outros alopoliplóides já estudados.

Embora bastante semelhante, *C. stipularia* e *C. paulina* apresentam cariótipos distintos (Figura 7 e 9). *C. paulina* apresenta cromossomos levemente maiores, o que resulta em maior comprimento do lote haplóide (31,15 μm), enquanto *C. stipularia* apresenta 29,04 μm . *C. stipularia* tem maior segmento do braço curto separando o centrômero da constricção secundária (Figura 9 e Tabela 15). Estas observações estão em concordância com VERMA & RAINA (1984) quanto ao maior comprimento de lote haplóide em *C. paulina*. Entretanto estes autores encontraram cromossomos com relação de braços alta nos pares de cromossomos 6 e 7 desta espécie e não observaram cromossomos com constricção secundária.

A ocorrência de poliploidia no gênero *Crotalaria* abrange 11% das espécies analisadas citologicamente. Embora as informações taxonômicas para as espécies americanas ainda sejam incompletas, observa-se maior frequência de tetraplóides na seção *Calycinae*. WINDLER (1974) registrou dez espécies tetraplóides na seção *Calycinae*, todas nativas do Novo Mundo. Entretanto, considerou que os dados disponíveis são insuficientes para esclarecer possíveis relações com membros asiáticos desta seção, aos quais POLHILL (1968) tem se referido como

ancestrais das espécies americanas. A maior ocorrência de tetraplóides no Novo Mundo, distante dos centros primários de origem, sugere sua evolução recente no continente americano.

Os estudos cromossômicos das espécies africanas de *Crotalaria* têm repetidamente mencionado que a poliploidia não desempenhou papel importante na evolução do gênero (RAINA & VERMA, 1979; VERMA & RAINA, 1980; VERMA *et alii*, 1984). Entretanto as análises citológicas das espécies americanas sugerem que a poliploidia teve efeito marcante na diversificação do gênero, especialmente na seção *Calycinae*, nos centros secundários de origem.

5.4. O cariótipo das espécies analisadas da seção *Crotalaria*

Entre as espécies analisadas nesta seção, *C. retusa* e *C. spectabilis* são as mais estreitamente relacionadas. Seus cromossomos apresentaram tamanho mediano (2,65 μ m a 1,78 μ m) e cariótipos marcadamente simétricos, com índices de TF% quase idênticos (44,62 e 44,69) e muito próximo dos valores mais altos registrados neste trabalho (Tabela 14). *C. spectabilis* e *C. retusa* assemelharam-se no comprimento absoluto de todos os pares de cromossomos (Tabela 16), resultando em valores quase idênticos de comprimento do lote haplóide, 17,56 μ m e 17,72 μ m, respectivamente. Foram ainda semelhantes na relação de braços dos pares de cromossomos 2, 5 e 7 (Tabela 17, Figuras 8 e 9).

Em *C. retusa*, o primeiro par de cromossomos apresenta a constrição secundária no braço curto, separada do centrômero por um curto segmento, o menor observado entre

todas as espécies analisadas (Tabela 15, Figura 9). *C. spectabilis* tem a constrição secundária no braço longo separada do centrômero por um segmento que representa 34,49% do braço longo. A posição da constrição secundária no braço longo de *C. spectabilis* é uma variação do padrão observado. Por esta razão, foram analisadas várias células em prometáfase, com diferentes graus de condensação dos cromossomos. Estas análises confirmaram a posição da constrição, tal como observado em cromossomos metafásicos.

Diferenças entre *C. retusa* e *C. spectabilis* foram observadas na relação de braços dos pares de cromossomos 3(1,61 e 1,31) e 6(1,47 e 1,30), respectivamente. Ao contrário, no par de cromossomos 4, a relação de braços mais alta é observada em *C. spectabilis* (1,54) do que em *C. retusa* (1,18).

As diferenças morfológicas verificadas nos cariótipos destas espécies sugerem que rearranjos estruturais, tipo inversão pericêntrica, acompanhados de pequenas alterações no conteúdo de DNA nos braços cromossômicos, tenham contribuído para mudar a posição relativa desta constrição secundária do braço curto para o braço longo. Por outro lado a ocorrência de deleções e duplicações, assim como e translocações simples nos pares de cromossomos 3 e 6, em *C. retusa* e do cromossomo 4 em *C. spectabilis*, podem também ter modificado mais acentuadamente a relação de braços destes cromossomos.

As observações citológicas em *C. retusa* estão em concordância com os dados apresentados por GUPTA & GUPTA (1978) quanto ao índice de TF% e relação de braços da maioria dos pares de cromossomos, caracterizados por centrômero em posição mediana. Em *C. spectabilis*, VERMA et alii, (1984) registraram relação de braços alta nos pares de cromossomos 1 (1,73), 2 (1,70) e 6(3,0) e baixa, entre 1,0 e 1,1, nos demais pares, em discordância com os valores

observados no presente trabalho. Os dados sobre o maior par de cromossomos são conflitantes. Em *C. retusa* GUPTA & GUPTA (1978) --e RAINA & VERMA (1979) não observaram constrição secundária, enquanto em *C. spectabilis* esta foi observada no braço curto deste cromossomo.

O cariótipo de *C. virgulata* subsp. *grantiana* apresenta-se marcadamente distinto (Figura 8). Os cromossomos são pequenos, entre 1,81 μ m e 1,10 μ m, conseqüentemente, pequeno comprimento do lote haplóide, 11,10 μ m, o que corresponde aos menores valores observados neste trabalho (Tabelas 14). O cariótipo tende para a assimetria, observada no índice de TF% de 40,83 e na leve descontinuidade de comprimento relativo dos cromossomos, entre o 2º e 3º pares, claramente evidenciada nas medidas de comprimento relativo (Tabela 13). *C. virgulata* subsp. *grantiana* também apresenta cromossomos com valores altos de relação de braços nos pares de cromossomos 1(1,77) e 2(2,23), que correspondem a centrômeros em posição submediana, ao contrário das demais espécies, em que os centrômeros tem posição mediana (Tabela 17).

As análises citológicas já realizadas em *C. virgulata* subsp. *grantiana* (= *C. grantiana*) são confirmadas neste trabalho como um dos menores valores de comprimento do lote haplóide já observado, VERMA *et alii* (1984). Entretanto, estes autores obtiveram relação de braços alta nos três primeiros pares de cromossomos, entre 2,00 e 2,20, e apenas 1,0 nos demais pares de cromossomos, o que não se confirma neste trabalho, com exceção do par de cromossomos 2. A relação de braços 1,0 obtida para os menores pares de cromossomos pode estar relacionada à dificuldade de se efetuar medidas precisas em cromossomos muito pequenos.

A divergência cariotípica observada em *C. virgulata* subsp. *grantiana* confirma a posição que está

espécie ocupa na classificação de POLHILL (1982), após a realização de estudos de taxonomia numérica por BISBY & POLHILL (1973). As três espécies, como membros da seção *Crotalaria*, caracterizam-se pela presença de flores especializadas. *C. retusa* e *C. spectabilis* pertencem à subseção *Crotalaria* e são espécies estreitamente relacionadas do ponto de vista morfológico. Possuem folhas simples, fruto protuso, oblongo-clavado, glabro (Figura 8) e muitas sementes. Assemelham-se na morfologia floral por apresentarem carena com bico retorcido, estandarte glabro e asas amareladas. Diferem na forma das brácteas, subuladas e lanceolada-caudatas. Em *C. retusa* e em *C. spectabilis*, as brácteas são ovada-acuminadas ou cordadas. As estípulas são lineares ou subuladas em *C. retusa*, e oblonga-ovada a oblonga-subulada em *C. spectabilis* (POLHILL, 1982). As semelhanças cromossômicas registradas no presente trabalho contribuem para melhor caracterizá-las como espécies muito próximas.

C. virgulata subsp *grantiana* faz parte da subseção *Longirostres*, que apresenta estilete geniculado e carena dobrada em ângulo reto na metade inferior, ao contrário das espécies da seção *Crotalaria* cujo estilete é curvado e a carena arredondada. É notável nesta espécie o tamanho reduzido das folhas, flores, vagens e sementes.

Os estudos de taxonomia numérica (BISBY & POLHILL, 1973) colocam *C. virgulata* subsp *grantiana* em posição periférica do "core" da subseção *Longirostres* e muito próxima a algumas espécies da seção *Dispermae*, constituindo-se um ponto de ligação entre as duas seções. As características cromossômicas desta espécie reforçam esta posição taxonômica pois, segundo BOULTER *et alii* (1970), as espécies da seção *Dispermae* também têm cromossomos pequenos. Neste aspecto, as análises citológicas fortalecem as

relações estreitas existentes entre a subseção *Longirostes* e a seção *Dispermae*.

Segundo POLHILL (1982), as espécies da seção *Crotalaria* apresentam um acúmulo de características florais especializadas. Na subseção *Longirostes*, esta especialização morfológica é progressivamente maior, aproximando-se da observada nas espécies da seção *Dispermae*, a mais avançada do gênero. Neste trabalho, ficou evidenciado que *C. virgulata* subsp. *grantiana*, subseção *Longirostes*, apresenta os menores cromossomos e um dos menores índices de simetria. Nas análises do conteúdo de DNA das espécies de *Crotalaria* realizadas por GUPTA (1976), observou-se uma tendência para sua redução naquelas mais especializadas. Os dados obtidos no presente trabalho e os disponíveis na literatura (BOULTER *et alii*, 1970), mostram que nas seções mais especializadas, a evolução cariotípica aponta para uma diminuição do tamanho dos cromossomos em consequência, provavelmente, de redução do conteúdo de DNA, assim como menor simetria do cariótipo. Neste contexto, torna-se necessária a continuidade das investigações citológicas em *Crotalaria*, tendo em vista esclarecer um possível direcionamento das alterações dos cromossomos no gênero como um todo.

6. CONCLUSÕES

Os dados obtidos de análises cromossômicas em 11 espécies pertencentes a quatro seções do gênero *Crotalaria*, permitem estabelecer as seguintes conclusões:

1. Entre as espécies, há três constituições cromossômicas distintas, duas diplóides, $2n=16$ e $2n=14$ e uma tetraplóide, $2n=32$, que correspondem ao número básico $x=8$ e seu derivado $n=7$.

2. As espécies não evidenciaram diferenciação de coloração dos cromossomos, através da metodologia de bandamento C, o que sugere a inexistência de blocos de heterocromatina, detectáveis por este procedimento.

3. As espécies apresentam cariótipos distintos, mas que se assemelham dentro de um padrão geral, caracterizado pela presença de uma constricção secundária no primeiro par de cromossomos, predominância de centrômeros em posição mediana e gradação contínua de tamanho dos cromossomos no cariótipo.

4. O primeiro par de cromossomos desempenhou papel importante na diferenciação dos cariótipos. A constricção secundária se localiza no braço curto, em posições variáveis em relação ao centrômero, ou no braço longo, apenas em *C. spectabilis*.

5. O tamanho dos cromossomos nas espécies diplóides, é comparativamente maior que nos tetraplóides;

sugerindo que material cromossômico foi perdido no processo de formação e estabelecimento destes poliplóides.

6. O número de cromossomos com constrição secundária nos tetraplóides não corresponde ao nível de ploidia, o que deve estar relacionado a ocorrência de anfiplastia diferencial envolvida na formação destes tetraplóides. A ocorrência de anfiplastia sugere uma natureza aloploiplóide de *C. paulina* e *C. stipularia*.

7. A poliploidia em duas espécies da seção *Calycinae* - *C. paulina* e *C. stipularia*, é representativa da maior concentração de poliplóides que existe nesta seção, todas nativas do continente americano. A poliploidia parece ter desempenhado papel importante na diversificação do gênero, nos centros secundários de origem.

8. Na seção *Crotalaria* os cromossomos são menores e acentuadamente reduzidos em *C. virgulata* subsp. *grantiana*, que também apresenta cariótipo levemente assimétrico. Existe aqui uma correspondência entre redução do tamanho dos cromossomos/cariótipo levemente assimétrico e maior especialização morfológica. Esta associação pode representar uma direção da mudança cromossômica para redução do tamanho do cromossomo e menor simetria no curso evolutivo, embora estudos envolvendo maior número de espécies sejam necessários para sugerir um direcionamento da mudança cromossômica no gênero como um todo.

9. Diferenças cromossômicas observadas entre as espécies indicam o papel de pequenas alterações estruturais, como adição, deleção e translocação simples de pequenos segmentos cromossômicos e inversão pericêntrica, na modificação e distinção de seus cariótipos.

10. A maior semelhança de cariótipos entre espécies de uma mesma subseção, como observado em *C. retusa* e *C. spectabilis*, grupos dentro de subseções, como em *C. brevidens* e *C. lanceolata*, assim como diferenças marcantes entre espécies de diferentes subseções, como *C. virgulata* subsp. *grantiana*, revela um potencial de utilização de estudos cariomorfológicos contribuindo para melhor caracterização e esclarecimento de relações filogenéticas entre espécies.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

AGUIAR-PERECIN, M. L. R. C - Banding in Maize; I. Band patterns. *Caryologia*, Pisa, 38:23-30, 1985.

AHMAD, F. The Chromosomal architecture of *Cicer anatolicum* Alef., a wild perennial relative of chickpea *Cytologia*, Tokyo, 54: 753-7, 1989.

ALI-ZADE, M. A. & ACHUNDOVA, E. M. The variations of the DNA content in the cell and chromosome of polyploid forms of mulberry (*Morus* L). *Caryologia*, Pisa, 23:315-20, 1970.

AL-KEĻIDAR, R. & RICHARDS, A. J. Chromosomal indications of evolutionary trends in the genus *Delphinium* L *Cytologia*, Tokyo, 46:623-33, 1981.

ANGELY, J. *Flora analítica do Paraná*. São Paulo, Phytton, 1965. 728p.

ARANHA, C.; BACCHI, O.; LEITAO FILHO, H. F. *Plantas invasoras de culturas*. São Paulo, Hucitec; Ministério da Agricultura, Agiplan, Banco Interamericano de Desenvolvimento, 1972. Vol 2. 597p.

ARMSTRONG, S. A. & FORD-LLOYD, B. V. Contrasting nucleolar activity in callus of beet and garlic as visualised by a new silver staining technique. *Cytologia*, Tokyo, 54:553-8, 1989.

- ATCHINSON, E. Studies in the leguminosae. V. Cytological observations on *Crotalaria*. Journal of the *Elisha Mitchell Science Society*, Chapel Hill, 66:70-5, 1950.
- AZZINI, A.; SALGADO, A.L.B.; TEIXEIRA, J.P.F. Curva de maturação de *Crotalaria juncea* L. *Bragantia*, Campinas, 40:1-10, 1981.
- BADR, A.; HAMOUD, M. A.; ELKINGTON, T. T. Citology and taxonomic relationship of some taxa in the genus *Silene* L. *Cytologia*, Tokyo, 52:63-8, 1987.
- BADR, A.; LABANI, R.; ELKINGTON, T. T. Nuclear DNA variation in relation to cytological features of some species in the genus *Plantago* L. *Cytologia*, Tokyo, 52:733-7, 1987.
- BAIRIGANJAN, G. C.; & PATNAIK, S. N. Chromosomal evolution in *Fabaceae*. *Cytologia*, Tokyo, 54:51-64, 1989.
- BANDEL, G. Chromosome numbers and evolution in the Leguminosae. *Caryologia*, Pisa, 27:17-32, 1974.
- BENNET, M.D.; GUSTAFSON, J. P.; SMITH, J. B. Variation in nuclear DNA, in the genus *Secale*. *Chromosoma*, Berlin, 61:149-76, 1977.
- BENTHAM, G. *Papilionaceae*. In: MARTIUS, K. F. P. von. ed. *Flora brasiliensis; enumeratio plantarum in Brasilia hactenus detectarum quas suis alirunque botanicorum...* 1859 Lelvre: Von J. Cramer, 1965-1967. 15v, v.15 p. 17-33.

- BENTHAM, G.; & HOOKER, J. D. *Genera Plantarum*. Londini, Lovell Reeve & Company, 1865. v. 1 pars. II. p479.
- BIR, S. S. & KUMARI, S. Evolutionary status of Leguminosae from Panchmarhi Central, India. *The Nucleus, Calcutta*, 20:94-8, 1977.
- BISBY, F. A. The evaluation and selection of characters in Angiosperm taxonomy: an example from *Crotalaria*. *New Phytologist*, London, 69:1149-60, 1970.
- BISBY, F. A. The role of taximetrics in Angiosperm taxonomy I. Empirical comparasions of methods using *Crotalaria* L. *New Phytologist*, London, 72:699-726, 1973.
- BISBY, F. A.; & POLHILL, R. M. The role of taximetrics in Angiosperm taxonomy, II. Parallel taximetric and orthodox studies in *Crotalaria* L. *New Phytologist*, London, 72:727-42, 1973.
- BOULTER, D.; DERBYSHIRE, E.; FRAHM-LELIVELD, J. A.; *et alii*; Observations on the cytology and seed proteins of various African species of *Crotalaria* L. (Leguminosae). *New Phytologist*, London, 69:117-31, 1970.
- BRAGA, R. *Plantas do Nordeste, especialmente do Ceará*. Fortaleza, Adventicia, 1960. 540p.
- BRAT, S. V. Genetics systems in *Allium* I. Chromosome variation. *Chromosoma*, Berlin, 16: 486-99, 1965.

BRUYNIS, P. V. & VOSA, C. G. Taxonomic and citological notes on *Bowiea* Hook and allied genera (Liliaceae). *Caryologia*, Pisa, 40:287-97, 1987.

BULISANI, E.A.; BRAGA, N. R.; MIRANDA, M. A. C. et alii. Épocas e espaçamento de sementeira em *Crotalaria juncea* L. *Bragantia*, Campinas, 39:237-40, 1980.

CAI, Q.; LU, S.; CHINNAPPA, C. C. Analysis of Karyotypes and Giemsa C-banding patterns in eight species of *Arachis*. *Genome*, Ottawa, 29:187-94, 1987.

CHENNAVEERAIAH, M. S. & PATIL, B. C. Chromosome number and karyotype study in eight species of *Crotalaria*. *Cytologia*, Tokyo, 38:73-9, 1973.

D'AMATO, G. & BIANCHI, G. Heterochromatin and Ag.NOR staining in some species of *Helleborus* (Ranunculaceae). *Caryologia*, Pisa, 42:19-26, 1989.

DARLINGTON, C.D. & WYLIE, A.P. *Chromosome atlas of flowering plants*. London, George Allen & Unwin Ltd., 2. ed. 1955. 519 p.

DATTA, R.M. & BISWAS, P. K. Meiotic studies and chiasma frequencies in some *Crotalaria* species. *Portuguese Acta Biológica*, Lisboa, 6:253-69, 1962.

DATTA, R. M & BISWAS, P. K. Karyotypic study in the genus *Crotalaria*. II. *Caryologia*, Pisa, 16:701-5, 1963.

- DATTA, R. M. & BAGCHI, S. Biosystematic studies of a few taxa of the genus *Crotalaria* through their pollen grains. *Castanea*, Morgantown, 34:66-70, 1969.
- DATTA, R. M. & CHOUDHURY, P.C. Karyotype in *Crotalaria*. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, New York, 93:241-3, 1966.
- DATTA, R. M. & GANGULY, P. K. Karyotypic study in the genus *Crotalaria* - I. *Broteria*, Lisboa, 16:39-46, 1967.
- DATTA, R. M. & GHOSHAL, K. K. Karyotypic study in the genus *Crotalaria* III. *Zeitschrift fur Pflanzenzuchtung*, Berlin, 61:58-62, 1969.
- D'OVIDIO, R. & MARCHI, P. DNA content, karyotype structure analysis and karyotype symmetry in *Ranunculus* L. (*Ranunculaceae*). Italian species belonging to sections *Flammula* (Webb) Benson and *Micranthus* (Ovcz) Nyarady. *Caryologia*, Pisa, 43:99-115, 1990.
- DOWRICK, G. J. The chromosomes of *Chrysanthemum* I: The species. *Heredity*, Washington, 6:365-75, 1952.
- DREWRY, A. The G-banded karyotype of *Pinus resinosa* Ait. *Silvae Genetica*, Frankfurt, 37:218-21, 1988.
- DUCKE, A. *As leguminosas da Amazônia brasileira*. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura, Serviço de Publicidades Agrícolas, 1939. 70p.
- DUKE, J. A. *Handbook of legumes of world economic importance*. New York, Plenum Press, 1983, 345p.

FALISTOCCO, E.; PICCIRILLI, M.; FALCINELLI, M. Cytotaxonomy of *Trifolium subterraneum* L. *Caryologia*, Pisa, 40:123-30, 1987.

FLAVELL, R.; JONES, J.; LONSDALE, D. et alii. Higher plant genome structure and the dynamics of genome evolution. In: DOWNEY, K.; VOELLMY, R. W.; AHMAD, F. et alii ed. *Advance in gene technology: molecular genetics of plants and animals*. New York, Academic Press, 1983, p.43-59.

FORNI-MARTINS, E. R. & CRUZ, N. D. Estudos citotaxonômicos no complexo *Phaseolus - Vigna - Macroptilium* (Leguminosae - Papilionoideae). In: AGUIAR-PERECIN, M. L. R.; MARTINS, P. S.; BANDEL, G., ed. *Tópicos de citogenética e evolução de plantas*. Ribeirão Preto (SP), Sociedade Brasileira de Genética, 1985. p.155-172.

GOLDBLAT, P. *Index to plant chromosome numbers 1975-1978*. Monographs in systematic Botany from the Missouri Botanical Garden. v. 5. Saint Louis, Missouri Botanical Garden, 1981.

GOLDBLAT, P. Cytology and the Phylogeny of Leguminosae. In: POLHILL, R. M. & RAVEN, P. H. ed. *Advance in Legume Systematics*. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981. pt 1, p.427-63

GOLDBLAT, P. *Index to plant chromosome numbers 1979-1981*. Monographs in systematic Botany from the Missouri Botanical Garden. v. 8. Saint Louis, Missouri Botanical Garden, 1984. 427p.

- GRANT, E. F. Decreased DNA content of birch (*Betula*) chromosomes at higher ploidy as determined by cytophotometry. *Chromosoma*, Berlin, 26:326-336, 1969.
- GREILHUBER, J. Why plant chromosomes do not show G-bands? *Theoretical and Applied Genetics*, Berlin, 50:121-4. 1977.
- GREILHUBER, J. Chromosomal evidence in taxonomy. In: HEYWOOD, V. H. & MOORE, D.M. *Current concepts in plant taxonomy*, London, Academic Press, 1984. p.157-80.
- GUERRA, M. S. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco. I. *Revista Brasileira de Genética*, Ribeirão Preto (SP), 9:21-40, 1986
- GUPTA, P. K. Nuclear DNA, nuclear area and nuclear dry mass in thirteen species of *Crotalaria* (Angiospermae, Leguminosae). *Chromosoma*, Berlin, 54:155-64, 1976.
- GUPTA, R. & GUPTA, P. K. B-chromosomes in five species of *Crotalaria* L. *Cytologia*, Tokyo, 42:581-5, 1977.
- GUPTA, R. & GUPTA, P. K. Karyotypic studies in the genus *Crotalaria* Linn. *Cytologia*, Tokyo, 43:357-69, 1978.
- HARLEY, R. M. & MAYO, S. J. *Toward a checklist of the flora of Bahia*. Kew, Royal Botanic Gardens, 1980. 250p
- HOEHNE, F.C. *Plantas e substâncias vegetais tóxicas e Medicinais*. São Paulo, Graphicars, 1939, 355p.
- HUTCHINSON, J. *The genera of flowering plants*. Oxford, Oxford at the Clarendon Press, 1964. v.1, 516p.

- HUZIWARA, Y. Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosome of *Aster*. *American Journal of Botany*, New York, 49:116-9, 1962.
- KEMPANA, C. Chromosome numbers of some *Crotalaria* species. *Science and Culture*, Bangalore, 25:644, 1960.
- KLEIN, R. M. Ecologia da flora e vegetação do vale de Itajaí. *Anais Botânicos do Herbário "Barbosa Rodrigues"*, Itajaí, 31:164, 1979.
- KUNDU, A. K. & SHARMA, A. K. Chromosome characteristics and DNA content in *Mentha* Linn. *The Nucleus*, Calcutta, 28:89-96, 1985.
- LACADENA, J. R.; CERMENO, M. C.; ORELLANA, J. et alii. Evidence for wheat-rye nucleolar competition (amphiplasty) in triticales by silver-staining procedure. *Theoretical and Applied Genetic*, Berlin, 67:207-213, 1984.
- LAM, R. Giemsa C-banding and silver-staining for cytological studies in *Pisum*. *Hereditas*, Lund, 94:53-9, 1981.
- LEVAN, A.; FREDGA, K.; SANDBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas*, Lund, 52:201-20, 1964.
- LEWIS, G. P. *Legumes of Bahia* Kew, Royal Botanic Gardens. 1987. 369p.

LORENZI, H. *Plantas daninhas do Brasil - terrestres, aquáticas, parasitas, tóxicas e medicinais*. Nova Odessa, (SP). H. Lorenzi, 1982. 868p.

LORINDA, K.; ANDERSON, L. K.; MITCHEL, J. B. An investigation on the basis of a current hypothesis for the lack of G-banding in plant chromosomes. *Experimental Cell Research*, New York, 138:433-6, 1982.

LOVE, A. *IOPB chromosome number reports*. Taxon, Utrecht, 19:103-13, 1970.

LOVE, A. *IOPB chromosome number reports*. Taxon, Utrecht, 22:459-65, 1973.

LOVE, A. *IBOP chromosome number reports*. Taxon, Utrecht, 24:501-17, 1975.

MAGDOOM, M. L.; KOPAR, M. N.; RAMANNA, M. S. *et alii*. Cytomorphological studies in the genus *Crotalaria*. *La Cellule*, Louvain, 63:375-96, 1963.

MANGROTA, R. B. & KOUL, A. K. Chromosome number in *Crotalaria ferruginea* Grah ex Benth. *Science and Culture*, Bangalore, 45:252-3, 1979.

MARCHI, P.; ILUMINATI, O.; MACIOCE, A.; *et alii*. Genome evolution and polyploidy in *Leucanthemum vulgare* Lam. Aggr. (Compositae). Karyotype analysis and DNA microdensitometry. *Caryologia*, Pisa, 36:1-18, 1983.

- MATHEW, G. & NINAM, C. A. Karyomorphological studies on five varieties of *Clitoria ternatea* L. *Cytologia*, Tokyo, 54:401-7, 1989.
- MEHRA, P.N. & CHODA, S.P. Cytotaxonomical studies in the genus *Euphorbia* L. *Cytologia*, Tokyo, 43:217-35, 1978.
- MELHEM, T. S. Pollen grains of plants of the "Cerrado". XVIII. *Leguminosae* - *Lotoideae*: Tribe *Genisteae*. *Anuário da Academia Brasileira de Ciência*, Rio de Janeiro, 38:497-503, 1966.
- MOORE, R. J. Index to plant chromosomes numbers for 1967/71. *Regnum Vegetabile*, 90:1-539, 1973.
- MOORE, R. J. Index to plant chromosomes numbers for 1973/74. *Regnum Vegetabile*, 96:1-257, 1977.
- MORI, S. A. & BOOM, B. M. Final report to the world wildlife fundus on the Botanical survey of the endangered moist forest of eastern Brasil. New York, The New York Botanical Gardens, 1981. 109p.
- NARAYAN, R. K. J. Chromosome changes in the evolution of *Lathyrus* species. In: BRANDHAM, P. E. & BENNET, M. D., ed. *Kew chromosome conference II*. London, Allen & Unwin, 1983. p.243-50.
- NAVASHIN, M. Chromosome alteration caused by hybridization and their bearing upon certain general genetic problems. *Cytologia*, Tokyo, 5:169-203, 1934.

- PAK, J. H. & KAWANO, S. Biosystematic studies on the genus *Ixeris*. (Compositae - Lactuceae) II. Karyological analysis. *Cytologia*, Tokyo, 55:553-70, 1990.
- PATIL, B. C. & CHENNAVEERAI AH, M. S. Cytological studies in *Crotalaria incana* L and *C. mucronata* Desv. *The Nucleus*, Calcutta, 18:141-6, 1975.
- PILBEAM, D. J. & BELL, A. Free amino acids in *Crotalaria* seeds. *Phytochemistry*, Oxford, 18:973-85, 1979.
- PILBEAM, D. J.; POLHILL, R. M.; BELL, E. A. Free amino acids and alkaloids of South American, Asian and Australian *Crotalaria* species. *The Linnean Society of London*, London, 79:259-66, 1979.
- PIO CORREA, M. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura. Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal, 1984. 747-p.
- POLHILL, R. M. Miscellaneous notes on African species of *Crotalaria* L. II. *Kew Bulletin*, London 22:169-348, 1968.
- POLHILL, R. M. *Crotalarieae*. In: POLHILL, R. M. & RAVEN, P. H. eds. *Advances in Legume Systematic*. Kew, Royal Botanic Gardens, 1981. pt 1, p. 399-402.
- POLHILL, R. M. *Crotalaria in Africa and Madagascar*. Rotterdam Balkeama, 1982, 389p.
- RAINA, S. N. Chromosome evolution in certain plant genera. *The Nucleus*, Calcutta, 20:237. 1977.

- RAINA, S. N. & KHOSHOO, T. N. Cytogenetics of tropical bulbous ornamentals II: variation in mitotic complement in *Crinum*. *The Nucleus*, Calcutta, 14:23-39, 1971.
- RAINA, S. N. & VERMA, R. C. Cytogenetics of *Crotalaria* I. Mitotic complements in twenty species of *Crotalaria* L. *Cytologia*, Tokyo, 44:365-75, 1979.
- ROY, R. P. & SINHA, R. B. Meiotic studies in *Crotalaria sericea* Retz. and the basic number in the genus *Crotalaria*. *Current Science*, Calcutta, 6:253, 1959.
- ROY, R. P. & MISHRA, U. First reports of chromosome numbers of a few species of Papilionaceae. *Current Science*, Calcutta, 48:168-9, 1979.
- SAMMUEL, R.; SMITH, J. B.; BENNET, M. D. Nuclear DNA variation in *Piper* (Piperaceae). *Canadian Journal Genetics and Cytology*. Ottawa, 28:1041-3, 1986.
- SANJAPA, M. & BHATT, R. P. Karyomorphological observations in some species of *Desmodium* Desv. (Fabaceae - Papilionoideae). *Cytologia*, Tokyo, 50:487-97, 1985.
- SCHUBERT, M.; ANASTASSOVA-KRISTEVA, M. *et alii*. Specificity of NOR staining in *Vicia faba*. *Experimental Cell Research*, New York, 120:433-5, 1979.
- SEAL, A. G. DNA variation in *Festuca*. *Heredity*, Essex, 50:225-36, 1983.

- SEN, H. A. Chromosome number relationship in the Leguminosae. *Bibliographia Genetica*, S. Gravenhage, 12:175-336, 1938.
- SHARMA, P. K.; KOUL, A. K.; LANGER, A. Genetic diversity among *Plantagos*. II. Karyotype of *Plantago lanceolata* L. with special emphasis on nucleolar chromosomes. *Cytologia*, Tokyo, 49:551-7, 1984.
- SINHA, S. S. N. & KUMAR, P. Mitotic analysis in thirteen varieties of *Cajanus cajan* (L) Mill sp. *Cytologia*, Tokyo, 44 :571-80, 1979.
- SOARES, M. G. M. & SOUZA, H. M. F. Crotalarías da Bahia. *Boletim do Instituto Biológico da Bahia*, Salvador, 15:93-109, 1976.
- SOARES, M. M. M.; GUERRA, M. S.; GALLINDO, F. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco. *Ciência e Cultura*, São Paulo, 40:780-6, 1988.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, F. J. *Biometry; the principles and practice of statistics in biological research*. San Francisco, W.F. Freeman and Company, 1969. 776p.
- STEBBINS, G. L. *Chromosomal evolution in higher plants*. London, Edward Arnold Publishers, 1971. 215p.
- SUBRAHMANYAN, G. V. & KHOSHO, T. N. Cytological studies in the genus *Costus* L. *Cytologia*, Tokyo, 51:737-48, 1986.
- TURNER, B. L. & FEARING, O.S. Chromosome numbers in the Leguminosae II. African species including phyletic

- interpretations. *American Journal of Botany*, New York, 46:49-57, 1959.
- UPHOF, J. C. Dictionary of economics plants. New York, Verlag von J. Cramer, 1968, 591p.
- VERMA, R. C.; KESAVACHARYULU, K.; RAINA, S.N. Cytogenetics of *Crotalaria*. IX. Mitotic complements in 19 species. *Cytologia*, Tokyo, 49:157-69, 1984.
- VERMA, R.C. & RAINA, S.N. Cytogenetics of *Crotalaria* II. Male meiosis in 8 species of *Crotalaria*. *Cytologia*, Tokyo, 45:297-306, 1980.
- VERMA, R. C. & RAINA, S.N. Cytogenetics of *Crotalaria*. VIII. Male meiosis in 26 species. *Cytologia*, Tokyo, 48:719-733, 1983.
- VIEIRA, M. L. C. Estudo citotaxonômico de espécies brasileiras do gênero *Stylosanthes* Sw. Piracicaba, 1988. 135p. (Doutorado - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP).
- VOSA, C. G. Plant chromosome banding and citotaxonomy. In: AGUIAR-PERECIN, M. L. R.; MARTINS, P.S.; BANDEL, G. ed. *Tópicos de citogenética e evolução de plantas*. Ribeirão Preto (SP), Sociedade Brasileira de Genética, 1985. p.17-26.
- VOSA, C.G. Chromosome banding: plants. *Génome*, Ottawa, 31:474-5, 1989. (Supl).

VOSA, C. G. & BENNET, S. T. Chromosomes studies in the Southern African flora. Chromosome evolution in the genus *Gasteria* Duval. *Caryologia*, Pisa, 43:235-47. 1990.

WANG, H.C. & KAO, K. N. G-banding in plant chromosomes. *Genome*. Ottawa, 30:48-51, 1988.

WINDLER, D. Chromosome numbers for native North American unifoliolate species of *Crotalaria* (Leguminosae). *Brittonia*, New York. 26:172-176, 1974.

WINDLER, D. R. & SKINER, S. G. New taxa and new combinations in the american crotalaris (Fabaceae). *Phytologia*, New York, 570:185-206, 1982.

.

APÊNDICES

Apêndice 1. Medidas Cromossômicas

ESPÉCIE: *C. incana* FAMÍLIA: *Leguminosae* No. DA LÂMINA/PONTO: 7.1

FILME: 23/05/90

FOTO No.: 2

ESCALA: 14:5

	1		2		3		4		5		6		7	
Cromossomos (pares)	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
Satélite ou constri. 2a. X	(2,0)	(2,0)												
Braço curto (c)	15,0	4,5	4,2	4,4	3,2	3,5	3,0	2,8	2,3	2,0	2,5	2,3	2,5	2,5
X	4,75		4,30		3,35		2,90		2,15		2,40		2,50	
Braço longo (l)	16,0	5,3	6,0	5,6	5,0	4,9	5,0	5,0	4,0	4,0	3,7	3,4	3,0	3,5
X	5,65		5,80		4,95		5,0		4,0		3,55		3,25	
Total (t)	11,0	9,8	10,2	10,0	8,2	8,4	8,0	7,8	6,3	6,0	6,2	5,7	5,5	6,0
X	10,40		10,10		8,3		7,90		6,15		5,95		5,75	
Relação de braço	1,20	1,18	1,43	1,27	1,56	1,40	1,67	1,79	1,74	2,0	1,48	1,48	1,20	1,40
X	1,19		1,35		1,48		1,73		1,87		1,48		1,30	
Comp. absoluto	3,71		3,61		2,96		2,82		2,20		2,13		2,05	
Comp. relativo	19,05		18,53		15,20		14,48		11,29		10,93		10,52	
TF %	41,90													
CLH	19,48													

TF% = simetria do cariótipo

CLH = comprimento do lote haploide (um)

Apêndice 2. Medidas cromossômicas de *C. incana*: comprimento absoluto (μ m)/relação de braço e comprimento relativo linha inferior de cada par de cromossomos de 10 metáfases analisadas.

Metáfase	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Cromos.										
1	3,71/1,17 19,86	3,59/1,21 18,81	3,64/1,17 18,48	3,93/1,10 20,76	3,30/1,26 17,79	3,71/1,19 19,05	3,39/1,11 18,13	3,59/1,23 18,39	4,19/1,14 19,49	3,48/1,10 19,00
2	3,13/1,19 16,76	3,39/1,38 17,76	3,41/1,23 17,31	3,30/1,32 17,43	3,16/1,28 17,04	3,61/1,35 18,53	3,25/1,20 17,38	3,14/1,20 16,09	3,54/1,25 16,47	3,43/1,26 18,72
3	2,64/1,29 14,13	2,66/1,45 13,93	3,04/1,43 15,43	2,63/1,49 13,89	2,77/1,38 14,93	2,96/1,48 15,20	2,84/1,34 15,19	2,96/1,34 15,16	3,02/1,35 14,05	2,39/1,42 14,14
4	2,48/1,58 13,28	2,52/1,53 13,20	2,59/1,42 13,15	2,43/1,43 12,84	2,57/1,40 13,85	2,82/1,73 14,48	2,38/1,61 12,73	2,59/1,42 13,27	2,93/1,65 13,63	2,39/1,48 12,05
5	2,38/1,78 12,74	2,39/1,68 12,52	2,46/1,76 12,49	2,37/1,79 12,63	2,38/1,93 12,63	2,20/1,87 11,29	2,34/1,52 12,51	2,32/1,74 12,81	2,71/1,68 12,60	2,23/1,72 12,17
6	2,27/1,44 12,15	2,36/1,64 12,36	2,30/1,69 11,68	2,18/1,44 11,52	2,23/1,41 11,02	2,13/1,48 10,93	2,32/1,60 12,41	2,43/1,25 12,55	2,61/1,44 12,14	2,20/1,37 12,01
7	2,07/1,42 11,08	2,18/1,39 11,42	2,26/1,32 11,47	2,07/1,42 10,94	2,14/1,40 11,54	2,05/1,30 10,52	2,18/1,39 11,66	2,29/1,29 11,73	2,50/1,33 11,63	2,00/1,38 10,92
CLH	18,68	19,09	19,70	18,93	18,55	19,48	18,70	19,52	21,50	18,32
TFI	42,35	41,07	42,08	41,77	41,58	40,82	42,41	42,87	41,94	42,15

CLH = Comprimento do lote haploide

TFI = índice de simetria

Apêndice 3. Análise de variância do comprimento absoluto dos cromossomos das espécies diplóides de *Crotalaria*; *C. pallida*; *C. lanceolata*; *C. brevidens*; *C. retusa*; *C. spectabilis*; *C. virgulata* subsp *grantiana*; *C. juncea*; *C. incana*; *C. holosericea*.

Cromos- somo	F. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Razão F	Prob F
01	Entre as espécies	8	21.2545	2.6568	45.4956	.00005
	Dentro de espécies	81	4.7302	.0584		
	Total	89	25.9846			
02	Entre as espécies	8	15.3800	1.9225	64.8690	.00005
	Dentro de espécies	81	6.2617	.0773		
	Total	89	21.6417			
03	Entre as espécies	8	15.5774	1.9472	33.2284	.00005
	Dentro de espécies	81	4.7466	.0586		
	Total	89	20.3240			
04	Entre as espécies	8	13.6547	1.7068	30.9864	.00005
	Dentro de espécies	81	4.4617	.0551		
	Total	89	18.1164			
05	Entre as espécies	8	10.7737	1.3467	33.1593	.00005
	Dentro de espécies	81	3.2897	.0406		
	Total	89	14.0634			
06	Entre as espécies	8	8.1518	1.0190	30.6560	.00005
	Dentro de espécies	81	2.6924	.0332		
	Total	89	10.8442			
07	Entre as espécies	8	7.2505	.9063	28.5763	.00005
	Dentro de espécies	81	2.5690	.0317		
	Total	89	9.8195			
08	Entre as espécies	7	5.6040	.8006	22.9065	.00005
	Dentro de espécies	72	2.5164	.0349		
	Total	79	8.1204			

Apêndice 4. Análise de variância da relação de braços dos cromossomos das espécies diploides. *C. pallida*, *C. lanceolata*, *C. brevidens*, *C. retusa*, *C. spectabilis*, *C. virgulata*, ssp. *grantiana*, *C. paulina*, *C. juncea*, *C. incana* e *C. holosericea*.

Cromosomo	F.V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Razão F	Razão F
01	Entre as espécies	8	3.1371	.3921	41.9056	.00005
	Dentro de espécies	81	.7580	.0094		
	Total	89	3.8951			
02	Entre as espécies	8	2.5022	.3128	30.6392	.00005
	Dentro de espécies	81	.8269	.0102		
	Total	89	3.3291			
03	Entre as espécies	8	.9112	.1139	26.8355	.00005
	Dentro de espécies	81	.3438	.0042		
	Total	89	1.2550			
04	Entre as espécies	8	1.3214	1.652	39.7573	.00005
	Dentro de espécies	81	.3365	.042		
	Total	89	1.6579			
05	Entre as espécies	8	2.0289	.2536	30.6089	.00005
	Dentro de espécies	81	.6711	.0083		
	Total	89	2.7001			
06	Entre as espécies	8	.7360	.0920	3.8732	.0007
	Dentro de espécies	81	1.9241	.0238		
	Total	89	2.6602			
07	Entre as espécies	8	1.0941	.1368	15.7438	.00005
	Dentro de espécies	81	.0087	.0087		
	Total	89				
08	Entre as espécies	7	1.4102	.2015	23.1420	.00005
	Dentro de espécies	72	.6268	.0087		
	Total	79	2.0369			

Apêndice 5. Análise de variância do comprimento absoluto dos pares de cromossomos de *C. paulina* e *C. stipularia*.

Cromosomo	F. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Razão F	Prob F
01	Entre as espécies	1	.1980	.1980	6.9861	.0165
	Dentro de espécies	18	.5102	.0283		
	Total	19	.7082			
02	Entre as espécies	1	.1479	.1479	4.8676	.0406
	Dentro de espécies	18	.5470	.0304		
	Total	19	.6949			
03	Entre as espécies	1	.0684	.0684	2.2575	.1503 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.5457	.0303		
	Total	19	.6142			
04	Entre as espécies	1	.0966	.0966	3.6806	.0711 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.4724	.0262		
	Total	19	.5691			
05	Entre as espécies	1	.1411	.1411	5.7194	.0280
	Dentro de espécies	18	.4446	.0247		
	Total	19	.5857			
06	Entre as espécies	1	.0952	.0952	4.5781	.0463
	Dentro de espécies	18	.3744	.0208		
	Total	19	.4696			
07	Entre as espécies	1	.1008	.1008	5.2632	.0340
	Dentro de espécies	18	.3448	.0192		
	Total	19	.4456			
08	Entre as espécies	1	.0994	.0994	5.5698	.0298
	Dentro de espécies	18	.3213	.0178		
	Total	19	.4207			
09	Entre as espécies	1	.0696	.0696	3.7252	.0695 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.3364	.0187		
	Total	19	.4060			
10	Entre as espécies	1	.0720	.0720	4.8663	.0406
	Dentro de espécies	18	.2663	.0148		
	Total	19	.3383			
11	Entre as espécies	1	.0966	.0966	6.1469	.0233
	Dentro de espécies	18	.2829	.0157		
	Total	19	.3795			

Apêndice 5 (Continuação)

12	Entre as espécies	1	.0684	.0684	4.6524	.0448
	Dentro de espécies	18	.2648	.0147		
	Total	19	.3333			
13	Entre as espécies	1	.0938	.0938	6.7425	.0182
	Dentro de espécies	18	.2505	.0139		
	Total	19	.3444			
14	Entre as espécies	1	.1125	.1125	7.2581	.0148
	Dentro de espécies	18	.2790	.0155		
	Total	19	.3915			
15	Entre as espécies	1	.0423	.0423	2.6975	.1179 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.2824	.0157		
	Total	19	.3247			
16	Entre as espécies	1	.0106	.0106	.7069	.4115 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.2694	.0150		
	Total	19	.2800			

Apêndice 6. Análise de variância da relação de braços dos cromossomos de: *C. paulina*, *C. stipularia*.

Cromosomo	F. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Razão F	Prob F
01	Entre as espécies	1	.1980	.0198	.6837	.4191 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.5225	.0290		
	Total	19	.5423			
02	Entre as espécies	1	.0266	.0266	2.0373	.1706 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.2354	.0131		
	Total	19	.2621			
03	Entre as espécies	1	.0898	.0898	10.3925	.0047
	Dentro de espécies	18	.1555	.0086		
	Total	19	.2453			
04	Entre as espécies	1	.0650	.0650	5.6713	.0285
	Dentro de espécies	18	.2062	.0115		
	Total	19	.2712			
05	Entre as espécies	1	.0072	.0072	.4700	.5017 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.2765	.0154		
	Total	19	.2837			
06	Entre as espécies	1	.0281	.0281	2.3528	.1424 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.2152	.0120		
	Total	19	.2433			
07	Entre as espécies	1	.0572	.0572	1.8102	.1952 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.5692	.0316		
	Total	19	.6265			
08	Entre as espécies	1	.1824	.1824	6.3047	.0218
	Dentro de espécies	18	.5208	.0289		
	Total	19	.7032			
09	Entre as espécies	1	.0085	.0085	.9503	.3426 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.1619	.0090		
	Total	19	.1705			
10	Entre as espécies	1	.0178	.0178	.6426	.4332 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.4985	.0277		
	Total	19	.5163			
11	Entre as espécies	1	.0427	.0427	1.5913	.2232 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.4834	.0269		
	Total	19	.5261			
12	Entre as espécies	1	.0571	.0571	3.9842	.0613 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.2581	.0143		
	Total	19	.3152			

Apêndice 6 (Continuação)

13	Entre as espécies	1	.0361	.0361	1.9715	.1773 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.3298	.0183		
	Total	19	.3659			
14	Entre as espécies	1	.1644	.1644	20.1048	.0003
	Dentro de espécies	18	.1472	.0082		
	Total	19	.3116			
15	Entre as espécies	1	.0301	.0301	1.4651	.2418 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.3697	.0205		
	Total	19	.3998			
16	Entre as espécies	1	.0620	.0620	3.8200	.0664 ^{ns}
	Dentro de espécies	18	.2920	.0162		
	Total	19	.3540			

Apêndice 7. Análise de variância do comprimento do lote haplóide das espécies diplóides de: *C. pallida*, *C. lanceolata*, *C. brevidens*, *C. retusa*, *C. spectabilis*, *C. virgulata* ssp. *grantiana*, *C. juncea*, *C. incana*, *C. holosericea* e poliplóides: *C. paulina*; *C. stipularia*.

Espécie	F. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Razão F	Prob F
Diplóides	Entre as espécies	8	618.9491	77.3686	30.3843	.00005
	Dentro de espécies	81	206.2532	5.2463		
	Total	89	825.2022			
Poliplói- des	Entre as espécies	1	26.8193	26.8193	7.0731	.01605
	Dentro de espécies	18	68.2514	3.7917		
	Total	19	95.0707			

Apêndice 8. Análise de variância do comprimento absoluto e da relação de braços do maior par de cromossomos de *C. pallida*, *C. lanceolata*, *C. brevidens*, *C. retusa*, *C. spectabilis*, *C. virgulata* subsp. *grantiana*, *C. juncea*, *C. incana*, *C. holosericea*, *C. paulina*; *C. stipularia*.

Maior par Cromossomo	F. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Razão F	Prob F
Comprimen- to absolu- to	Entre as espécies	10	3.1835	.3183	36.3234	.00005
	Dentro de espécies	99	.8677	.0088		
	Total	109	4.0511			
Relação de braços	Entre as espécies	10	24.8172	2.4817	44.6682	.005
	Dentro de espécies	99	5.5003	.0556		
	Total	109	30.3175			

Apêndice 9. Análise de variância do comprimento absoluto e da relação de braços do menor par de cromossomos de *C. pallida*, *C. lanceolata*, *C. brevidens*, *C. retusa*, *C. spectabilis*, *C. virgulata* subsp. *grantiana*, *C. juncea*, *C. incana*, *C. holosericea*, *C. paulina*; *C. stipularia*.

Menor par Cromossomo	F. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Razão F	Prob F
Comprimen- to absolu- to	Entre as espécies	10	8.7564	.8756	28.5891	.00005
	Dentro de espécies	99	3.0322	.0306		
	Total	109	11.7886			
Relação de braços	Entre as espécies	10	2.5679	.2568	22.5177	.00005
	Dentro de espécies	99	1.1290	.0114		
	Total	109	3.6969			

Apêndice 10. Análise de variância do índice de simetria do cariótipo (TF%) de *C. pallida*, *C. lanceolata*, *C. brevidens*, *C. retusa*, *C. spectabilis*, *C. virgulata* subsp. *grantiana*, *C. juncea*, *C. incana*, *C. holosericea*, *C. paulina*; *C. stipularia*.

F. V.	G.L.	S.Q.	Q.M.	Razão F	Prob F
Entre as espécies	10	.0450	.0045	103.6848	.01
Dentro de espécies	99	.0043	.0000		
Total	109	.0493			