

## CARIÓTIPO DE QUATRO LINHAGENS DE LENTILHA (*Lens culinaris Medic.*)\*

Karyotype of Four Lentil Lines (*Lens culinaris Medic.*)

Nublea Teresa Felkl Manara\*\* e Wilson Manara\*\*

### RESUMO

Foi feita a análise do cariótipo de quatro linhagens de lenteira (*Lens culinaris Medic.*) selecionadas no Departamento de Fitotecnica do Centro de Ciências Rurais - UFSM.

As quatro linhagens revelaram semelhança no comprimento e morfologia dos cromossomos, podendo o cariótipo ser enquadrado no tipo 2A da classificação de STEBBINS (10).

A variação observada na quantidade de material genético, entre as linhagens, distribuiu-se entre 58,1 e 69,2  $\mu\mu$ . As linhagens com maior número de cromossomos submetacêntricos ( $DF_5$  e  $DF_7$ ) apresentaram maior conteúdo de material genético, podendo ser consideradas menor primitivas do que aquelas com menor número de cromossomos submetacêntricos ( $DF_4$  e  $DF_6$ ).

### SUMMARY

The karyotype of four lentil lines ( $DF_4$ ,  $DF_5$ ,  $DF_6$  e  $DF_7$ ) selected in the Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Rurais-UFSM, were studied.

The karyotype of the four lines were similar and could be classified as type 2A of STEBBINS (10).

The variation in the genetic material content was between 58,1 and 69,2  $\mu\mu$ . The lines with the greatest number of submetacentric chromosomes ( $DF_5$  and  $DF_7$ ) also presented the largest content of genetic material. Therefore could be considered as less primitive than those with a smaller number of submetacentric chromosomes, ( $DF_4$  and  $DF_6$ ).

### INTRODUÇÃO

A lenteira é uma espécie vegetal que apresenta grande variação nos caracteres morfológicos. Plantas pertencentes a uma variedade não possuem uniformidade em suas características morfológicas, especialmente, no tamanho das sementes.

\* Projeto: Citogenética e Melhoramento da Lenteira.

\*\* Professores Adjuntos do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS, Brasil.

Estudos citológicos detalhados permitem detectar se as diferenças morfológicas entre plantas, de uma mesma espécie, estariam ou não associadas a diferenças na morfologia dos cromossomos ou na quantidade de material genético.

SINHA & ACHARIA (9), no estudo do cariotípico de 15 variedades de lentilha de sementes grandes, encontraram diferenças entre as mesmas com respeito a morfologia dos cromossomos e comprimento total de cromatina. Constataram, também, a presença de cromossomos-satélite em algumas variedades. Entretanto, NAITHANI & SARBOY (7), analisando o cariotípico de lentilhas macro e microsperma não encontraram diferenças morfológicas significativas nos cromossomos dos dois grupos. O cariotípico mostrou-se assimétrico e pertencente ao tipo 2B, de acordo com a classificação de STEBBINS (10), tendo sido registrada a presença de dois pares de cromossomos-satélite.

JANA & THOLIYA (5), estudando a mitose e a meiose de tipos anões e altos de lentilha (grupo microsperma) observaram que as diferenças fenotípicas quanto a altura podem ter base citológica, pois o comprimento da cromatina haplóide nos tipos altos é notadamente maior do que nos tipos anões. Além disso, constataram que as razões de braços dos cromossomos II e V nos tipos anões e altos são diferentes, devido a diferentes localizações das constrições primária e secundária.

Devido a inexistência de estudos sobre o cariotípico de lentilha no Brasil, realizou-se este trabalho com a finalidade de analisar o cariotípico de quatro linhagens (grupo microsperma) obtidas, por seleção, no Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Rurais-UFSM.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas sementes de quatro linhagens de lentilha (DF<sub>4</sub>, DF<sub>5</sub>, DF<sub>6</sub> e DF<sub>7</sub>) selecionadas no Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Rurais-UFSM.

A germinação foi obtida a temperatura ambiente, colocando-se as sementes em placas de Petri providas de duas camadas de papel filtro umedecido. As pontas das raízes foram colhidas e pré-tratadas com solução de colchicina a 0,1%, a temperatura ambiente e, após, fixadas em álcool-acético 3:1, por seis horas.

Os estudos citológicos foram feitos em preparações temporárias de acetato-carmim a 1% e as microfotografias foram obtidas em Fotomicroscópio Zeiss e ampliadas 2.048X. A análise detalhada dos cromossomos foi efetuada, em 5 placas para cada linhagem, calculando-se os valores do comprimento relativo e relação de braços de cada cromosomo, segundo o método de ROTHFELS & SMINOVITCH (8).

Para a classificação dos cromossomos, de acordo com a posição do centrômero, foi adotada a nomenclatura de LEVAN et alii (6), baseada na relação de braços.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O número de cromossomos observado ( $2n = 14$ ) foi o mesmo já constatado por outros autores (BLEIER, 3; NAITHANI & SARBOY, 7).

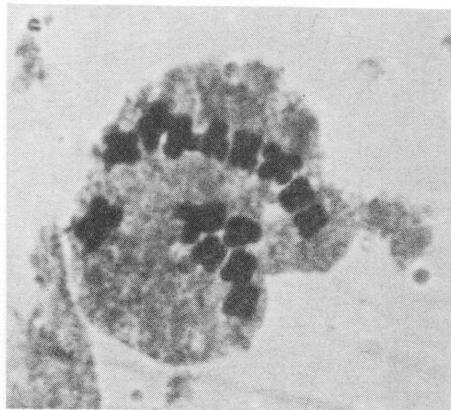
A observação do cariótipo (Figuras 1, 2, 3 e 4) em metáfases mitóticas revelou que as quatro linhagens apresentam de modo geral, cromossomos semelhantes em comprimento e morfologia.

As diferenças observadas referem-se ao comprimento total do lote diplóide, número de cromossomos metacênicos e submetacênicos e pequenas alterações na posição da constrição primária.

Na Tabela 1 são apresentadas as características do complemento diplóide de cromossomos das quatro linhagens, quanto ao comprimento relativo, relação de braços e designação dos cromossomos. A análise desta Tabela mostra que ocorreram apenas cromossomos metacênicos e submetacênicos. As linhagens DF<sub>4</sub> e DF<sub>6</sub> apresentaram dois pares de cromossomos submetacênicos e as linhagens DF<sub>5</sub> e DF<sub>7</sub>, três pares, sendo os demais metacênicos. Tal resultado concorda, em parte, com o obtido por SINHA & ACHARIA (9) e NAITHANI & SARBOY (7), os quais encontraram os mesmos tipos de cromossomos havendo, apenas, variação quanto ao número de pares de metacênicos e submetacênicos. Entretanto, discorda dos resultados desses estudos com respeito à ocorrência de cromossomos-satélite, os quais não foram observados neste trabalho.

A discordância existente entre o número de pares de cromossomos submetacênicos nas linhagens estudadas e, também, entre estas e as variedades utilizadas nos trabalhos dos outros pesquisadores podem ser explicadas por alterações estruturais que devem ter ocorrido ao longo do processo evolutivo. Entre estas estão, principalmente, as inversões e as translocações que levam a mudanças na posição do centrômero trazendo, como consequência, a modificação da classificação dos cromossomos.

Com respeito ao comprimento relativo dos cromossomos (Tabela 1) nota-se que o maior par compreende, em média, 17,5% do comprimento do lote diplóide. A Tabela 2 mostra que o maior par de cromossomos não chegou a ser o dobro do menor, em nenhuma das linhagens estudadas. Segundo STEBBINS (10), a classificação dos cariótipos quanto à assimetria pode ser feita pelo reconhecimento de três graus de diferenças entre o maior e o menor cromossomo do complemento e de quatro graus de diferenças com respeito à proporção de cromossomos que são acro ou telocênicos. No presente caso cro-



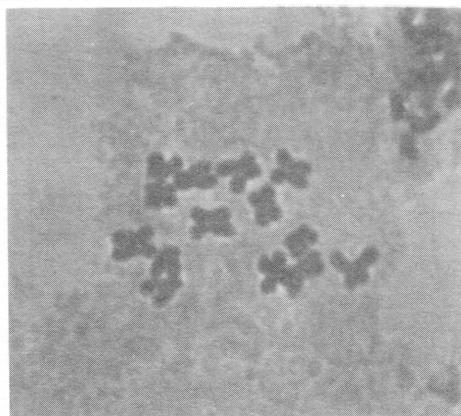
XG XH XJ XN XQ XA XE

Figura 1. Cariótipo da linhagem DF<sub>4</sub>.



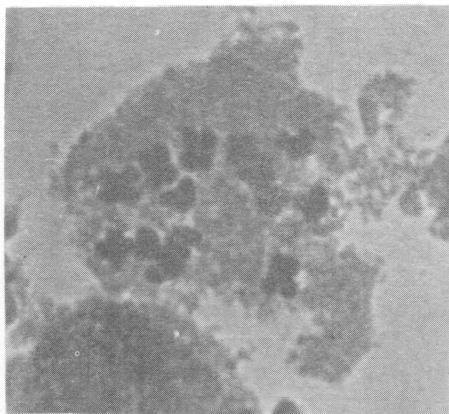
XG XH XJ XN XQ XA XE

Figura 2. Cariótipo da linhagem DF<sub>5</sub>.



XX XX

Figura 3. Cariótipo da linhagem DF<sub>6</sub>.



XX XX

Figura 4. Cariótipo da linhagem DF<sub>7</sub>.

Tabela 1. Características do lote diplóide dos cromossomos das linhagens DF<sub>4</sub>, DF<sub>5</sub>, DF<sub>6</sub> e DF<sub>7</sub>.

LINHAGENS	CARACTERÍSTICAS	PARES DE CROMOSOMOS						
		1	2	3	4	5	6	7
DF <sub>4</sub>	Comprimento Relativo	17,9 (±0,78)	15,7 (±0,98)	14,4 (±0,15)	13,8 (±0,51)	13,3 (±0,59)	12,8 (±0,32)	12,2 (±0,43)
	Relação de Braços	1,3	1,3	1,6	1,5	1,2	1,7	1,8
	Designação dos Cromossomos	m	m	m	m	m	sm	sm
DF <sub>5</sub>	Comprimento Relativo	16,9 (±0,76)	15,9 (±0,51)	14,8 (±0,34)	14,1 (±0,41)	13,6 (±0,41)	12,7 (±0,24)	11,9 (±0,58)
	Relação de Braços	1,3	1,2	1,2	1,2	1,8	1,8	2,0
	Designação dos Cromossomos	m	m	m	m	sm	sm	sm
DF <sub>6</sub>	Comprimento Relativo	17,6 (±0,52)	16,1 (±0,71)	14,9 (±0,61)	14,4 (±0,63)	12,9 (±0,47)	12,4 (±0,41)	11,6 (±0,70)
	Relação de Braços	1,2	1,3	1,2	1,3	1,5	1,9	2,0
	Designação dos Cromossomos	m	m	m	m	sm	sm	sm
DF <sub>7</sub>	Comprimento Relativo	18,1 (±1,16)	15,9 (±0,97)	14,2 (±1,01)	13,7 (±0,55)	13,2 (±0,38)	12,8 (±0,65)	12,0 (±0,21)
	Relação de Braços	1,2	1,2	1,4	1,2	1,7	1,9	1,9
	Designação dos Cromossomos	m	m	m	m	sm	sm	sm

mossomos acrocêntricos não foram observados, mas quanto a primeira característica poderíamos incluir as 4 linhagens no tipo 2A da classificação de STEBBINS (10). Tal resultado discorda do obtido por SINHA & ACHARIA (9) que enquadram seu material no tipo 2B, por terem observado cromossomos com razão de braços (longo/curto) entre 2:1 e 4:1.

Tabela 2. Dados, em micrômetros, relativos ao comprimento total do lote diplóide e comprimento médio do maior e menor cromossomos das quatro linhagens.

CARACTERÍSTICAS	DF <sub>4</sub>	DF <sub>5</sub>	DF <sub>6</sub>	DF <sub>7</sub>
Comprimento total do lote diplóide	58,1	64,3	63,6	69,2
Comprimento médio do maior e do menor cromossomo	10,0-7,0	10,8-7,6	11,1-7,3	12,5-8,3

Cariótipos simétricos são considerados mais primitivos do que os assimétricos. A evolução dos últimos, a partir dos primeiros, tem sido discutida e elucidada por muitos autores como DARLINGTON (4), WHITE (11), BABCOCK (1), STEBBINS (10) e outros. Baseado na assimetria do cariótipo é possível considerar as linhagens DF<sub>5</sub> e DF<sub>7</sub> menos primitivas do que as outras duas dadas.

O comprimento total do lote diplóide de cromossomos (Tabela 2) mostrou variação para as diferentes linhagens estudadas concordando com o observado por SINHA & ACHARIA (9) e por NAITHANI & SAR BHOY (7). A variação observada entre as diferentes linhagens (58,1 - 69,2 μm) pode ter sido causada por perda ou acréscimo de fragmentos translocados durante trocas assimétricas. Tais trocas levam a modificações no conteúdo de material genético e alteração na posição do centrómero, modificando a ordem de classificação o que explica, em parte, as diferenças observadas com relação ao trabalho de SINHA & ACHARIA (9).

A massa total de cromossomos de um núcleo é estreitamente correlacionada com seu conteúdo de DNA (BAETKE et alii, 2). Com base neste correlação STEBBINS (10) salienta que é possível fazer razoáveis inferências sobre o conteúdo de DNA de um organismo e, portanto, a quantidade de material genético que ele possui, examinando-se seus cromossomos, em determinadas condições de exigências. Uma

vez que as condições foram satisfeitas, neste trabalho, supõe-se que, de fato, a linhagem DF, possui maior quantidade de material genético, pois, apresentou maior comprimento do lote diplóide de cromossomos.

#### CONCLUSÕES

A análise do cariotípico de quatro linhagens de lentilha revelou semelhança no comprimento e morfologia dos cromossomos, podendo ser enquadrado no tipo 2A da classificação de STEBBINS (10).

As linhagens com maior número de cromossomos submetacêntricos (DF<sub>5</sub> e DF<sub>7</sub>) apresentaram maior conteúdo de material genético podendo ser consideradas menos primitivas do que as outras duas linhagens estudadas.

#### LITERATURA CITADA

1. BABCOCK, E.B. - The genus *Crepis* I and II. *Univ. of Calif. Publ. Bot.*, 21/22:1030, 1947.
2. BAETCKE, K.P.; SPARROW, A.H.; NAUMAN, C.H.; SCHWEMMER, S. S. - The relationship of DNA content to Nuclear and chromosome volumes and radiosensitivity (LD50). *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 58(2):533-540, 1967.
3. BLEIER, H. - Karyologische untersuchungen an Winsen-Wicken-Bastarden. *Genetica*, 2:111-118, 1928.
4. DARLINGTON, C.D. - Recent Advances in Cytology. 2nd. ed. London, J. & A. Churchill. 1937. 671p.
5. JANA, M.K. & THOLIYA, A. - Phenotypic differences in lentil (*Lens culinaris*) their characteristics and cytological differences. *Lentil Exp. News Service*, 2:11, 1975.
6. LEVAN, A.; FREDGA, K.; SOUBERG, A.A. - Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52:201-220, 1964.
7. NAITHANI, S.P. & SARBOY, R.K. - Cytological studies in *Lens esculenta* Moench. *Cytologia*, 38:195-203, 1973.
8. ROTHFELS, K.H. & SMINOVITCH, L. - The chromosome complement of the Rhesus monkey (*Macaca mulata*) determined in Kidney cells cultivated *in vitro*. *Chromosoma*, 9:163-175, 1958.
9. SINHA, S.S.N. & ACHARIA, S.S. - Karyotype analysis in some varieties of *Lens culinaris*. *Cytologia*, 37:673-683, 1972.
10. STEBBINS, G.L. - *Chromosomal evolution in higher plants*. London, Addison-Wesley, 1971. 216p.

- 
11. WHITE, M.J.D. - *Animal Cytology and Evolution.* Cambridge,  
Cambridge Univ. Press. 1945. 375p.