ESTUDOS CITOGENÉTICOS DO BABAÇU

(Orbignya spp.)

MARCOS DAVID FIGUEIREDO DE CARVALHO
Engenheiro Agrônomo

Orientador: Prof. Dr. GERHARD BANDEL

Dissertação apresentada à Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Agronomia. Área de Concentração: Genética e Melhoramento de Plantas.

PIRACICABA
Estado de São Paulo - Brasil
Outubro - 1986

Aos meus pais Deusdedith e Nedi
na, aos meus irmãos Roberto ,
Ana Paula, Adriano, Mauro, Deusdedith Filho e Dionísio,

- DEDICO -

AGRADECIMENTOS

Agradeço as pessoas e as instituições que tornaram possíveis a realização deste trabalho:

- Ao Prof. Dr. Gerhard Bandel, pela orientação, estímulo e amizade.
- A todos os docentes do Instituto de Genética da ESALQ, pelos valiosos ensinamentos.
- A todos colegas do curso de Pós-graduação pela convivência e estímulo.
- Ao Dr. Elmano Ferrer de Almeida, chefe da UEPAE de Teresina pelo estímulo e apoio.
- Aos Drs. José Herculano de Carvalho, Antônio Mariano de Campos Mendes, João Roberto Pereira e José Mario Frazão, integrantes da equipe do Programa Nacional de Pesquisa do Babaçu pelo fornecimento do material.
- Aos Srs. Francisco Esteves e José Reginaldo Galvani, pelo apoio nos trabalhos de laboratório, bem como a todos os funcionários do Departamento de Genética da ESALQ, pela boa vontade demonstrada.

- Ao Prof. Itamar Soares de Melo, pela ajuda na confecção do SUMMARY.
- Ao Dr. Yoshitaka Tanaka e o Sr. José Broglia, pelo auxílio nos trabalhos de fotografia.
- Ao Departamento de Silvicultura, na Pessoa do Prof. Paulo Yoshio Kageyama pela utilização do laboratório de sementes.
- Ao João Pratagil Pereira de Araújo e Maria Sueli Pagliarini, pelas sugestões e revisão do manuscrito.
- A Cecília Maria Resende Gonçalves pelo apoio amigo.
- A Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pela oportunidade concedida para a realização deste trabalho.
- A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho.
- A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), pela concessão da bolsa de estudos.

ÍNDICE

	Página
RESUMO	vi.
SUMMARY	viii.
1. INTRODUÇÃO	01.
2. REVISÃO DA LITERATURA	03.
2.1. Caracterização botânica e morfológica do gênero <u>Orbignya</u>	03
2.2. Conceito de espécie e suas implicações na sistemática	07
2.3. Meiose e fertilidade de híbridos	09
2.4. Estudos citológicos em Palmaceae	11
3. MATERIAL E MÉTODOS	13
3.1. Local de coleta do material	13
3.2. Determinação do número somático de cromossomos	14
3.3. Meiose em células-mães de pólen	15
3.4. Microsporogênese	16
4. RESULTADOS	17
4.1. Número somático de cromossomos	17
4.2. Meiose em células-mães de pólen	18
4.3. Microsporogênese	19
5. DISCUSSÃO	25
5.1. Número somático de cromossomos	25
5.2. Meiose e fertilidade de híbridos	27

	Página
5.3. Microsporogênese	30
6. CONCLUSÕES	31
7. LITERATURA CITADA	33

ESTUDOS CITOGENÉTICOS DO BABAÇU (ORBIGNYA SPP)

Autor: Marcos David Figueiredo de Carvalho

Orientador: Prof. Dr. Gerhard Bandel

RESUMO

O babaçu (Orbignya spp) é uma palmeira que ocorre tanto na América Central quanto na América do Sul. Neste continente a sua maior concentração verifica-se no Brasil, principalmente na região Nordeste, onde tem grande importância econômica. Embora existam sérias controvérsias sobre a sistemática do gênero Orbignya, atualmente a classificação botânica considera tres espécies produtoras de côco para a região Nordeste (O. martiana (Barb. Rodr.), O. teixeirana (Bondar), O. eichleri - (Drude).

Os estudos citogenéticos do babaçu foram realizados no laboratório de citogenética do Departamento de Genética da ESALQ/USP, com as tres espécies distintas, procedentes da região Nordeste, nas quais determinou-se: a) o número somático de cromossomos das tres espécies; b) o pareamento dos cromossomos na meiose, e c) a microsporogênese.

Este trabalho é pioneiro, uma vez que nenhuma pesquisa sobre citogenética foi publicada na literatura com as espécies descritas de Orbignya.

O número somático de cromossomos determinado em ponta de raízes foi $2n = 32$ para as tres espécies de Orbignya, não se encontrando diferenças morfológicas marcantes. O estudo da meiose nas tres espécies não evidenciou anormalidades, levando a crer que se trata de uma única espécie de Orbignya com ecótipos adaptados a diferentes regiões. Estudos posteriores deverão ser realizados para provar esta hipótese de se tratar de uma única espécie de Orbignya; observações preliminares de populações de babaçu evidenciam que ocorre uma variação contínua na área de distribuição natural da Orbignya. Observou-se que a diferenciação das células-mães no saco polínico ao longo da inflorescência, ocorre da parte apical para a basal, com base nas observações microscópicas realizadas em flores de babaçu.

CYTOGENETIC STUDIES OF BABASSU OIL PALM

Author: Marcos David Figueiredo de Carvalho

Adviser: Dr. Gerhard Bandel

SUMMARY

Babassu (Orbignya spp.) is a palm that is widely distributed in Central and South America. In South America, particularly in Brazil, it occurs mainly in the Brazilian Northeastern region where it has a large economic importance. There are several controversies regarding taxonomic classification concerned to the genus. The production of oil palm is based on three native species: Orbignya martiana (Barb. Rodr.), Orbignya teixeirana (Bondar) and Orbignya eichleri (Drude).

Cytogenetic studies were done with the species before reported. The research was carried out at the Cytogenetic Laboratory of the College of Agriculture "Luiz de Queiroz", University of São Paulo, at Piracicaba Campus in São Paulo State, Brazil.

Initial results showed that the differentiation of the microspore mother cell occurs from the apex

to the base of the inflorescence. Results obtained from mitotic cell analyses indicated $2n = 32$ as the somatic chromosome number for the three studied species. Meiotic abnormalities were not verified in all three species. Additional observations of the morphological characters of the mature plants showed the occurrence of continue variation in the natural range of the genus. These results indicated that Orbignya is probably an unique species with ecotypes adaptable to different environments.

1. INTRODUÇÃO

O babaçu (Orbignya spp) é uma palmeira polígama que ocorre tanto na América Central quanto na América do Sul. É na América do Sul onde se encontra a maior diversidade do gênero, principalmente no Brasil.

Os babaçuais brasileiros são largamente disseminados por quase todo país, desde o Amazonas até Minas Gerais, porém concentram-se na região Nordeste. O principal produto comercial do babaçu é o seu fruto e a sua exploração é extrativista. Nenhum trabalho sobre citologia, genética e melhoramento do babaçu foi publicado até a presente data. Os babaçuais não atingem 2,0 t/ha de produtividade média (STI, 1977).

A composição do fruto apresenta quatro partes aproveitáveis: epicarpo (11,0%), mesocarpo (23,0%), endocarpo (59,0%), e amêndoa (7,0%). Cerca de 64 subprodutos podem ser obtidos, destacando-se óleos alimentícios e industriais, torta,

rações, carvões, farinhas alimentícias, alcatrão, entre outros. Poucos desses produtos vêm sendo explorados, sendo que a maioria destes representa um potencial econômico para o futuro.

Para o nosso trabalho foram escolhidos tres espécies de babaçu, consideradas como produtoras de amêndoa para região nordeste do Brasil: O. martiana (espécie de porte alto), O. eichleri (espécie acaule) e O. teixeirana (espécie acaule ou cauliforme), esta última sendo apontada como um híbrido natural entre as duas primeiras (BONDAR, 1954; MENDES, 1977; MEDEIROS COSTA et alii, 1984).

Para o melhoramento do babaçu, uma série de estudos básicos faz-se necessária, especialmente aqueles referentes a citologia e genética do material a ser utilizado, que fornecem informações sobre o número de cromossomos, herança de caracteres, relacionamento filogenéticos, fertilidade, produção de sementes, modo de reprodução, nível de ploidia, entre outros.

Considerando a importância desta palmácea, como produtora de energia e alimento, e a deficiência de informações com respeito a estudos citológicos das tres espécies de babaçu, o presente trabalho tem como objetivo: a) determinar o número de cromossomos das três espécies do gênero Orbignya; b) estudar o pareamento meiótico dos cromossomos especialmente na espécie O. teixeirana considerada como um híbrido natural entre O. martiana e O. eichleri e c) analisar a microsporogênese destas três espécies.

2. REVISÃO DA LITERATURA.

2.1. Caracterização botânica e morfológica do gênero - Orbignya.

O gênero Orbignya pertence a Divisão Embryophyta Siphonogama; Classe Monocotyledôneae; Ordem Príncipe; Tribo Co-coideae; Família Palmae ; Sub-família Ceroxylinae (GONSALVES , 1955).

Não há dados experimentais na literatura sobre a idade que o babaçu inicia sua floração, duração da floração e tipos de inflorescências. Alguns agricultores afirmam que em média o florescimento ocorre a partir do 6º ano. Observações pessoais do autor em uma população de 60 palmeiras, na UEPAE de Teresina no ano de 1983, indicam que o florescimento começa em dezembro e se estende até abril com concentração em março. Foi observado ainda que a inflorescência é axilar, podendo encontrar-se na mesma palmeira órgãos femininos, hermafroditos ou

exclusivamente masculinos. Na inflorescência hermafrodita ocorre protogenia.

MENDES et alii (1982), analisando a floração em 199 palmeiras num solo de aluvião no estado do Piauí verificaram que a razão sexual "cachos masculinos: cachos femininos" foi em média 3,5:1, com 83% de palmeiras produtivas (com frutos), índice considerado alto em relação a média do estado que é inferior a 50%.

Segundo DAHLGREN (1936), BONDAR (1954 e 1964), GLASMAN (1972) e LLERAS et alii (1983), o número de espécies descritas para o gênero Orbignya varia de 17 a 23. Em recente revisão taxonômica do gênero, MEDEIROS COSTA (1984) registra 10 espécies de Orbignya que ocorrem no Brasil. RIZZINI (1963) acha que o maior número de espécies de Orbignya está localizado na Amazônia.

Segundo BONDAR (1954), os gêneros Attalea H.B.K., Maximiliana Mart., Scheelea Karst., Parascheelea Dugand e Markleya Bondar apresentam muita semelhança morfológica, sendo a separação entre eles evidenciada pela morfologia dos estames. McCURRACH (1960) e MOORE (1973) consideram estes mesmos gêneros como possuindo muita similaridade com o gênero Orbignya. Ainda esses mesmos autores acham que essas semelhanças sugerem que estes gêneros constituem um complexo de palmeiras.

O gênero Orbignya ocorre tanto na América do Sul quanto na América Central. Na América do Sul a O. martiana ocupa maior área territorial, enquanto na América Central O. cohune é considerada predominante (MARKLEY, 1971).

No Brasil, as três espécies de Orbignya consideradas como sendo as responsáveis pela produção de amêndoa (O. martiana, O. eichleri e O. teixeirana) apresentam a seguinte descrição botânica (BONDAR, 1954):

O. martiana Barb. Rod, considerada como o babaçu típico, palmeira de grande porte podendo chegar até 20 metros de altura, ocorre nas regiões do cerrado mata e campo, ramos florais volumosos e folíolos equidistantes, cocos alongados, ráquis de até 8 metros de comprimento, tamanho médio da inflorescência 90 cm, de acordo com VIVEIROS (1943), ocupa solos de melhor qualidade, onde anteriormente ocorria mata tropical.

O. eichleri Drude, palmeira sem caule, ocorre no cerrado, folíolos divaricados em todo comprimento da ráquis, folha de até 2 m de comprimento, tamanho médio da inflorescência 40 cm, formato do cacho sempre recurvado devido a falta de fruto na parte frontal, encontrada nas áreas de solos pobres, e conhecida regionalmente como piaçava.

O. teixeirana Bondar, conhecida regionalmente co

mo piaçava alta, cauliforme ou não, podendo chegar até 8 metros de altura, folhas de 4 a 6 metros de comprimento, tamanho médio da inflorescência 60 cm, folíolos grupados e ligeiramente divaricados no terço inferior do ráquis foliar e cachos geralmente envergados para o ápice. Esta espécie é encontrada em toda faixa de sobreposição entre O. martiana e O. eichleri, em geral na faixa de transição do cerrado e mata tropical. Pelas suas características morfológicas intermediárias e pela grande variabilidade de tipos morfológicos que ora se aproxima de O. martiana ou de O. eichleri, foi considerada um híbrido interespecífico (BONDAR, 1954 e MENDES, 1977). MEDEIROS-COSTA et alii (1985), trabalhando com caracteres qualitativos (nº estames) e quantitativos (comp. raque), encontraram três tipos morfológicos bem definidos na espécie O. teixeirana, sugerindo ter ocorrido hibridações com retrocruzamento intra e interespecífico.

Em diversos estados do Nordeste (Piauí, Maranhão, Bahia e outros) são comercializadas amêndoas dos gêneros - Orbignya e Attalea, recebendo a denominação genérica de babaçu.

As espécies de Orbignya recebem a denominação geral de babaçu e denominações regionais de perinão e piaçava em função das variações morfológicas dos palmeirais. As espécies de Attalea são conhecidas como indaiã, catolê, piaçava e, menos frequente como babaçu (BONDAR, 1954 e GONSALVES, 1955).

Os babaçuais brasileiros estão estimados em 12.000.000 hectares, distribuindo-se por quase todo o país, des

de o Amazonas até Minas Gerais, porém concentram-se na região Nordeste com aproximadamente 70% da área coberta, contribuindo de maneira significativa para a economia de alguns estados da federação (BRAGA e DIAS, 1968; PEIXOTO, 1973; KONO, 1976). Das tres espécies em estudo (O. martiana, O. teixeirana e O. eichleri), a primeira é apontada como ocupante das maiores áreas e a mais importante. Segundo LLERAS et alii (1983), MEDEIROS-COSTA (1985), O. martiana é sinônimo de O. dameriana, O. huebneri, O. macrostachya, O. lidiae, O. oleifera, O. speciosa e ANDERSON et alii (1985) propõem O. phalerata, em vez de O. martiana.

A maioria das espécies de Orbignya são acaules, com algumas de porte alto (BONDAR, 1957). TENÓRIO (1982) e ANDERSON E MAY (1985) consideram as plantas cauliformes como pertencentes a uma única espécie.

Grande parte dos trabalhos de pesquisa com babaçu estão voltados para a indústria e poucos para a pesquisa agrícola. A partir de 1984, com a criação do Programa Nacional de Pesquisa do Babaçu, sob coordenação da UEPAE de Teresina (EMBRAPA) várias linhas de pesquisa foram traçadas.

2.2. Conceito de espécie e suas implicações na sistemática.

O conceito de espécie tem sido um assunto bastante

te polêmico e debatido em biologia. A metodologia utilizada pelos botânicos para a classificação de espécies não é a mesma utilizada pelos geneticistas.

DOBZHANSKY (1944), mostra que o conceito de espécie não pode ser encarado de uma forma estática, pois ela na da mais é do que um estágio da evolução divergente e, portanto, um processo essencialmente dinâmico. Esse mesmo autor, em 1937, admitiu que população da mesma espécie troca gens livremente na natureza, enquanto populações de espécies diferentes têm esta ca pacidade de troca limitada ou bastante restrita por mecanismo de isolamento reprodutivo. MAYR (1959), define isolamento reprodutivo em termos de um artifício protetor de um conjunto de genes bem integrados contra a infiltração de outros genes.

A maioria dos geneticistas adota os conceitos de Dobzhansky, o que não ocorre com relação aos sistematas. A razão destas divergências reside principalmente no fato de que Dobzhansky dá importância restrita às diferenças morfológicas que são básicas para os sistematas.

Admite-se, atualmente, que mesmo dentro de uma unidade populacional, como é a espécie, existem unidades populacionais menores.

Os ecótipos ou raças definem grupo de plantas on

de a separação é exclusivamente geográfica ou ecológica. Este conceito só tem valor se for baseado em ensaios que permitem provar que as diferenças se devem efetivamente a fatores genéticos.

Segundo ALLARD (1960), os híbridos de plantas florestais são usualmente intermediários entre os pais quanto a taxa de crescimento e outros caracteres quantitativos. Conclui, ainda, o autor que híbridos intraespecíficos diferem quantitativamente bem mais que qualitativamente dos híbridos entre espécies. Híbridos naturais de Pinus apresentam-se intermediários entre ambas espécies florestais paternas para a maioria dos caracteres (VIRADOVIC, 1946).

No gênero Orbignya existem sérias controvérsias, sobre a sistemática. Os estudos citológicos que ora são propostos auxiliam os sistematas a evidenciar a proximidade ou distância taxonômica entre as três espécies estudadas na presente pesquisa.

2.3. Meiose e fertilidade de híbridos.

A meiose é um sistema integrado por uma sequência ordenada de eventos envolvendo pareamento, recombinação, formação de quiasmas e disjunção que levam à redução do número cromossômico nos gametas.

Em vegetais superiores a sequência meiótica é muito semelhante. Contudo, em híbridos interespecíficos o comportamento meiótico pode ser afetado pela não homologia dos genomas. As anormalidades meióticas advindas deste fator podem causar esterilidade no híbrido.

Duas formas de esterilidade de híbridos foram reconhecidas por DOBZHANSKY (1957) e STEBBINS (1957): gênica e cromossômica.

Segundo STEBBINS (1971), teoricamente a esterilidade gênica foi definida como interações desarmoniosas dos genes parentais, os quais dão origem a órgãos sexuais anormais e/ou comportamento meiótico anormal independente da homologia ou não dos cromossomos. A esterilidade cromossômica por outro lado, deve-se a segregação anormal de cromossomos para os gametas ou combinações anormais desequilibradas de segmentos crosômicos, produzidos por permutas entre bivalentes formados por cromossomos parcialmente homólogos. O critério proposto para separar a esterilidade gênica da cromossômica é o teste da poliploidia. Se o dobramento do número cromossômico eliminar parcialmente ou totalmente a esterilidade do híbrido, esta é dita cromossômica, porém se permanecer, é considerada gênica. Em geral quando o número cromossômico de um híbrido interespecífico estéril é dobrado, cada cromossomo fica representado duas vezes, e a meiose pode mostrar pareamento e fertilidade normais, a menos que ocorra incompatibilidade fisiológica. Nas três espécies de estudos

de Orbignya não são conhecidos estudos sobre a meiose na literatura.

2.4. Estudos citológicos em Palmaceae.

Segundo DARLINGTON & WYLIE (1955), READ (1963, 1964, 1965 e 1966), FEDOROV (1969), foram registrados em Palmaceae, tribos cujos números haploides são: 8, 13, 14, 15, 16, 17 e 18.

O número de cromossomos na família Palmaceae tem demonstrado uma homogeneidade com pouca variação numérica dentro dos gêneros (SHARMA e SARKAR, 1956). Segundo o autor, a tribo Coccoineae pode ser considerada como bom exemplo de homogeneidade em evolução, porque diferentes espécies estudadas de diferentes gêneros, tais como Martinesia caryotaefolia, M. erosa, Elaeis guineensis, Cocus nucífera, Orbignya (Attalea) cohune, Butia capitata e Arecostrum vonazoflina possuem todos, $2n = 32$ cromossomos, concluindo que as 6 espécies não somente mostraram o mesmo número de cromossomos como também uma similaridade em seus cariótipos. Por outro lado, no gênero Licuana da tribo Corypheae foi encontrada uma espécie com $2n = 16$ cromossomos, características de regiões de baixa altitude da Índia, e uma espécie com $2n = 28$ cromossomos, nas regiões de grande altitude. Esta última foi considerada por SHARMA e SARKAR (1956) como um poliplóide adaptado às condições climáticas desfavoráveis.

GASSNER (1941) e SATO (1946); mostraram que den-

tro da subfamília Ceroxylinae a qual pertence o babaçu, foi estudado o maior número de espécie de palmeiras com relação ao número de cromossomos e existe uma relação sistemática entre as tribos Aracineae e Cocoíneae. Foi encontrado para Arecineae o número básico de 6 ou 7 cromossomos e para Cocoíneae 8 cromossomos. De acordo com os autores o número haplóide em palmeiras varia de 6 a 18, não sendo possível considerar um único número básico para a família Palmaceae.

As primeiras investigações citológicas no gênero Orbignya ocorreram na espécie O. lidiae (GASSNER, 1941) originária do Brasil, e mais tarde em O. cohune por SATO (1946) e SHARMA e SARKAR (1956), nativa da América Central. Estes estudos revelaram que elas possuem $2n = 32$ cromossomos.

O estudo meiótico realizado por GASSNER (1941) em Orbignya lidiae, Attalea spectabilis e outras espécies da tribo Cocoíneae revelou um pareamento normal com formação de bivalentes. Dados semelhantes foram obtidos por SHARMA e SARKAR (1956) em Orbignya (Attaleae) cohune, e em outras 27 espécies distribuídas em 22 gêneros de Palmaceae.

3. MATERIAL E MÉTODOS.

3.1. Local de Coleta do Material

Sementes e botões florais das três espécies de babaçu (O. martiana Bard. Rodr., O. teixeirana Bondar e O. eichleri Drude) foram coletados nos estados do Piauí e Maranhão. Coletou-se material de O. martiana na UEPAE de Teresina por esta região apresentar palmeiras mais baixas e de fácil acesso. De acordo com o Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos (1984), a UEPAE de Teresina situa-se próximo ao paralelo $5^{\circ}05'13''$ de latitude Sul e ao meridiano $42^{\circ}48'13''$ de longitude Oeste. O clima é definido como tropical quente com estação seca bem pronunciada, apresentando de 5 a 6 meses secos e precipitação pluviométrica média de 1.400 mm e vegetação de mata. As espécies O. teixeirana e O. eichleri foram coletadas a 50 km de Teresina, próximo ao Município de Caxias, no Maranhão, aproximadamente entre as coordenadas geográficas de latitude $4^{\circ}45'$ Sul e longitude $43^{\circ}10'$ Oeste, com clima 4c Th de GAUSSEN, com

3 a 4 meses secos e precipitação pluviométrica média anual em torno de 1.200 mm. Região de transição entre floresta subcaducifolia e cerrado.

As três espécies estudadas pertencem a sub-Família Ceroxylinanae, família Palmaceae, ordem Principes, classe das monocotyledonae.

Tomou-se o cuidado de coletar flores e sementes de plantas taxonomicamente típicas das 3 espécies de Orbignya, não se coletando material das áreas geográficas de contato e sobreposição das 3 espécies.

3.2. Determinação do Número Somático de Cromossomos.

Para o estudo mitótico as sementes de cada espécie de babaçu (Orbignya spp), foram colocadas em vermiculita no germinador a 30°C no laboratório do Departamento de Genética da ESALQ/USP, em Piracicaba. Ao atingirem cerca de 0,5 cm de comprimento, as raízes foram cortadas e submetidas a um pré-tratamento em uma solução de 8-hidroxiquinoleína a 0,002 M a 30°C, na qual as raízes foram mergulhadas durante três horas e 20 minutos, com coletas realizadas entre 10:00 e 11:00 da manhã. Após o pré-tratamento, as raízes foram fixadas em solução de 75% álcool etílico : 25% ácido acético glacial por 24 horas. Posteriormente, as raízes foram transferidas para uma solução de álcool a 70% e aí conservadas a uma temperatura de 0°C, até o

momento de serem utilizadas. A coloração do material para contagem de cromossomos foi feita pelo método de Feulgen e pelo esmagamento (DARLINGTON e LA COUR, 1960). As lâminas temporárias que tinham boas metáfases mitóticas foram transformadas em permanentes.

As lâminas permanentes foram analisadas ao microscópio, selecionaram-se as melhores metáfases para fotografias, utilizando-se para isto o Fotomicroscópio Zeiss com objetiva de 100 x, fator da projetiva de 3,2 x, fator optovar 1,25 x e 2 filtros verdes Kodak 56 e 58. O filme utilizado foi "Panatomic-X" da Kodak.

3.3. Meiose em células-mães de pólen.

Para cada espécie em estudo (O. martiana, O. eichleri e O. teixeirana), coletaram-se os botões florais masculinos em vários estágios de desenvolvimento, entre 9:00 e 11:00 horas da manhã, no Maranhão e no Piauí. Os botões florais coletados foram imediatamente fixados em "CARNOY", onde permaneceram por 24 horas. Após este período os botões florais foram transferidos para uma solução de álcool a 70% e armazenados em refrigerador.

O preparo das lâminas foi feito pelo método convencional para meiose (smear) e os microsporócitos foram corados com carminpropiônico a 1%.

Inúmeras plantas foram analisadas para cada uma das três espécies. A sequência meiótica foi cuidadosamente analisada em vários microsporócitos das três espécies, a fim de se observar o comportamento cromossômico para cada uma delas. Especial atenção foi dada ao pareamento paquitênico, diacinese e metáfase-I de O. teixeirana, considerada como um híbrido natural entre O. martiana e O. eichleri. Fotografaram-se as lâminas que apresentavam ótimas condições.

3.4. Microsporogênese

Para o estudo da microsporogênese utilizaram-se botões florais coletados no Piauí e no Maranhão em diversos estágios de desenvolvimento, retirados de diferentes partes da inflorescência: ápice, parte média e base. Na fixação dos botões florais utilizou-se o "CARNOY", por 24 horas, seguida da conservação em álcool 70%. A técnica da desidratação, inclusão e impregnação com parafina utilizada, foi descrita por SHARMA e SHARMA (1965). Para o estudo da microsporogênese nos botões florais, foram realizados cortes longitudinais e transversais de 12 micras de espessura. A preparação de lâminas foi realizada segundo as metodologias descritas por JOHANSEN (1940) e BECAK e PAULETE (1970). O corante utilizado foi a Hematoxilina Fêrrica de Heidenhain.

4. RESULTADOS.

4.1. Número somático de cromossomos.

Os resultados obtidos a partir de ponta de raiz objetivando a determinação do número de cromossomos somáticos das três espécies de babaçu (Orbignya martiana, Orbignya teixeirana e Orbignya eichleri) revelaram um valor $2n = 32$ cromossomos para todas estas espécies (Tabela 1). As Figuras 1, 2 e 3 mostram metáfases mitóticas de O. martiana, O. teixeirana e O. eichleri, respectivamente.

Tabela 1 - Número de cromossomos somáticos em ponta de raiz de babaçu.

Espécie	2n
<u>O. martiana</u>	32
<u>O. teixeirana</u>	32
<u>O. eichleri</u>	32

Embora as tres espécies em estudo apresentem diferenças botânicas morfológicas entre si, o mesmo nao é válido com relação ao número de cromossomos. Contudo, dado à dificuldade de técnicas, não se conseguiu aprimorar bem os cariótipos para que os cromossomos pudessem ser medidos. Assim, não se pode afirmar que não existam diferenças em tamanho e forma de cromossomos entre estas tres espécies, apesar disso ficar evidente, aparentemente observando-se as Figuras 1, 2 e 3.

4.2. Meiose em células-mães de pólen.

Os dados meióticos obtidos para as três espécies de Orbignya considerados no presente estudo referentes ao pareamento cromossômico em paquíteno, diacinese, metáfase I e segregação em anáfases I e II, foram normais, com a formação de 16 bivalentes, não sendo observadas irregularidades na meiose (Tabela II). As Figuras 1, 2 e 3 mostram diacineses com 16 bivalentes para O. martiana, O. teixeirana e O. eichleri, respectivamente, e a Figura 4 mostra paquíteno de O. teixeirana.

Tabela II - Comportamento durante a meiose nas espécies (O. martiana, O. teixeirana e O. eichleri) considerando diacinese, metáfase-I e anáfases I e II.

Espécie	nº de cromosomos	Diacinese	Metáfase-I	Anáfase I e II	
		*	*	II	o
<u>O. martiana</u>	32	16 II	16 II	normal	
<u>O. teixeirana</u>	32	16 II	16 II	normal	
<u>O. eichleri</u>	32	16 II	16 II	normal	

* - Tipo de pareamento (II = bivalente)

o - Segregação observada.

4.3. Microsporogênese.

A microsporogênese nas tres espécies estudadas (O. martiana, O. teixeirana, O. eichleri), indica que a diferenciação dos esporócitos nos sacos polínicos ao longo da inflorescência dá-se da parte apical para a basal da mesma. (Figura 5).

a) 10 micra

b)

Figura 1 - Orbignya martiana a) metáfase mitótica $2n=32$; b) dia_cinese com 16 bivalentes.

a) 10 micra

b)

Figura 2 - Orbignya teixeirana: a) metáfase mitótica ($2n=32$) e
b) diacinese com 16 bivalentes.

a) 10 micra

Figura 3 - Orbignya eichleri: a) metáfase mitótica ($2n=32$) e
b) diacinese com 16 bivalentes.

Figura 4 - O. teixeirana: paquíteno

Figura 5 - Corte transversal de antera de O. martiana.

5. DISCUSSÃO

5.1. Número somático de cromossomos.

O estudo citogenético do babaçu é dificultado por vários fatores: longo ciclo reprodutivo, cromossomos pequenos, dificuldade de encontrar células em divisão com cromossomos bem diferenciados, período longo para germinação de sementes, falta de plantas de babaçu na região onde se desenvolveu o presente trabalho e dificuldade de se coletar flores e sementes nos babaçuais.

Este trabalho é pioneiro, uma vez que não foi encontrado nenhum estudo na literatura referente a estudos citológicos das 3 espécies brasileiras em questão.

O número somático de cromossomos determinados a partir de ponta de raiz nas três espécies de Orbignya (O. martiana, O. teixeirana e O. eichleri), proveniente de várias metafases, é de $2n=32$ cromossomos. Neste caso não se pode relacio-

nas diferenças morfológicas que diferenciam as tres espécies, como altura de planta, tamanho de cacho, tamanho da folha e outros caracteres referidas na descrição dos materiais, com variação no número de cromossomos. No gênero Licuana (Palmácea) as diferenças morfológicas estão relacionadas com diferenças citológicas, encontrando-se espécies com $2n = 16$ e $2n = 28$, adaptadas a diferentes condições do ambiente. No entanto, o gênero Orbignya embora apresentando espécies adaptadas a diferentes condições de ambiente, como no caso de O. eichleri, O. teixeirana que têm uma distribuição restrita, e O. martiana que tem uma distribuição ampla, não se verifica variação numérica de cromossomos. Dados semelhantes foram obtidos em O. lidiae por (GASSNER, 1941) e O. cohune por (SATÔ, 1946), confirmado por (SHARMA e SARKAR, 1956).

Contudo, como não foram feitas comparações dos kariótipos destas espécies não se pode afirmar que os mesmos sejam exatamente iguais no que se refere a forma e tamanho de cromossomos.

O número de cromossomos encontrados nas espécies analisadas ($2n=32$) está de acordo com o descrito na literatura para a tribo Coccolineae (SHARMA e SARKAR, 1956), confirmando mais uma vez a homogeneidade na evolução desta tribo.

Com relação ao número básico de cromossomos -

($x = 8$), proposto por GASSNER (1941), SATÔ (1946), SHARMA e SARKAR (1956) para a tribo Cocoineae os resultados do presente trabalho mostram concordância. Segundo SHARMA e SARKAR (1956), o gênero Orbignya teria evoluído por alopoliploidia.

5.2. Meiose e fertilidade do híbrido.

Embora existam sérias controvérsias sobre a sistemática do gênero, Orbignya, vários taxonomistas consideram que existem 3 espécies de babaçu no Piauí e Maranhão: O. teixeirana, O. martiana e O. eichleri. Estudos da meiose de Orbignya poderiam dar uma idéia mais precisa do grau de parentesco entre estas 3 espécies.

As três espécies de Orbignya podem coexistir associadas na mesma área de distribuição geográfica. Pelas suas características morfológicas intermediária, a O. teixeirana foi considerada por BONDAR (1957), como um híbrido natural entre O. martiana e O. eichleri. A esterilidade em híbridos pode ser detectada e suas causas caracterizadas através da meiose. Ela pode se manifestar devido a um pareamento irregular dos cromossomos por falta de homologia entre estes, ou devida a interações desarmoniosas entre genes parentais. Segundo DOBZHANSKY (1941) e STEBBINS (1957), a esterilidade pode ser cromossômica ou gênica. Segundo estes autores, para diferenciar estes dois tipos de esterilidade, bastaria duplicar o número de cromossomos, pois no primeiro caso a fertilidade seria restaurada.

No estudo em questão, as análises meióticas nas três espécies revelaram que a meiose é sempre normal nas plantas analisadas havendo sempre 16 bivalentes. Convém, contudo, salientar que para a espécie considerada como híbrida (O. teixeirana), analisou-se um pequeno número de plantas dado às dificuldades de coleta. As Figuras 1, 2 e 3 mostram 16 bivalentes que sempre foram observados em todas as células analisadas das 3 espécies de Orbignya.

A ocorrência de meiose normal em O. teixeirana, considerada como híbrido natural entre O. martiana e O. eichleri, descarta ou, pelo menos, não evidencia, a hipótese de que O. teixeirana é um híbrido entre as outras duas espécies. Pelos resultados citológicos observados pode-se sugerir que a variação morfológica observada entre as três populações consideradas como espécies distintas, são mais de natureza genética dentro de uma única espécie do que diferenças genéticas que levaram à especiação. BONDAR (1964), ao referir-se à delimitação genérica de Orbignya colocou que a nível de espécie, a taxonomia está ainda muito confusa, sugerindo que neste gênero "existem muito mais nomes do que palmeiras".

DOBZHANSKY (1957), considera que o conceito de espécie não pode ser encarado de forma estática, e sim como um estágio da evolução divergente e dinâmica. Segundo DOBZHANSKY (1937), populações da mesma espécie podem trocar genes livre-

mente na natureza, enquanto populações de espécies diferentes tem capacidade de troca limitada ou restrita por mecanismo de isolamento reprodutivo.

Os ecótipos ou raças definem grupos de plantas onde a separação é exclusivamente geográfica ou ecológica. Este conceito só tem valor se há evidências experimentais.

Levando-se em conta a ausência de anormalidades meióticas nas três espécies estudadas de Orbignya, e pela presença de variabilidade fenotípica nas áreas de sobreposição pode-se supor que se trata de raças ou ecótipos de uma única espécie de Orbignya. Provavelmente, essa variabilidade fenotípica seja resultante de cruzamentos e retrocruzamentos interraciais. No entanto, estudos com cruzamentos controlados, fertilidade e biologia floral que estão em andamento na UEPAE de Teresina, no Piauí, poderão trazer novos esclarecimentos sobre a taxonomia destas espécies de babaçu.

Para se ter certeza de que as 3 espécies de Orbignya estudadas no presente trabalho são realmente 3 espécies, ou se elas tratam-se de 3 raças ou populações de uma única espécie de Orbignya, é necessário que sejam realizados cruzamentos entre as 3 espécies. Se os 3 tipos de cruzamentos a serem realizados produzirem sementes F_1 , F_2 , F_3 , etc., férteis, poder-se-á concluir que se trata realmente de uma única espécie de Orbignya, e que

O. martiana, O. teixeirana e O. eichleri, são raças ou populações.

Observações preliminares sugerem que a variação fenotípica contínua, observada nos babaquais do Maranhão e do Piauí, tanto nas zonas de distribuição geográfica de cada uma das 3 espécies de Orbignya, bem como nas áreas de contato e de sobreposição de zonas de distribuição das 3 espécies, é uma evidência de que realmente há uma única espécie de Orbignya com 3 raças, populações ou ecótipos.

5.3. Microsporogênese.

Para o estudo do processo de diferenciação dos gametas masculinos do babaçu, trabalhou-se com um grande número de inflorescências; no entanto, poucas apresentavam células mães de pólen com processo meiótico iniciado. No princípio do desenvolvimento da inflorescência do babaçu é difícil distinguir os tecidos que darão origem ao androceu.

Observou-se nas três espécies (O. martiana, O. teixeirana e O. eichleri) que a diferenciação dos microsporócitos ao longo da inflorescência ocorre do ápice para a base. Nas espécies O. martiana, O. teixeirana e O. eichleri as inflorescências analisadas mostraram todos os estágios da meiose, desde paquítenos até pólen uninucleados. Esse dado confirma o que foi obtido em O. lidiae por (GASSNER, 1941).

6. CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente trabalho estabeleceram-se as seguintes conclusões:

- 1- As análises citológicas demonstram que o número somático de cromossomos do babaçu determinados em ponta de raízes é $2n = 32$ para as tres espécies estudadas: Orbignya martiana, O. eichleri e O. teixeirana.
- 2- O estudo da meiose demonstrou ausência de anormalidades meióticas nas tres espécies. Observaram-se $n = 16$ bivalentes na meiose das tres espécies estudadas de Orbignya. Estes resultados sugerem que se trata de uma única espécie de Orbignya, com tres raças, populações ou ecotipos.
- 3- O número básico ($x = 8$) e a origem alopoliplóide proposta por SHARMA E SARKAR (1956) para tribo Coccolineae, a qual per-

pertence o gênero Orbignya, evidenciam nas tres espécies estudadas.

- 4- Observa -se que a maturação dos microporócitos ao longo da inflorescência ocorre da parte apical para a basal.

7. LITERATURA CITADA

ALLARD, R.W., 1960. Principles of Plant Breeding. New York, John Wiley, 381 p.

ANDERSON, A.B., M.J. BAUCK e C. U. PINHEIRO, 1985. O que é babaçu ? In: XXXVI Congresso Nacional de Botânica, Curitiba. (Comunicação apresentada).

ANDERSON, A. e P. MAY., 1985. A palmeira de muitas vidas. Ciência Hoje. São Paulo, 4(20):58-64.

BEÇAY, W. e J. PAULETE., 1970. Técnicas de citologia e histologia. São Paulo, Nobel. 470 p.

BONDAR, G., 1954. Nova espécie de Orbignya produtora de óleo de babaçu. Arquivos Jardim Botânico, Rio de Janeiro, 13:57-59.

- BONDAR, G., 1957. O babaçu e outras palmeiras produtoras de amêndoas oleaginosas no Brasil. Rio de Janeiro, Serviços de Informações Agrícolas. 61p.
- BONDAR, G., 1964. Palmeiras do Brasil. São Paulo, Instituto de Botânica. 159p.
- BRAGA, H.C. e J.D. DIAS., 1968. Aspectos socio-economicos do babaçu. Rio de Janeiro, Instituto de Óleos. 87p.
- BRASIL. MIC/STI., 1977. Côco de babaçu: matéria prima para produção de álcool e carvão. Brasília. 39p.
- BRASIL. MA/EMBRAPA., 1984. Babaçu: Programa Nacional de Pesquisa. Brasília. 89p.
- BRASIL. EMBRAPA-SNLCS/SUDENE-DRN., 1984. Zoneamento edafoclimático do babaçu nos estados do Piauí e Maranhão. Rio de Janeiro. 557p.
- DAHLGREN, B.E., 1936. Index of American Palm. Field Museum of Natural History. Chicago, 355:223-226.
- DARLINGTON, C.D. e A.P. WYLIE., 1935. Chromosome atlas of flowering plants. 2^a ed. London, George Allen & Unwin. 519p.

DARLINGTON, C.D. e L.F. LA COUR., 1960. The handling of chromosome. New York, Macmillan. 248p.

DOBZHANSKY, T., 1937. Genetics nature of species differences. American Naturalist, 71:404-420.

DOBZHANSKY, T., 1944. Mecanismo da evolução e origem das espécies. Rio de Janeiro, Ministério da Agricultura. N.p. (Boletim dos Cursos de Aperfeiçoamento e Especialização).

DOBZHANSKY, T., 1957. Genetics and the origin of species. N.Y. Columbia University Press, 364p.

FEDOROV, A.A., 1969. Chromosome Numbers of Flowering Plants. s.l., Academy of Sciences of the USSR/Komarov Botanical Institute. 926p.

GASSNER, G.G., 1941. Uber Bau Der Mannlichen Blüten Van Pollenentwicklung einiger Palmen Der Ceroxylinae. Beihefte Zum Botanischen Centralblatt. Dresden, 61A)1-2):237-276.

GLASMAN, S.F., 1972. A revision of B. E. Dahlgren's Index of American Palms; s.l., J. Graner. 294p.

GONSALVES, A.D., 1955. O babaçu: considerações científicas, técnicas e econômicas. Rio de Janeiro, Serviço de Informações Agrícolas. 331p.

JOHANSEN, D.A., 1940. Plant microtechnique. New York, McGraw-Hill. 523p.

KONO, A., 1976. Da necessidade de Programar o Desenvolvimento do babaçu. São Luiz, Secretaria da Agricultura do Maranhão. 51p.

LLERAS, E., L. CORANDIN e D. GIACOMETTI., 1983. Areas críticas de distribucion das palmas en las Americas para coleta, evaluación y conservacion. In: Informe de la reunion de consulta organizada por FAO y CATIE. Palmeras poco utilizadas de America Tropical. Turrialba, 67-101.

MARKLEY, K.S., 1971. The babassu oil palm Brasil. Economic Botanic. New York, 25:267-504.

MAYR, E., 1959. Isolation an evolutionary factor. Proceedings of the American Philosophical Society. Philadelphia, 103: 221-230.

McCURRACH, J.C., 1960. Palms of the world. New York, Harper e Brotheres. 290p.

MEDEIROS-COSTA, J.T., A.M.C. MENDES e J.I.C. BRITO., 1984. Morfodiagnose de Orbignya teixeirana Bondar (PALMAE-COCOSOIDEAE) nos estados do Piauí e Maranhão. Terezina, EMBRAPA/UEPAE. 5p. (Pesquisa em andamento 39).

MEDEIROS-COSTA, J.T., 1985. Estágios atual da taxonômica dos gêneros e espécies da Unidade Attalea (PALMAE), no Brasil. Terezina, EMBRAPA/UEPAE. 40p.

MENDES, A.M.C., L.D. MORAES e M.D.F. CARVALHO., 1982. Comportamento produtivo de babaçual num solo de aluvião eutrófico, em Terezina, EMBRAPA/UEPAE, 9p. (Boletim, 21).

MENDES, A.M.C., 1977. Zoneamento de ocorrência do babaçu. In: I Simpósio Sobre Produção de Alcool no Nordeste, Fortaleza. Anais: Fortaleza, BNB: 33p.

MOORE JUNIOR, H.E., 1973. The major groups of plams and their distrivution. Gentes Herbarum. Ithaca, 11: 27-141.

PEIXOTO, A.R., 1973. O babaçu: babaçu Orbignya martiana, Barb. Rodr. In: Gtaques. Plantas oleaginosas arbóreas. São Paulo, Nobel. p. 171-194.

READ, R.W., 1963. Palm chromosomes. Principes. Miami, 7:85-80.

READ, R.W., 1964. Palm chromosomes estudies facilitated by pollen cultura an colchicine-lactose medium. Stain Tecnology. Geneva, 39:99.106.

READ, R.W., 1965. Palm chromosomes by air mail. Principes. Miami, 9:4-10.

- READ, R.W., 1966. New chromosome counts in the Palmae. Principes: Miami, 10:55-62.
- RIZZINI, C.T., 1963. Sobre a distinção e a distribuição das duas novas espécies de babaçu Orbignya. Revista Brasileira de Geografia. Rio de Janeiro, 25(3):313-326.
- SATÔ, D., 1946. Karyotype alteration and phylogeny, VI karyotype analysis in Palmae. Citologia. Tokio, 14:174-186.
- SHARMA, A.K. e S.K. SARKAR., 1956. Citology of different species of palm and its bearing on the solution of problems of phylogeny and speciation. Genetica. S-Gravenhage, 28:361-488.
- SHARMA, A.K. e A. SHARMA., 1965. Chromosomes Techniques. London, Butteworths. 474p.
- STEBBINS, G.L., 1957. Variation and evolution en plants. New York, Columbia University Press. 643p.
- STEBBINS, G.L., 1971. Chromosomal evolution in higher plants. London, Addison-Wesley. 216p.
- TENÓRIO, E.C., 1982. O babaçu e outros coqueiros assemelhados em Minas Gerais. Belo Horizonte, Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. 216p.

VIVEIROS, F.F., 1943. O babaçu nos estados do Maranhão e Piauí.
Boletim do Ministério da Agricultura. Rio de Janeiro, 32(4):
1-43.

VIRADOVIC, M., 1946. Investigation on the intermediate type
between the Austrian and the scots pine. Silvae Genética.
Frankfurt, 7:12-19.