



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CURSO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**

Ingrid Lohani Degering Brand

**ANÁLISE CITOTAXONÔMICA DE *Commelina catharinensis* (COMMELINACEAE)
E IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS**

Florianópolis

2020

Ingrid Lohani Degering Brand

**ANÁLISE CITOTAXONÔMICA DE *Commelina catharinensis* (COMMELINACEAE)
E IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS**

Trabalho de Conclusão de Curso de
Graduação em Ciências Biológicas do Centro
de Ciências Biológicas da Universidade
Federal de Santa Catarina como requisito para
a obtenção do Título de Bacharel em Biologia.
Orientadora: Dra. Daniela Cristina De Toni.

Florianópolis

2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Brand, Ingrid Lohani Degering
ANÁLISE CITOTAXONÔMICA DE *Commelina catharinensis*
(COMMELINACEAE) E IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS / Ingrid Lohani
Degering Brand ; orientadora, Daniela de Toni, 2020.
27 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis,
2020.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. Citogenética. 3. Biologia
Vegetal. 4. Citotaxonomia. 5. Filogenia Vegetal. I. de
Toni, Daniela. II. Universidade Federal de Santa Catarina.
Graduação em Ciências Biológicas. III. Título.

Ingrid Lohani Degering Brand

**ANÁLISE CITOTAXONÔMICA DE *Commelina catharinensis* (COMMELINACEAE)
E IMPLICAÇÕES FILOGENÉTICAS**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado e adequado para obtenção do Título de Bacharel em Biologia, e aprovado em sua forma final pelo curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 17 de janeiro de 2020.

Dr. Carlos Roberto Zanetti
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Dra. Daniela Cristina De Toni
Orientadora
Universidade Federal de Santa Catarina

Dra. Andrea Rita Marrero
Universidade Federal de Santa Catarina

Dra. Yara Costa Netto Muniz
Universidade Federal de Santa Catarina

AGRADECIMENTOS

Esses agradecimentos são a todos que riram e choraram comigo e seguraram mão durante essa aventura, essa montanha-russa – com picos, quedas, voltas, êxtases, voltas, angústias, risos, ansiedades e gritos – que é a graduação.

Agradeço primeiramente aos meus pais, Celso e Lenir, e ao meu irmão, Heinrich, por me darem valores morais, carinho, apoio emocional e financeiro durante toda a minha vida. Muito obrigada pelo amor investido e por acreditarem nos meus sonhos mais do que eu mesma acreditei. Vocês são tudo, amo muito vocês. Ainda no núcleo familiar, agradeço aos meus gatos, Mimi, Bichento e Neguinho, porque, sinceramente, se não fossem os ronrons e os carinhos, eu já tinha enlouquecido faz tempo.

À minha orientadora, Dani, por me orientar tanto na vida acadêmica quanto na pessoal. Obrigada por compartilhar os surtos, ansiedades e sucessos comigo. Você é bem mais do que uma orientadora para mim, se tornou uma grande amiga ao longo desse tempo.

Aos meus amigos e colegas de projeto Camila Torres e Gabriel Andrade, sem vocês esse TCC não seria possível. Foram muitos dias de lâminas, plantas, microscópio e respirar ácido sem querer, mas valeu muito à pena ter essa união.

Ao Gustavo Hassemer, que me forneceu todas as plantas desse projeto e que também teve a paciência e interesse de ensinar grande parte do que eu sei sobre comelináceas, além de estar sempre disponível para esclarecer minhas dúvidas e me ajudar.

Ao meu amigo Gabriel Vanzo, que esteve ao meu lado por todo esse tempo de graduação. Obrigada pelos conselhos, ajuda, trabalhos, bebedeiras, baladas, rolês, etc. é incrível ver o quanto a gente cresceu juntos. Tenho muito orgulho de ti e te desejo todo o sucesso do mundo.

Às Feiticeiras Iago, Luana, Natália, João, Bruna e Belle. A amizade de vocês foi a surpresa mais incrível que tive em 2018. Obrigada por esse ano e meio de fim de graduação, vocês foram essenciais para minha vida nesse período.

Ao Mário Tagliari, mais conhecido como doutor, que sempre se dispõe a me ajudar, seja na vida ou com trabalhos acadêmicos. Afinal, “*Tu deviens responsable pour toujours de ce que tu as apprivoisé*”, mesmo não tendo muita paciência. Obrigada também pelos sincericídios, muitas vezes são úteis.

À Julia Zappellini, que me ajudou com as análises e teve paciência de esclarecer minhas dúvidas inoportunas nas horas de desespero com muito carinho.

Finalmente, a todo(a)s o(a)s professore(a)s, servidore(a)s e técnico(a)s que possibilitaram a permanência da UFSC durante esses tempos sombrios. Muito obrigada por possibilitarem educação pública, gratuita e qualidade. Resistiremos!

RESUMO

As plantas do gênero *Commelina* (Commelinaceae) apresentam plasticidade morfológica, o que gera dificuldade em sua identificação/classificação taxonômica. A espécie *Commelina catharinensis* Hassemer foi desmembrada de *Commelina erecta* Linnaeus, baseada nas suas características morfológicas; essa separação não possuía dados citogenéticos até esse momento. Nesse trabalho, foi realizada uma análise cariotípica da espécie *C. catharinensis*, testando a hipótese de que há a separação taxonômica de *C. erecta*, e que essas espécies possuem cariótipos diferentes. Para isso, foram utilizados os meristemas de raízes de ambas as espécies. Foram utilizados diversos antimitóticos, e as melhores metáfases foram obtidas com 8-hidroxiquinoleína 0,02 M por 24h a 10°C. Foram utilizados corantes Giemsa e orceína 2%, com resultados melhores com orceína 2%. Os cromossomos metafásicos foram comparados entre as espécies. O idiograma de *C. catharinensis* obteve número cromossômico $2n = 40$ e fórmula de cariótipo $2n = 20m + 16sm + 4st$, bem diferente do obtido para *C. erecta* $2n = 60$, fórmula $30m + 26sm + 4st$. Confirma-se, assim, a hipótese de separação das duas espécies, levando-se em conta os dados morfológicos já apresentados em literatura anterior em adição à diferenciação dos cariótipos. Assim, *C. erecta* e *C. catharinensis* permanecem sendo consideradas duas espécies diferentes, apesar da relação evolutiva entre elas e outras espécies próximas do gênero não estarem bem esclarecidas.

Palavras-chave: plantas endêmicas; filogenia; cromossomo; cariótipo.

ABSTRACT

The plants from the genus *Commelina* (Commelinaceae) present a lot of morphological plasticity, causing confusion and difficulty in the taxonomic resolution of evolutionary issues of this genus. Thereby, other types of studies must be allied, such as karyotype (cytotaxonomic) studies. The species *Commelina catharinensis* Hassemer was recently distinguished from *Commelina erecta* Linnaeus, based on the morphological characteristics; this division of the species didn't have any cytogenetic data till now. On this work, a karyotypic analysis of *C. catharinensis* was made, looking for confirm or not the separation of the two species, with the hypothesis that the two species have different karyotypes. For that, root meristems from both species were used. Different types of antimitotics were tested; the best results of metaphases were from 8-hydroxyquinoline 0,02 M. Giemsa and orcein 2% were applied for coloring; the best result was with orcein 2%. The metaphasic chromosomes were compared between the two species. The ideogram of *C. catharinensis* points to the chromosome number $2n = 40$ and the karyotype formula found was $2n = 20m + 16sm + 4st$, very different from the reported for *C. erecta*: $2n = 60$, karyotype formula $30m + 26sm + 4st$; it corroborates the separation between the two species, considering the previous morphologic results aligned with the difference of the two karyotypes. Thereby, *C. erecta* e *C. catharinensis* are still considered two different species, although the evolutionary relations between them and the other close species in the genre are still not well clarified.

Keywords: endemic plants; phylogeny; chromosome; karyotype.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: A. <i>C. catharinensis</i> , que foi desmembrada de B. <i>C. erecta</i> (adaptada de Hassemer <i>et al.</i> , 2016a).....	13
Figura 2: Cromossomos obtidos de a. <i>C. benghalensis</i> ; b. <i>C. erecta</i> e c. <i>C. catharinensis</i>	18
Figura 3: Idiograma de <i>C. catharinensis</i> . Escala: 10 μ m.....	19
Figura 4: Idiograma de <i>C. erecta</i> (retirado de Grabiele <i>et al.</i> , 2005). Escala: 1 μ m 20.....	19

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Número cromossômico (2n), local de coleta e depósito das espécies e variações utilizadas.....	15
Tabela 2: Comparação de características relevantes taxonomicamente e distribuição de <i>Commelina catharinensis</i> , <i>C. erecta</i> e <i>C. rufipes</i> (adaptada e traduzida de HASSEMER et al., 2016a).....	21

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	11
2	OBJETIVOS.....	14
2.1	OBJETIVO GERAL.....	14
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
3	MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
4	RESULTADOS.....	17
4.1	CULTIVO E ENRAIZAMENTO.....	17
4.2	TRATAMENTOS ANTIMITÓTICOS E CORANTES.....	17
4.3	COMPARAÇÃO CARIOTÍPICA.....	18
4.4	DESCRIÇÃO DE IDIOGRAMAS DE <i>C. catharinensis</i> E <i>C. erecta</i>	19
5	DISCUSSÃO.....	20
5.1	CULTIVO E ENRAIZAMENTO.....	20
5.2	TRATAMENTOS ANTIMITÓTICOS E CORANTES.....	20
5.3	CARIÓTIPOS, IDIOGRAMAS E DIFERENCIAÇÃO ESPECÍFICA.....	21
6	CONCLUSÕES.....	24
	REFERÊNCIAS.....	25

1 INTRODUÇÃO

As plantas da família Commelinaceae são monocotiledôneas e possuem características peculiares, como a bainha fechada de suas folhas, além de flores de cores com pétalas e sépalas bem variadas, distintas entre as espécies (FADEN & HUNT, 1991). Apresentam bastante plasticidade morfológica dependendo do ambiente em que se encontram, o que pode causar confusões na taxonomia desses organismos, levando a uma grande quantidade de possíveis sinonimias publicadas, que permanecem não-resolvidas (HASSEMER *et al.* 2016a, 2016b, 2018; HASSEMER 2017a, 2017b, 2018a, 2018b, 2019). Assim, a filogenia do gênero *Commelina* é ainda pouco conhecida e está sendo reorganizada perante estudos mais modernos, já que a análise morfológica parece insuficiente para o esclarecimento de suas relações (EVANS *et al.*, 2000, 2003; BURNS *et al.*, 2011).

O gênero *Commelina* Linnaeus (família Commelinaceae, tribo Commelinaeae) é o maior de Commelinaceae e inclui cerca de 170 espécies, geralmente cosmopolitas e de habitats variados (FADEN, 1985, 1998; HUNT, 1994; EVANS *et al.*, 2000). Esse gênero é propício a confusões de classificação taxonômica, em parte por causa de conceitos genéricos e diversos sinônimos nas descrições e classificações das espécies (FADEN & SUDA, 1980). Portanto, o gênero possui diversas questões a serem discutidas, sobre nomenclatura, taxonomia e sistemática das suas espécies, necessitando ainda de estudos detalhados para compreensão da sua filogenia e classificação (HUNT, 1983).

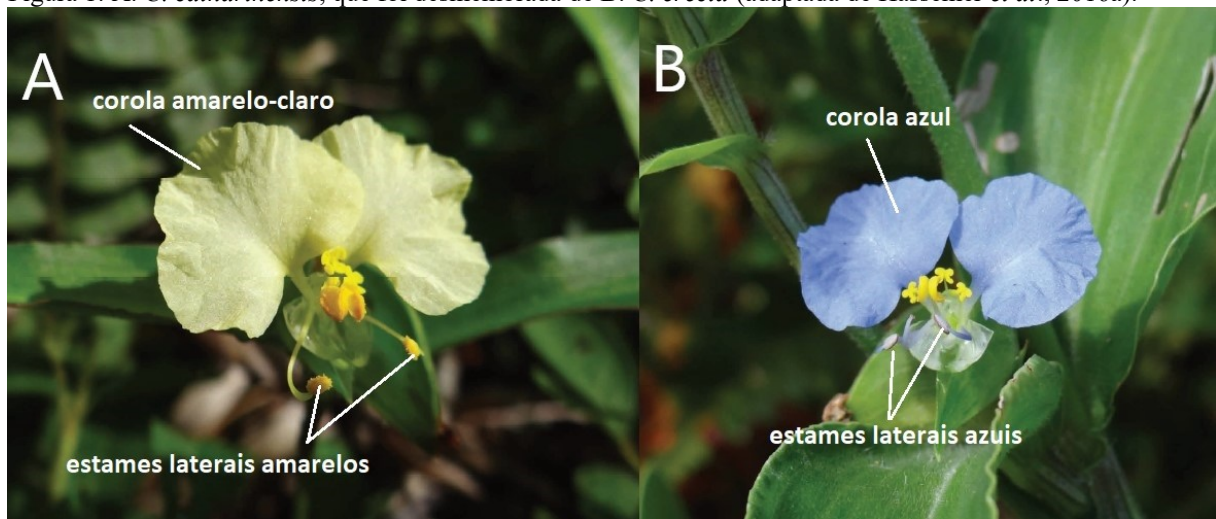
Um dos procedimentos para esclarecer o histórico evolutivo do grupo é combinar o estudo morfológico com a caracterização cromossômica, buscando fazer um estudo citotaxonômico, como apontado por Faden & Suda (1980), Pitrez *et al.* (2001) e Grabiele *et al.* (2005, 2009). O estudo cromossômico leva em consideração quantidade, tamanho, estrutura e morfologia dos cromossomos mitóticos e seu comportamento na metáfase. (STEBBINS, 1971 apud ÉDER-SILVA *et al.*, 2007). Segundo Éder-Silva (2007), esse instrumento tem se tornado importante para a compreensão dos mecanismos envolvidos na evolução cariotípica, tanto em nível de espécie e gênero como em níveis superiores (famílias).

Diferentes estudos na família Commelinaceae e também no gênero *Commelina* utilizam-se da avaliação cariotípica como caráter espécie-específico, usando-a como ferramenta na diferenciação e classificação taxonômica, levando em conta a difícil identificação pela morfologia. (JONES & JOPLING, 1972; OWENS, 1981; PITREZ *et al.*, 2001; GRABIELE *et al.*, 2005, 2009, 2012).

O gênero *Commelina* é complexo cariotipicamente; isso porque seu cariótipo pode variar de $2n = 16$ (ZHENG *et al.*, 1989 apud GRABIELE *et al.*, 2005) até $2n = 180$ (JONES & JOPLING, 1972). Há muita variação de número básico cromossômico, sendo os mais comuns $x = 7, 11$ e 15 (JONES & JOPLING, 1972). Além disso, há registro de poliploidia cromossômica em metade das espécies estudadas do gênero (JONES & JOPLING, 1972). *Commelina erecta* é uma espécie do gênero que apresenta plasticidade morfológica, como descrito por Fernald (1940); já neste trabalho, foi apontada a possibilidade de separação dos morfotipos em diferentes espécies. Assim, criou-se um impasse questionando-se os diferentes morfotipos de *C. erecta* devem ser divididos em novas espécies ou serem considerados variedades/subespécies, sendo muito difícil responder à essa questão somente com estudos de morfologia externa.

A espécie *Commelina catharinensis* foi desmembrada de *C. erecta* L. por Hassemer *et al.* (2016a). Essa diferenciação foi feita por análises morfológicas (nas partes vegetativas e reprodutivas) – levando em conta características como cor da corola e aurículas-, habitat, região de ocupação e período de reprodução. As espécies em questão estão apresentadas na Figura 1. A descrição foi baseada em informações de exsicatas dos herbários e também materiais frescos. Porém, não havia nenhum estudo cariotípico desenvolvido para caracterizar *C. catharinensis* citogeneticamente, tornando-se questionável a separação das espécies, dada a plasticidade de *C. erecta* já apresentada. Sendo assim, torna-se necessário um estudo mais aprofundado com caracterização cromossômica da nova espécie descrita, assim como a comparação com o cariótipo de *C. erecta*, visando suprir essa lacuna no conhecimento filogenético desse clado.

Figura 1: A. *C. catharinensis*, que foi desmembrada de *B. C. erecta* (adaptada de Hassemer *et al.*, 2016a).



O estudo filogenético é uma importante ferramenta para a preservação do táxon e sua correta identificação, evitando equívocos taxonômicos e confusões como sinonímias e complexos de espécies não resolvidos. A separação das espécies de *Commelina* é importante não apenas para a taxonomia, mas também para a agricultura. Algumas espécies do gênero são consideradas ervas-daninhas (LORENZI, 2000), chamadas comumente de “trapoerabas”. Porém, existem espécies do gênero que são nativas, endêmicas e ameaçadas, como é o caso de *C. catharinensis*: endêmica de restinga em Santa Catarina, com apenas uma população encontrada em local de intensa supressão vegetal (HASSEMER *et. al.*, 2016a). Assim, é essencial a sua descrição e classificação, para que medidas de preservação possam ser aplicadas e a diversidade biológica do táxon não se perca.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver um idiograma de *C. catharinensis*, de modo compará-lo com os cariótipos e idiótipos da espécie *C. erecta* registrados em literatura e das linhagens de *C. erecta* cultivadas em laboratório, visando corroborar ou não a separação das duas espécies.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Testar e padronizar a metodologia de obtenção de metáfases para comelináceas do complexo *C. erecta*;
- Descrever e caracterizar os cromossomos de *C. catharinensis* em questão de quantidade, tamanho, formato, posição do centrômero, que ainda não havia descrição;
- Contribuir para o esclarecimento do táxon *Commelina* e para futuros trabalhos na área de cultura, taxonomia, filogenia molecular e conservação da família Commelinaceae.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Três populações de *Commelina erecta*, uma população de *Commelina benghalensis* (utilizado como espécie basal, 2n bem estabelecido pela literatura) uma população de *Commelina catharinensis* do Brasil foram analisadas neste trabalho (Tabela 1). A exsicata de *C. catharinensis* foi depositada no Herbário FLOR, na Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. As espécies *C. benghalensis* e *C. erecta* não foram depositadas até o momento pois não desenvolveram floração.

Tabela 1: Número cromossômico (2n), local de coleta e depósito das espécies e variações utilizadas

Espécie/Morfotipo	2n esperado (segundo literatura)	Local de Coleta	Depósito
<i>C. benghalensis</i> L.	22 Grabiele et al. (2009)	Florianópolis, Praia da Daniela, terreno baldio	-
<i>C. erecta</i> L. 1	60 Grabiele et al. (2005)	Florianópolis, campus da UFSC, Dpto. de Botânica	-
<i>C. erecta</i> L. 2	60 Grabiele et al. (2005)	Ruderal, Cruzeiro do Sul (AC)	-
<i>C. erecta</i> L. 3	60 Grabiele et al. (2005)	Ruderal, perto do Jardim Botânico, Curitiba (PR)	-
<i>C. catharinensis</i> Hassemer	Definida no presente estudo	Palhoça, Praia do Sonho, restinga	FLOR 67829

O cultivo, por razão de estoque e replicação, das espécies analisadas foi realizado em vasos de jardinagem amadora, utilizando-se terra vegetal adubada + vermiculita (para evitar a ação de fungos) como substrato.

O enraizamento foi feito retirando-se um ramo das plantas em cultivo anterior, cortando-se um ramo com pelo menos três nós e folhas verdes, colocando-se em hidroponia, em vidro, até as raízes começarem a crescer naturalmente.

A análise cromossômica em mitose foi feita retirando-se essas raízes novas (brancas) em hidroponia, entre 10h e 12h, pois, nesse horário, “a maioria das espécies apresenta uma proporção mais alta de células em prófase, resultando em um maior acúmulo de metáfases bloqueadas ao final do tratamento.” (GUERRA & SOUZA, 2002). Essas raízes receberam diversos tipos de tratamento-teste como antimitóticos: colchicina 0,015% por 24h; gelo por 24h; colchicina 0,015% + gelo por 24h; 8-hidroxiquinolina (8HQ) 0,02 M ou 0,04 M por 5h a 17°C; 8HQ 0,02M ou 0,04 M por 20-24h a 10°C. Esses diversos tipos de tratamento foram utilizados para testar o que melhor se adequaria em apresentar metáfases das espécies utilizadas.

Essas raízes foram enxaguadas em água destilada e colocadas em fixador Carnoy (3 etanol:1 ácido acético) por pelo menos 24 horas. Depois, a hidrólise foi feita por 20 minutos em ácido clorídrico (HCl) 5N. Após a hidrólise, as raízes foram enxaguadas novamente em água destilada por 10 minutos; então foram secas em papel filtro e transferidas para lâminas com uma gota de ácido acético 45%.

As amostras foram maceradas com agulhas; depois, foram coradas com orceína acética 2% ou Giemsa 1% por 5 a 10 minutos e então foram cobertas com lamínulas e passaram pelo método de esmagamento (*squash*).

Todas as concentrações, tratamentos e métodos de observação de cromossomos foram adaptados de Guerra & Souza (2002).

As lâminas foram analisadas em busca de metáfase com cromossomos visíveis e, quando encontrados, foram fotografadas em microscópio de luz acoplado a um capturador, sendo eles do modelo OLYMPUS BX 41, OLYMPUS IX83 e NIKON ECLIPSE 80i, disponíveis no Laboratório Multiusuário de Estudos em Biologia (LAMEB) na UFSC.

Os cromossomos foram analisados e o idiograma foi montado utilizando o software livre IDEOKAR (2014).

4 RESULTADOS

4.1 CULTIVO E ENRAIZAMENTO

As plantas do gênero *Commelina* apresentaram uma baixa adequação ao cultivo em vasos, havendo dificuldade de crescimento como um todo e fixação na terra, com uma perda média de 40% das amostras, mesmo quando transplantada para os vasos com raízes grandes.

Quanto ao cultivo em hidroponia, houve dificuldade e demora no crescimento de raízes sem o uso de enraizadores, necessárias para o estudo citotaxonômico; o tempo médio para enraizamento adequado foi de cerca de duas semanas.

A espécie *Commelina catharinensis* apresentou a maior dificuldade de enraizamento e crescimento tanto no cultivo em terra quanto no cultivo em hidroponia.

4.2 TRATAMENTOS ANTIMITÓTICOS E CORANTES

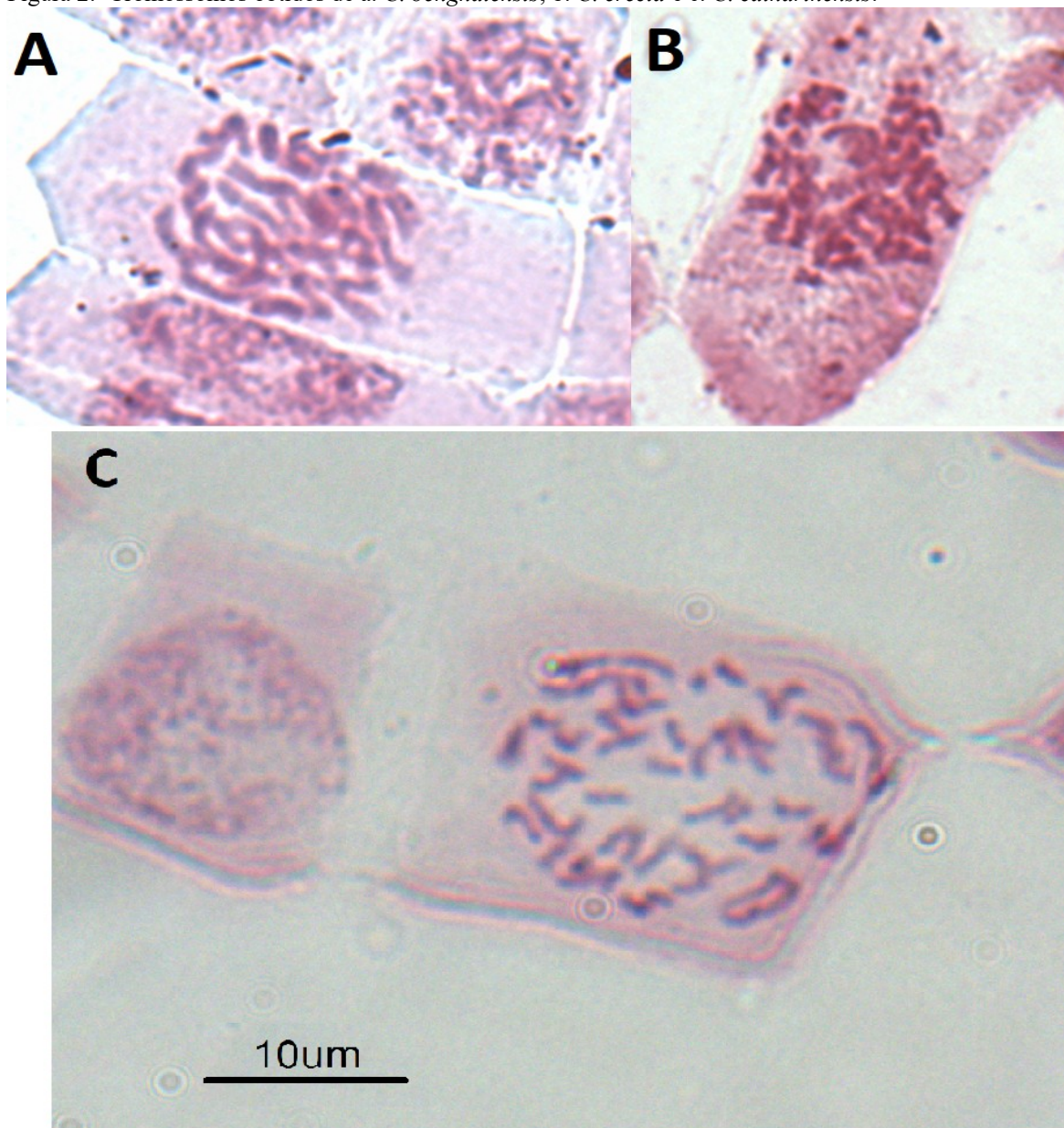
Os tratamentos antimitóticos de gelo, colchicina 0,015% e gelo + colchicina 0,015% não apresentaram bons resultados no tratamento das raízes utilizadas, estando as células do meristema radicular em sua grande maioria (cerca de 95%) em intérfase nas lâminas dos tratamentos acima citados. O tratamento com 8HQ a 0,04 M também não se mostrou eficiente, pois as células se apresentavam contraídas e/ou lisadas nas lâminas correspondentes. Assim, o tratamento mais efetivo e reproduzido foi de 8HQ a 0,02 M, como o recomendado por Guerra & Souza (2002); além disso, a espécie *C. benghalensis* apresentou uma resposta melhor ao antimitótico 8HQ que as outras duas, cerca de 15 metáfases. Em relação a *C. erecta*, foram observadas metáfases em lâminas apenas da amostra do morfotipo 1, duas metáfases, que foram utilizadas para a comparação. A espécie *C. catharinensis* apresentou raras metáfases nas lâminas analisadas, apenas 3 metáfases.

Com relação aos corantes, a alternativa de utilizar Giemsa 1% não se mostrou viável, pois a coloração era muito intensa e a cor de núcleo e de outras partes celulares era muito próxima, tornando-se impossível diferenciar cromossomos. Assim, as lâminas foram coradas preferencialmente com orceína acética 2%.

4.3 COMPARAÇÃO CARIOTÍPICA

As lâminas de meristema radicular das três espécies analisadas de *Commelina* - *C. benghalensis*, *C. erecta* e *C. catharinensis* - obtiveram diferentes números cromossômicos, de cariótipos diferentes entre as espécies, como observável na Figura 2.

Figura 2: Cromossomos obtidos de a. *C. benghalensis*; b. *C. erecta* e c. *C. catharinensis*.

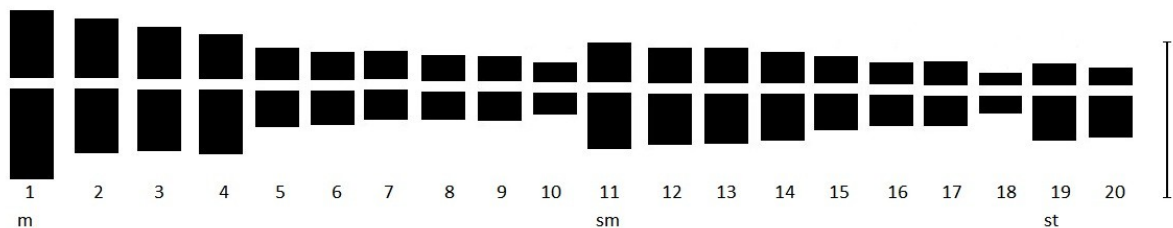


A espécie *C. benghalensis* apresentou $2n = 22$, enquanto *C. erecta* apresentou $2n = 60$ e *C. catharinensis* apresentou $2n = 40$, que não havia sido descrito até esse momento.

4.4 DESCRIÇÃO DE IDIOGRAMAS DE *C. catharinensis* E *C. erecta*

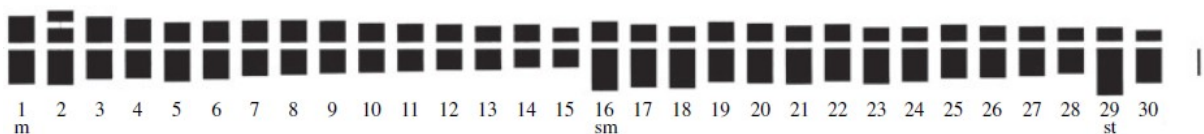
O idiograma de *C. catharinensis* apresenta 40 cromossomos, sendo 20 cromossomos metacêntricos, 16 submetacêntricos e 4 acrocêntricos ($20m + 16sm + 4st$), como apresentado na figura 3, construída com auxílio do software IDEOKAR.

Figura 3: Idiograma de *C. catharinensis*. Produzida pela autora. Escala: 10 μ m



Já *C. erecta*, segundo Grabiele *et al.* (2005), tem fórmula cariotípica de $30m + 26sm + 4st$, com um macrossatélite terminal nos braços curtos do par metacêntrico 2, como demonstrado na figura 4.

Figura 4: Idiograma de *C. erecta* (retirado de Grabiele *et al.*, 2005). Escala: 1 μ m 20



5 DISCUSSÃO

5.1 CULTIVO E ENRAIZAMENTO

As dificuldades de cultivo podem ser atribuídas a diversos fatores. Um dos prejuízos possíveis em relação ao crescimento e fixação de raízes deve-se a que o trabalho foi realizado em sua maioria entre os meses de abril a setembro, meses mais frios e secos em Florianópolis e na região litorânea catarinense, como apontado por Monteiro (2001), e em especial no ano de 2019, que houve uma estiagem recorde no estado (INMET, 2019; NOTÍCIAS UFSC, 2019).

É preciso considerar que a espécie *Commelina catharinensis* é uma planta endêmica, de restinga e sua população natural está semi sombreada, como demonstrado por Hassemer (2016a). Assim, a maior dificuldade de cultivo e enraizamento dessa espécie pode ser justificado pelo microclima, solo e fatores abióticos do ambiente natural, difíceis de serem reproduzidos em laboratório.

Portanto, serão necessários ajustes de cultivo para estudos posteriores com o gênero *Commelina* - principalmente com *Commelina catharinensis* - como adequação do solo, acesso à estufa, utilização de hormônios enraizadores para obtenção de material adequado para as lâminas de metáfase.

5.2 TRATAMENTOS ANTIMITÓTICOS E CORANTES

O tratamento com gelo não obteve células metafásicas, apesar dos bons resultados em certas gramíneas, como apontado por Guerra & Souza (2002). Portanto, os protocolos para tratamentos antimitóticos usados para gramíneas não pode ser aplicado em sua totalidade para outras famílias de monocotiledôneas, como as comelináceas, por exemplo.

Os antimitóticos colchicina 0,015% e a associação gelo + colchicina 0,015% também não foram satisfatórios em apresentar metáfases. A colchicina possui histórico de baixa eficiência em comparação a outros antimitóticos em células vegetais, além de ser potencialmente tóxica (SREE RAMULU *et al.*, 1991; MIRANDA, 2017). A baixa eficiência da colchicina poderia ser causada por baixa penetrância pelas paredes vegetais, uma vez que

esse reagente geralmente é utilizado e tem bons resultados em células animais (GUERRA & SOUZA, 2002). Ainda assim, a colchicina foi testada pois apresenta menor custo e já estava disponível em laboratório.

O tratamento de 8-hidroxiquinolina 0,04 M pode não ter funcionado pois o efeito de uma concentração maior pode ser a mesma de alta temperatura sob efeito de 8HQ: podem causar aderências entre cromossomos (GUERRA & SOUZA, 2002) e lise e/ou aderência celular.

Em relação à 8HQ 0,02 M, as raízes tratadas por 20-20h a 10°C; esse é o tratamento utilizado por diversos estudos de meristema radicular de monocotiledôneas (PITREZ *et al*, 2001; GRABIELE *et al*, 2009, 2012; ZAPPELINI, 2017). *Commelina benghalensis* apresentou melhor resultado em relação às outras duas espécies de *Commelina* (que obtiveram poucas metáfases nas lâminas); a metodologia utilizada para duas espécies podem necessitar de refinamento, como melhor horário de inserir as raízes no tratamento para cada espécie ou até mesmo conciliar a 8HQ com outros antimitóticos, como utilizado por Santos *et al*. (2013).

Quanto aos corantes, a utilização de Giemsa não obteve sucesso talvez pela concentração ou o tempo que foi deixado corante. Já aorceína 2% teve bons resultados, corando bem os cromossomos.

5.3 CARIÓTIPOS, IDIOGRAMAS E DIFERENCIAÇÃO ESPECÍFICA

A espécie *C. benghalensis* obteve $2n = 22$, em conformidade com Faden & Suda (1980), Owens (1981) e Grabiele *et al*. (2009), apontando que a metodologia empregada para a identificação de cromossomos está correta.

A espécie alvo *Commelina catharinensis* apresentou número cromossômico $2n = 40$ – primeiro número cromossômico descrito para a espécie, enquanto a espécie de que foi desmembrada, *Commelina erecta*, apresenta $2n = 60$, confirmado por Pitrez *et al*. (2001) e Grabiele *et al*. (2005). Além disso, a estrutura e morfologia dos cromossomos são bem diferentes entre as duas espécies: os cromossomos de *C. erecta*, além de mais numerosos, são menores e de tamanhos parecidos entre si, como demonstrado na figura 2b (cariótipo) e na figura 4 (idiograma). Já *C. catharinensis* possui cromossomos de tamanhos diversos, observáveis na figura 2c (cariótipo) e representado na figura 3 (idiograma).

Apesar de *C. erecta* ser a espécie mais próxima em aparência e estrutura, é improvável que essa espécie seja uma poliploidia de *C. catharinensis*, ou que uma seja uma variação da outra, levando em conta a grande diferença entre sua estrutura citogenética.

A separação das espécies também faz sentido morfológicamente. Segundo Hassemer *et al.* (2016a), as características fenotípicas de *C. catharinensis* se aproxima da espécie *Commelina rufipes* e *C. erecta*; porém, possui traços únicos marcantes que a diferencia de ambas, como demonstrado na tabela 2.

Tabela 2: Comparação de características relevantes taxonomicamente e distribuição de *Commelina catharinensis*, *C. erecta* e *C. rufipes* (adaptada e traduzida de HASSEMER *et al.*, 2016a).

	<i>C. catharinensis</i>	<i>C. erecta</i>	<i>C. rufipes</i>
Corola	amarelo-creme	azul, roxa e raramente branca	branca
Fruto	marrom claro, deiscente (abre)	marrom, deiscente	esbranquiçado, indeiscente (não abre)
Antera dos estames laterais	amarela	esbranquiçada no meio, lilás nas margens	amarela
Aurículas	ausentes	presentes	ausentes
Distribuição	endêmica do leste de Santa Catarina, sul do Brasil	pantropical	neotropical

Além disso, não foram encontradas espécies em simpatria estrita com *C. catharinensis*, apesar de haver populações de *C. erecta* em outras áreas de restinga próxima de onde *C. catharinensis* foi encontrada; ainda, não foi constatada nenhuma evidência de hibridização entre as duas espécies (HASSEMER *et al.*, 2016a), reforçando a hipótese de que *C. catharinensis* não se trata de uma variação de *C. erecta*.

É preciso levar em conta, ainda, que as plantas do gênero *Commelina* em geral possuem dados morfológicos confusos, plasticidade fenotípica e espécies sinônimas, além de espécies ainda sem dados citogenéticos, como *C. rebmanii* (LÉON-DE LA LUZ *et al.*, 2019);

isso se relaciona com o fato de que plantas possuem complexos de espécies, ou seja, espécies parecidas e dificilmente separáveis morfologicamente (UTSUNOMIA, 2013). Além disso, o conceito de espécie é dificultado, levando em conta a existência de híbridos férteis, mesmo com números cromossômicos diferentes entre as espécies parentais, como é discutido por Fioravanti (2018). Então, os dados morfológicos são de grande importância para a classificação taxonômica, mas não é suficiente para esclarecer esses complexos, principalmente em gêneros tão com características morfológicas tão plásticas como *Commelina*.

6 CONCLUSÕES

Os estudos citogenéticos apresentados aqui, em adição com os estudos morfológicos publicados anteriormente por Hassemer *et al.* (2016a), corroboram e reafirmam a separação de *C. catharinensis* de *C. erecta*. Entretanto, é importante salientar que as metáfases obtidas foram em pequenas quantidades e torna-se necessário o refinamento de metodologia e cultivo, levando em consideração os problemas apresentados nos itens 5.1 e 5.2, buscando obter maior quantidade de lâminas com cromossomo visíveis para dados mais robustos para publicação.

Assim, os dados de cariótipo podem ajudar a diferenciar espécies, mas é necessário levar em conta que *C. erecta* se trata de um complexo de espécies; seria necessário o estudo das espécies relacionadas do mundo todo para determinar o verdadeiro local e parentesco de *Commelina catharinensis* no complexo e também no gênero *Commelina*.

REFERÊNCIAS

- BURNS, J. H.; FADEN, R. B.; STEPPAN, S. J. Phylogenetic Studies in the Commelinaceae Subfamily Commelinoideae Inferred from Nuclear Ribosomal and Chloroplast DNA Sequences. **Systematic Botany**, [s.l.], v. 36, n. 2, p.268-276, 1 jun. 2011. American Society of Plant Taxonomists.
- ÉDER-SILVA, E.; FELIX, L. P.; BRUNO, R. de L. A. Citogenética de algumas espécies frutíferas nativas do nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 29, n. 1, p.110-114, abr. 2007. FapUNIFESP.
- EVANS, T. M. *et al.* Phylogenetic Relationships in the Commelinaceae: I. A. Cladistic Analysis of Morphological Data. **Systematic Botany**, [s.l.], v. 25, n. 4, p.668-691, out. 2000. JSTOR.
- EVANS, T.M. *et al.* Phylogenetic relationships in the Commelinaceae: II. A cladistic analysis of rbcL sequences and morphology. **Systematic Botany**, [s.l.],v. 28, p. 270–292, jun. 2003. JSTOR.
- FADEN, R. B.; SUDA, Y. Cytotaxonomy of Commelinaceae: chromosome numbers of some African and Asiatic species. **Botanical Journal Of The Linnean Society**, [s.l.], v. 81, n. 4, p.301-325, dez. 1980. Oxford University Press (OUP).
- FADEN, R. B.; HUNT, D. R. The classification of the Commelinaceae. **Taxon**, [s.l.], v. 40, n. 1, p.19-31, fev. 1991. Wiley.
- FADEN, R. B. Commelinaceae. In: KUBITZKI, Klaus. **The families and genera of vascular plants: Flowering plants, monocotyledons, Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)**. v. 4, p. 109-128. Berlim: Springer, 1998.
- FERNALD, M. L. A century of additions to the flora of Virginia. **Rhodora**, v. 133, p. 419-498, lâminas 627–649. 1940.
- FIORAVANTI, C.. Semelhança enganosa entre as espécies: Seres com aspecto similar nem sempre têm uma história evolutiva próxima. **Pesquisa Fapesp**, [s. l.], ed. 273, nov. 2018. Disponível em: <<https://revistapesquisa.fapesp.br/2018/11/19/semelhanca-enganosa-entre-as-especies/>>. Acesso em: 27 de dezembro de 2019.
- GRABIELE, M.; DAVIÑA, J. R.; HONFI, A. I. Chromosomes of four species of *Commelina* (Commelinaceae). **Botanical Journal Of The Linnean Society**, [s.l.], v. 148, n. 2, p. 207-218, jun. 2005. Oxford University Press (OUP).

GRABIELE, M. *et al.* Caracterización morfológica y cromosómica de *Commelina benghalensis* L. (Commelinaceae) de Argentina. **Gayana. Botánica**, [s.l.], v. 66, n. 1, p.18-27, 2009.

GRABIELE, M.; HONFI, A. I.; DAVIÑA, J. R. Cytotaxonomy of *Tripogandra diuretica* and *Tripogandra glandulosa* (Commelinaceae) from NE Argentina. **Plant Biosystems**, [s.l.], v. 146, n. 2, p.309-316, jun. 2012.

GUERRA, M.; SOUZA, M. J. de. **Como observar cromossomos**: Um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. Ribeirão Preto: FUNPEC, 2002. 182 p.

HASSEMER, G. Taxonomic and nomenclatural notes on neotropical *Commelina* (Commelinaceae), and an identification key for Brazil, Guyana, Paraguay, Suriname and Uruguay. **Phytotaxa**, [s.l.], v. 303, n. 2, p.101-117, 11 abr. 2017a. Magnolia Press.

HASSEMER, G. A clandestine in the flora of Brazil: *Commelina clandestina* (Commelinaceae). **Phytotaxa**, [s.l.], v. 323, n. 3, p.289-294, 3 out. 2017b. Magnolia Press.

HASSEMER, G. Taxonomic and geographic notes on the neotropical *Commelina* (Commelinaceae). **Webbia**, [s.l.], v. 73, n. 1, p.23-53, 2 jan. 2018a. Informa UK Limited.

HASSEMER, G. Typification of five neotropical species of *Commelina* (Commelinaceae). **Phytotaxa**, [s.l.], v. 350, n. 3, p.15-23, 23 maio 2018b. Magnolia Press.

HASSEMER, G. Further advances to the nomenclatural, taxonomic and geographic knowledge of the New World *Commelina* (Commelinaceae): toward a continental treatment. **Phytotaxa**, [s.l.], v. 400, n. 3, p.89-122, 5 abr. 2019. Magnolia Press.

HASSEMER, G *et al.* *Commelina catharinensis* (Commelinaceae): a narrow endemic and endangered new species from Santa Catarina, southern Brazil. **Phytotaxa**, [s.l.], v. 246, n. 1, p.49-60, 5 fev. 2016a. Magnolia Press.

HASSEMER, G *et al.* Identity and typification of *Commelina vilavelhensis* (Commelinaceae), and typification of *C. robusta* and *C. scabrata*. **Phytotaxa**, [s.l.], v. 260, n. 2, p.144-156, 11 maio 2016b. Magnolia Press.

HASSEMER, G.; IAMONICO, D.; FUNEZ, L. A. Proposal to conserve the name *Commelina erecta* (Commelinaceae) with a conserved type. **Taxon**, [s.l.], v. 67, n. 4, p. 810-811, 1 ago. 2018. Wiley.

IDEOKAR. Versão 1.2. University of Kurdistan, 2014. Disponível em: <<http://agri.uok.ac.ir/ideokar/index.html>> Acesso em: 7 de dezembro 2019.

INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. 2019. Disponível em: <http://www.inmet.gov.br/projetos/rede/pesquisa/gera_serie_txt_mensal.php?&mRelEstacao=83897&btnProcesso=serie&mRelDtInicio=01/04/2019&mRelDtFim=30/10/2019&mAtributos=,,,,,,1,,,1,,1,1,>>. Acesso em: 06 de janeiro de 2020.

HUNT, D. R. Commelinaceae. In: MCVAUGH, R. **Flora Novo Galiciana: Bromeliaceae to Dioscoreaceae**, v.15, p. 130-201. Michigan: Michigan Herbarium, 1983.

HUNT, D.R. Commelinaceae. In: DAVIDSE, G.; SOUSA-SÁNCHEZ, M.; CHATER, A. O. **Flora Mesoamericana**, v. 6, p. 157-173. Cidade do México: Universidad Nacional Autónoma de México, 1994.

JONES, K.; JOPLING, C. Chromosomes and the classification of the Commelinaceae. **Botanical Journal Of The Linnean Society**, [s.l.], v. 65, n. 2, p.129-162, abr. 1972. Oxford University Press (OUP).

LÉON-DE LA LUZ, J. L.; MEDEL-NARVÁEZ, A.; DOMÍNGUEZ-CADENA, R. Una nueva *Commelina* (Commelinaceae) de Baja California Sur, México. **Revista Mexicana de Biodiversidad**, [s.l.], v. 90, n. 1, p.1-8, 31 jul. 2019. Universidad Nacional Autónoma de Mexico.

LORENZI, H. **Manual de controle e identificação de plantas daninhas**. 5. ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 339 p.

MONTEIRO, M. A. Caracterização climática do estado de Santa Catarina: uma abordagem dos principais sistemas atmosféricos que atuam durante o ano. **Geosul**, Florianópolis, v. 16, n. 31, p.69-78, jan. 2001.

MIRANDA, D. P. **Otimização de protocolo para obtenção de cromossomos metafásicos de alta qualidade citogenética em meristemas radiculares de milho (*Zea mays*)**. 72 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Programa de Pós-graduação em Genética e Melhoramento, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2017.

Notícias UFSC. 2019. **Escassez de água: impactos e soluções diante das projeções de crise hídrica em Santa Catarina**. Disponível em: <<https://biocenoticista/2019/11/escassez-de-agua-impactos-e-solucoes-diante-das-projecoes-de-crise-hidrica-em-santa-catarina/>>. Acesso em 27 de nov. 2019.

OWENS, S. J. Self-incompatibility in the Commelinaceae. **Annals Of Botany**, [s.l.], v. 47, n. 5, p. 567-581, maio 1981. Oxford University Press (OUP).

PITREZ, S. R. *et al.* Números Cromossômicos de Espécies de Commelinaceae R. Br. Ocorrentes no Nordeste do Brasil. **Boletim de Botânica**, [s.l.], v. 19, p.7-14, 27 jun. 2001. Universidade de São Paulo.

SANTOS, G. R. dos *et al.* Análise quantitativa preliminar do antimitótico hidroxiquinoleína (8-HQ) combinado com ciclohexamida em células meristemáticas de plantas. **XIII Jornada de ensino, pesquisa e extensão – JEPEX**. UFRPE: Recife, 09 a 13 de dez. 2013.

SREE RAMULU, K.; VERHOEVEN, H. A.; DIJKHUIS, P. Mitotic blocking, micronucleation, and chromosome doubling by oryzalin, amiprofos-methyl, and colchicine in potato. **Protoplasma**, [s.l.], v. 160, n. 2-3, p.65-71, jun. 1991. Springer Science and Business Media LLC.

UTSUNOMIA, R. **Estrutura cromossômica e caracterização cariotípica no complexo de espécies *Synbranchus marmoratus* (Teleostei, Synbranchiformes, Synbranchidae)**. 76 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Genética, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2013.

ZAPPELINI, J. **Caracterização citogenética de três espécies de bambu nativas da América do Sul: *Guadua chacoensis* (Rojas) Londoño & P.M. Peterson, *Guadua angustifolia* Kunth e *Chusquea tenella* Nees (Poaceae)**. 100 p. Dissertação (Mestrado) - Curso de Recursos Genéticos Vegetais, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.