

**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO**  
**Carlos Alberto Reyes Maldonado**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA E MELHORAMENTO DE**  
**PLANTAS**

**DOUGLAS MACHADO LEITE**

**Caracterização cariotípica e conteúdo de DNA nuclear de espécies *Inga* Mill.  
(FABACEAE).**

ALTA FLORESTA  
MATO GROSSO – BRASIL  
FEVEREIRO – 2020

**DOUGLAS MACHADO LEITE**

**Caracterização cariotípica e conteúdo de DNA nuclear de espécies *Inga* Mill.  
(FABACEAE).**

Dissertação apresentada a UNIVERSIDADE DO  
ESTADO DE MATO GROSSO Carlos Alberto Reyes  
Maldonado como parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de  
Plantas, para obtenção do título de “Mestre”.  
Orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Isane Vera Karsburg

ALTA FLORESTA  
MATO GROSSO – BRASIL  
FEVEREIRO – 2020

Luiz Kenji Umeno Alencar CRB 1/2037

L533c	<p>LEITE, Douglas Machado. Caracterização Cariotípica e Conteúdo de Dna Nuclear de Espécies Inga Mill. (Fabaceae). / Douglas Machado Leite - Alta Floresta/Cáceres/Tangará da Serra, 2020. 60 f.; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim)</p> <p>Trabalho de Conclusão de Curso (Dissertação/Mestrado) - Curso de Pós-graduação Stricto Sensu (Mestrado Acadêmico) Genética e Melhoramento de Plantas, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Multicampi, Universidade do Estado de Mato Grosso, 2020. Orientador: Isane Vera Karsburg</p> <p>1. Citogenética. 2. Citometria de Fluxo. 3. Inga. 4. Leguminosas. I. Douglas Machado Leite. II. Caracterização Cariotípica e Conteúdo de Dna Nuclear de Espécies Inga Mill. (Fabaceae).: .</p> <p>CDU 582.736.1</p>
-------	---

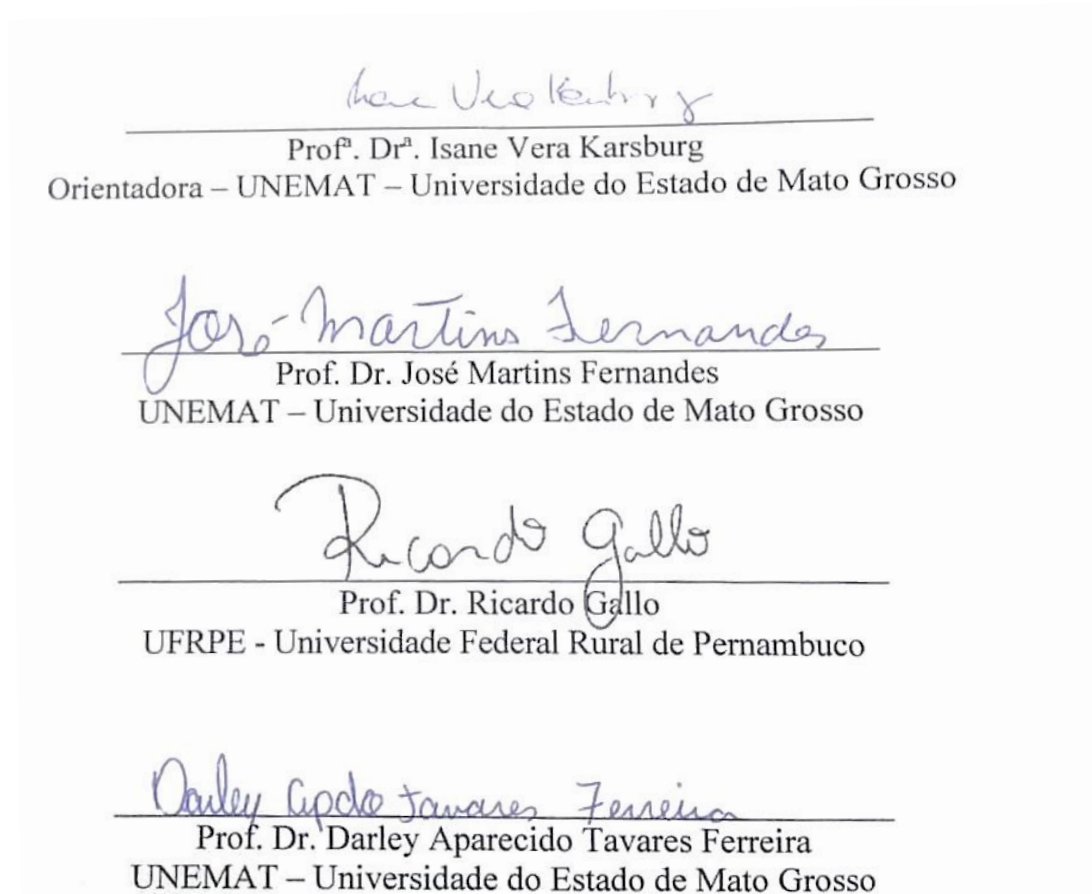
**Caracterização cariotípica e conteúdo de DNA nuclear de espécies *Inga* Mill.  
(FABACEAE).**

DOUGLAS MACHADO LEITE

Dissertação apresentada à UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO Carlos Alberto Reyes Maldonado como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, para obtenção do título de “Mestre”

Aprovado em 07 de fevereiro de 2020.

Comissão Examinadora:



À família

Dedico

Sonho com um dia que tenhamos a coragem,  
mais do que respeitar, tenhamos coragem de  
apoiar as diferenças. “sic” Lorelay Fox

## AGRADECIMENTOS

A Deus

À nordestina mais arretada que conheço, minha mãe, Maria do Socorro, a meu pai, Wilson, e aos amores da minha vida, minhas irmãs Rita e Estefani.

À Professora Dr<sup>a</sup> Isane Vera Karsburg, por ser sempre mais que uma orientadora, uma amiga/irmã, por acreditar e sempre dar ânimo nessa jornada nada fácil. GRATIDÃO Prof.

Aos meus irmãos de laboratório, Weslaine, Cyntia, Leila, Zélia, Neisa, Carlos, Zelda, Kaori, Carine, Jéssica, Mara, Flavio, Bruna, Sueli, Josecleide, Ligia, Prof<sup>a</sup> Juliana, Maiara, Lucimar, João, Luiz, Tiago, Marceliana, Rute, Tatielen, Ton, Guilherme, Debora, Rafael, Iza, Cida, Aline, Vanessa, Débora, aos amigos Edimar, Samiele, Jô, João, Belinha e a todos que contribuíram de alguma forma para meu crescimento pessoal e profissional.

Gratidão à Lindsay por todo auxílio no decorrer deste trabalho.

Gratidão aos amigos de Cáceres, Nilo e Claudeir, ao amigo Julio de Sinop pela estadia e a todos que tive o grande prazer de conhecer nessa jornada.

Agradeço aos amigos de Viçosa, Jéssica, pelo auxílio nessa pesquisa, Vinicius e Bruna, pela estadia.

Gratidão aos professores Dr. José Martins pela identificação das espécies, Dr. Wellington Clarindo pela análise de citometria, à futura mestre Catiane Braga pelo auxílio nas análises estatísticas e ao Dr. Nilo Sander pela auxílio nos mapas. Obrigado a todos vocês pela indispensável contribuição nesse trabalho.

Aos professores, Dr. Darley Aparecido Tavares Ferreira, Dr Ricardo Gallo e Dr. José Martins Fernandes, por aceitarem compor a banca de qualificação, agregando conhecimento a este estudo.

A todo o corpo docente e colegas de turma (“Pétalas”) do Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas (PGMP). Às secretárias do PGMP Viviane e a Rosimeire, que nos auxiliaram nessa jornada. À coordenadora Dr<sup>a</sup> Isane por se dedicar ao nosso programa de pós-graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 00.

A Universidade do Estado de Mato Grosso pela oportunidade e apoio.

## BIOGRAFIA

Douglas Machado Leite, filho de Maria do Socorro Machado Leite e Vilson Ferreira Leite, natural de São José dos Quatro Marcos, Técnico em Informática pela Escola Estadual Deputado Bertoldo Freire e Bacharel em Engenharia Florestal pela Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, Campus de Alta Floresta. Atuou como Bolsista de Iniciação científica no Laboratório de Tecnologia da Madeira em 2013 e no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais 2014 e 2016. Trabalhou com anatomia da madeira, citogenética e propagação *in vitro* e *ex vitro* de orquídeas. Ingressou no Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, mestrado, sob a orientação da Dr<sup>a</sup> Isane Vera Karsburg na linha de pesquisa de Biotecnologia e recursos genéticos vegetais. Submeteu em fevereiro de 2020 a defesa da dissertação no Campus II, UNEMAT - Alta Floresta, Mato Grosso. Aprovado na seleção de Doutorado da UFLA 2020/01.



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	2
2.1 - GÊNERO <i>Inga</i> .....	2
2.1.1 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO GÊNERO .....	4
2.1.2 - EVOLUÇÃO E TAXONOMIA .....	5
2.4 - IMPORTÂNCIA ECONÔMICA .....	5
2.5 –MORFOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.....	7
2.5.1 – <i>Inga edulis</i> Mart.....	7
2.5.2 – <i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd .....	9
2.5.3 – <i>Inga macrophylla</i> Humb. & Bonpl. ex Willd.....	11
2.5.4 – <i>Inga nobilis</i> Willd.....	13
2.5.5 – <i>Inga pilosula</i> (Rich.) J.F.Macbr .....	14
2.6 – CITOGENÉTICA.....	16
2.7 - CARIÓTIPOLOGIA DO GÊNERO.....	19
2.8 – CITOMETRIA DE FLUXO .....	20
<b>3. MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	22
3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL.....	22
3.2 - PREPARO DAS RAÍZES E OBTENÇÃO DAS METÁFASES.....	23
3.3 - CONFECÇÃO DAS LÂMINAS .....	24
3.4 - ANÁLISE DOS CROMOSSOMOS .....	24
3.5 - DIVERSIDADE GENÉTICA.....	25
3.6 – CITOMETRIA DE FLUXO .....	26
3.6.1 – Processamento e Quantificação do DNA.....	26
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	27
4.1 – NÚMERO CROMOSSÔMICO E CONTEUDO DE DNA.....	27
4.2 – MORFOMETRIA E ÍNDICE DE ASSIMETRIA CROMOSSÔMICA.....	31
4.3 – DIVERSIDADE GENÉTICA .....	39
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	40
REFERÊNCIAS .....	42

## RESUMO

LEITE, Douglas Machado; M. Sc; UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO Calos Alberto Reyes Maldonado; Fevereiro de 2020 **Caracterização cariotípica e conteúdo de DNA nuclear de espécies *Inga* Mill (FABACEAE).** Professora Orientadora: Isane Vera Karsburg.

A cariotipagem e o conhecimento do conteúdo nuclear são úteis para seleção de indivíduos para melhoramento, citotaxonomia e para entender os aspectos evolutivos dos. Contudo, só se tem relato do número cromossômico para menos de 10% das espécies do Gênero e, tratando do conteúdo de DNA nuclear, este só se tem descrição de apenas uma espécie. Deste modo, o objetivo deste trabalho foi caracterizar citogeneticamente cinco espécies do gênero *Inga* Mill por meio da determinação do número cromossômico, morfometria, índice de assimetria, e quantificação do conteúdo de DNA nuclear, contribuindo para citotaxonomia, fornecendo informações citogenéticas básicas e dados para uso na seleção de indivíduos ao melhoramento e possíveis estudos evolutivos do gênero. As sementes de *Inga macrophylla* Humb. & Bonpl. ex Willd foram cedidas pelo Instituto Ouro Verde (IOV) e as sementes de *Inga edulis* Mart., *Inga laurina* (Sw.) Willd, *Inga nobilis* Willd e *Inga pilosula* (Rich.) J.F.Macbr foram coletadas no município de Alta Floresta – MT. As metáfases mitóticas foram oriundas dos meristemas radiculares, a determinação do número e morfometria cromossômica foi obtida por meio de técnicas de citogenética clássica. Com a citometria de fluxo, foram adquiridos os valores de conteúdo de DNA 2C nuclear. Obteve-se 14 variáveis advindas da caracterização citogenética e do conteúdo de DNA, as quais foram utilizadas no cálculo da diversidade genética. A citogenética proporcionou visualizar de forma clara os cromossomos permitindo sua quantificação. A citometria apresentou valores precisos, apresentando CV menor que 5%. Os resultados obtidos para cada espécie foram *Inga edulis* 2n= 28 com 2,44pg, *Inga laurina* 2n=36 com 4,59pg, *Inga nobilis* 2n=28 com 1,93pg, *Inga macrophylla* 2n=30 com 2,43 pg e *Inga pilosula* com número cromossômico 2n=26 e conteúdo de DNA 5,13pg. Os resultados encontrados divergem da literatura quanto ao número cromossômico, e somente *I. pilosula* corrobora com o número básico, n=13, proposto para o gênero. Com base nesses dados, as cinco espécies foram divididas em dois grupos pela análise de agrupamento utilizando o método UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages), em que *Inga nobilis* compôs um grupo distinto dos demais, sendo a mais distinta entre as espécies estudadas.

**Palavras chaves:** Citogenética, Citometria de fluxo, Leguminosas, *Inga*.

## ABSTRACT

LEITE, Douglas Machado; M. Sc; UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO Calos Alberto Reyes Maldonado; February 2020 **Karyotype characterization and nuclear DNA content of species of *Inga* Mill (FABACEAE).**  
Major Professor: Isane Vera Karsburg.

Karyotype analysis and the knowledge on nuclear content are useful for the selection of individuals for breeding and cytotaxonomy and for understanding their evolutionary aspects. However, less than 10% of the species in this Genus have reports on their chromosome number and only one species have descriptions of its nuclear DNA content. Therefore, this work aims at the characterizing cytogenetically five species of *Inga* Mill by determining their chromosome number, morphometry and asymmetry index, as well as quantifying their nuclear DNA content. Furthermore, this work contributes with cytotaxonomy, providing basic cytogenetic information for the selection of individuals for breeding and possible evolutionary studies on the genus. The seeds of *Inga macrophylla* Humb. & Bonpl. Ex Willd were granted by Instituto Ouro Verde (IOV), and the seeds of *Inga edulis* Mart., *Inga laurina* (Sw.) Willd, *Inga nobilis* Willd, and *Inga pilosula* (Rich.) J.F. Macbr were collected in the city of Alta Floresta – MT. The mitotic metaphases were taken from the root meristems. The number and the morphometry of the chromosomes were obtained by classic cytogenetic techniques. The values of nuclear 2C DNA content were obtained by flow cytometry. Out of these studies, 14 variables were obtained and used for the calculation of genetic diversity. Cytogenetics made it possible for the clear visualization and quantification of the chromosomes, and cytometry provided precise values at a CV lower than 5%. The results obtained for each species were: *Inga edulis* 2n = 28 chromosomes and 2.44pg of DNA content; *Inga laurina* 2n = 36 chromosomes and 4.59pg of DNA content; *Inga nobilis* 2n = 28 chromosomes and 1.93pg of DNA Content; *Inga macrophylla* 2n = 30 and 2.43pg of DNA content; and *Inga pilosula* 2n = 26 and 5.13pg of DNA content. The results found in this work differ from the ones in literature regarding chromosome number, since only *I. pilosula* fits the basic number proposed for the genus. Based on these data, the five species were divided into two groups using the group analysis and method UPGMA (Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages), and *Inga nobilis* remained alone in a group, being the most different species in this study.

**Keywords:** Cytogenetics, Flow cytometry, Leguminosae, *Inga*.

## 1. INTRODUÇÃO

O gênero *Inga* reúne plantas com alto valor ornamental e florestal. A grande diversidade de frutos é fonte de alimento para diversas espécies da fauna silvestre, podendo ser utilizados em consórcios para sequestro de carbono.

As espécies desse gênero apresentam simbiose com bactérias fixadoras de nitrogênio, tendo sua propagação por via seminal em que as sementes, por serem do grupo recalcitrante, não suportam longos períodos de armazenamento, podendo ocorrer a viviparidade, na qual as sementes germinam ainda dentro dos frutos por haver elevado teor de umidade e/ou reduzida presença de inibidores (EHRENBERGEROVÁ et al. 2015; FONSECA & FREIRE, 2003).

O tegumento é adocicado e envolve o embrião. A madeira apresenta baixa qualidade e pode ser utilizada na caixotaria. O gênero apresenta centro de dispersão amazônico, contudo, o maior endemismo é verificado na mata atlântica (MATA, 2009).

A citogenética de espécies florestais é importante na classificação, e, posteriormente, condução de estudos sobre cruzamento em possíveis programas de melhoramento. Tendo em vista que este tipo de estudo possui ainda grandes lacunas quando comparada a espécies agronômicas. O conhecimento dessas informações possibilita que as espécies sejam incluídas em programas de conservação a fim de estudar cromossomos, sejam eles na forma isolada, em conjunto, condensados e distendidos, verificando sua variação em número, organização e morfologia (LUBKE, 2016).

Com isso, a citogenética permite também a identificação de polimorfismo em número ou estrutural, dentro ou entre cariótipos, utilizado ainda para descrever variedades possibilitando maior eficiência na seleção de materiais (BENKO-ISEPPON, 2001).

A cariotipagem é um estudo de grande relevância que permite estabelecer maior confiabilidade aos dados citológicos encontrados. Aliado a esse estudo, a verificação do conteúdo de DNA nuclear por meio da citometria de fluxo permite acurácia na caracterização do genoma, contribuindo também para os estudos taxonômicos, evolutivos e de melhoramento, além de ser um método prático e rápido para quantificar o DNA nuclear em plantas (DOLEZEL E BARTOS, 2005; NASS, 2007; CARVALHO et al., 2009, MITRE, et al., 2010; SUDA E LEITCH 2010).

Os estudos citogenéticos para o gênero *Inga* são escassos. O número básico atribuído ao gênero é de  $x = 13$ . Também há relatos de indivíduos tetraploides e octaploides. Os primeiros registros do número cromossômico para espécies de *Inga* foram realizado por Shibata (1962), observando  $2n = 26$  em *I. spuria* Humb.& Bonpl. ex Willd. (*I. vera* Willd.) e *I. edulis* (MATA, 2009).

Em *Inga*, os estudos a respeito do número cromossômico se limitam a menos de 10% das espécies do gênero (MATOS, 2009; MATA, 2009). Destes, menos de 1% trazem resultados a respeito da morfometria e classificação dos cromossomos, estabelecendo o kariograma para as espécies. As informações são ainda mais escassas a respeito do tamanho do genoma nuclear, que só está determinado para apenas uma espécie *Inga dulcis* (Roxb.) Willd. (OHRI, 2004).

A fim de fornecer informações citogenéticas básicas, o objetivo deste trabalho foi caracterizar citogeneticamente cinco espécies do gênero *Inga* por meio da determinação do número cromossômico, morfometria, índice de assimetria e quantificação do conteúdo de DNA nuclear, contribuindo para citotaxonomia ao fornecer informações citogenéticas básicas e dados para uso na seleção de indivíduos para o melhoramento e possíveis estudos evolutivos do gênero.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 - GÊNERO *Inga*

As Fabaceas representam uma das famílias mais diversas e numerosas, possuindo cerca de 766 gêneros, e 19.580 espécies (MOBOT, 2020). Destas, muitas são conhecidas pela associação a bactérias fixadoras de nitrogênio e a ectomicorrizas, sendo amplamente utilizadas em sistemas agroflorestais como exemplo *Leucaena leucocephala* (Lam.) deWit (Leucena), *Cajanus cajan* (L.) Millsp (feijão-guandu) e *Andira surinamensis* (Bondt) Splitg. Ex Pulle. (angelim), contribuindo por conseguinte na adubação verde, recuperação do solo e como biorremediadoras (OLIVEIRA et al., 2009; FERNANDES, 2007)).

O gênero *Inga* Mill. representa cerca de 300 espécies com centro de diversidade brasileiro, sendo 131 de ocorrência nacional. Destacam-se pelo papel fundamental na manutenção da vegetação ciliar, uso na agricultura familiar como fonte de matéria prima, alimento, além de muitas espécies serem utilizadas também como fitoterápicos (PENNINGTON, 1997; GARCIA & FERNANDES, 2015).

Ocorrem em todo território nacional com destaque à Amazônia, com 92 espécies, Mata Atlântica, com 48 espécies e Cerrado, com 20 espécies, sendo que 51 ocorrem apenas no Brasil. Em Mato Grosso foram catalogadas 21 espécies, contudo, há restritos estudos a respeito, sobretudo na região norte onde há áreas de domínio amazônico (GARCIA & FERNANDES, 2015; FERNANDES et al., 2015).

Algumas espécies desse gênero são utilizados na pratica da adubação verde contribuindo não só na melhora das características físicas químicas e biológicas do solo, na alimentação humana e de animais, na construção, utilizadas como lenha e na fabricação de cercas. Entre elas, temos *I. edulis*, *I. laurina*, *I. cylindrica*, *I. subnuda* e *I. sessilis*, o que demonstra a contribuição do gênero a fim de se atender as necessidades no campo (FERNANDES, 2007).

O gênero compreende plantas que vão de árvores a arvoretas inermes. Ramos são cilíndricos ou estriados, folhas pinadas com nectários foliares presentes na raque entre os folíolos. Apêndice terminal geralmente presente, raque foliar geralmente alado raramente marginado, ou sem ala. Os folíolos são simétricos, opostos à nervura principal central.

A morfologia floral é bem característica em *Inga* o que a permite ser utilizada na classificação do gênero. Apresenta inflorescência em racemos, capituliformes, espiciformes ou umbeladas, podendo ser axilares ou terminais, flores sésseis ou pediceladas, 5-7 mera, homomórficas, cálice valvar, lacínias regulares ou irregulares, corola valvar, lacínias regulares, androceu com mais de dez estames, polistêmone que varia de 25 e 270 estames. A base dos filetes formam um tubo, antera sem glândulas, gineceu uni ou pluricarpelar, ovário súpero, séssil ou subséssil. O filete é filiforme, glabro, comumente mais longo que estames. O estigma é terminal pequeno, capitado, constituído por um orifício.

A formação de sementes é marginal, com óvulos em duas linhas, fruto do tipo legume indeiscente ou tardiamente deiscente. Polispémico, faces abertas ou coberta pelas margens, margens estreitas ou espessas, com ou sem estrias longitudinais, coriáceos, papiráceos, ou lenhoso, sementes com sarcotesta carnosa, adocicada, comestível, pleurograma ausente (GARCIA & FERNANDES, 2015; BARNEBY e GRIMES, 1996; GARCIA, 1998).

A presença de sarcotesta e a ocorrência de sinapomorfias moleculares amparam a formação de *Inga* como um grupo monofilético. A nomenclatura do gênero derivada do indígena tupi, Angá, que significa “que tem semente envolvida”.

Apresenta distribuição unicamente neotropical, porém, fósseis. Atribuídos ao gênero, foram identificados na Europa, América do Norte e África, apresentando grande importância ecológica por fornecer pólen, néctar, frutos e sementes para a fauna local (RAGUSA-NETTO & FECCHIO, 2006). Por ser um gênero rico em espécies, torna-se importantes para testar padrões de diversificação da vegetação em florestas tropicais e neotropicais, além de ser componente lenhoso valioso na quantificação da biomassa da floresta (RICHARDSON et al., 2001; PENNINGTON, 1997).

Segundo dados de sequenciamento, a diversificação de *Inga* é recente, concentrando-se nos últimos 2 milhões de anos, o que coincide com as recentes elevações dos Andes, o Istmo do Panamá e os ciclos glaciais, que ocorreram no período Quaternário. O gênero ainda pode ser representante da diversificação neotropical (RICHARDSON et al., 2001).

Quando a diversidade encontrada é recente, o mais provável é que haja várias substituições de nucleotídeos entre as espécies, resultado de uma origem graduada do ancestral comum recente. Caso seja a substituição de nucleotídeos que permita, a divergência entre as espécies é menor, de modo que a árvore possui galhos curtos, nos quais a diversificação começou recente (RICHARDSON et al., 2001).

Em análise de parcimônia de 45 espécies de ingá, utilizando os marcadores trnL-F e ITS, o resultado foi um grupo monofilético comparado, a outras leguminosas que apresentam revestimento carnosos. Para ambos os genes, a principal característica é o pequeno número de substituições de bases entre as espécies em consonância com a hipótese da recente especiação (BAJPAI e GINGERICH, 1998; O'LEARY e GEISLE, 1999; RICHARDSON et al., 2001).

### 2.1.1 - DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA DO GÊNERO

De ocorrência neotropical, o gênero está distribuído por toda América do Sul e Central, desde de o Uruguai até o Sul do México, ocorrendo em uma vasta diversidade de habitats. Há registro de ocorrência a cerca de 3.000 metros de altitude, sendo que, das 300 espécies descritas, cerca de 50% ocorrem em áreas úmidas não alagadas. São divididas em sete áreas fitogeográficas de ocorrência: área 1 - México, compondo Guatemala, Belize e Honduras; área 2 - região sul da

américa central; área 3 - região oeste da América do Sul; área 4 - Brasil; área 5 - Venezuela e Guianas; área 6 - costa brasileira e; área 7 - área Antilhas e Bahamas (RICHARDSON et al., 2001; PENNINGTON, 1997).

No Brasil, foi registrada a ocorrência em diversos ambientes. Segundo dados do Flora do Brasil, as espécies do gênero ocorrem em todos os domínios fitogeográficos brasileiros, com maior diversidade nas regiões de domínio amazônico e de floresta Atlântica (Flora do Brasil, 2020).

No Mato Grosso, as espécies ocorrem no pantanal, cerrado e floresta amazônica, tendo sido registrado em áreas de floresta alagável ou sazonalmente alagável, floresta semidecidual degradada, vegetação ribeirinha, floresta de vale, mata ciliar, floresta ombrófila aberta e aluvial, áreas alteradas e margens de estradas, floresta de várzea, floresta estacional semidecídua e de terra firme, cambarazal, floresta estacional aluvial e floresta ombrófila aberta. O registro de ocorrência em lugares distintos mostra a plasticidade e a grande distribuição do gênero (DE DAVID et al., 2015; Flora do Brasil, 2020).

### 2.1.2 - EVOLUÇÃO E TAXONOMIA

O termo “ingá” possui origem tupi e é utilizado para descrever as plantas que compõem a alimentação indígena dos tupis na Paraíba e Pernambuco. Descrito por Marcgrave em 1648, já Plumier, com base no material de Marcgrave, fez uso do termo em 1703 designando o gênero que foi firmado por Linnaeus em 1735, compondo espécies citadas em ambos os estudos que o antecederam. Posteriormente Miller, em 1754, reorganizou o termo *Inga*, que foi se estabelecendo em estudos posteriores.

Em 1806, Willdenow determinou *Inga vera* Willd como espécie tipo para o gênero. O termo *Inga* se estabeleceu e sofreu várias classificações e reclassificações infragenéricas. A última revisão taxonômica realizada foi em 1997 por Pennington, que subdividiu em 14 seções, em que reconheceu aproximadamente 300 espécies, destas, 253 efetivamente descritas, sendo que 30 delas foram a primeira descrição (MATA, 2009).

### 2.4 - IMPORTÂNCIA ECONÔMICA



O gênero *Inga* possui diversas espécies que apresentam grande valor nutricional como plantas PANC (Plantas Alimentares não Convencionais), sendo por isso indicado ao consumo na forma de doces, geleias, bolos, cremes e sucos. A maioria das espécies do gênero permite a realização dessas receitas (KINUPP & LORENZI, 2014), assim como há várias espécies que apresentam grande potencial para uso como complemento da alimentação animal em períodos de estiagem.

Segundo alguns estudos, o *Inga* apresenta espécies que possuem fins medicinais, podendo ser usadas na produção de fármacos, uma vez que são capazes de agir no tratamento de dores de ouvido, feridas, descongestionante nasal, antiartrítica e reumática, antidiarréico e inflamatório. *I. edulis* Mart, por exemplo, apresenta propriedades particulares como efeito antioxidante e na prevenção contra a oxidação da LDL (lipoproteína de baixa densidade.) (LORENZI, 1998; SILVA et al., 2007).

Ainda no que consta aos benefícios, o *I. vera* Willd é capaz de inibir a xantina oxidase, assim como alta capacidade de sequestro de radicais livres, sendo os ácido gálico e elágico os principais responsáveis por essa propriedade (VIVOT et al., 2001; SOUZA et al., 2007), assim como foi verificada no *I. umbratica* Poepp. & Endl. a capacidade inibitória contra a tripsina e a quimotripsina e alta atividade hemolítica (CALDERON et al., 2001). Já a espécie *I. umbelífera* (Vahl) DC. demonstrou atividade inibitória no crescimento de larvas de *Heliothis*, atribuída aos monômeros e polímeros de flavan-3-óis, que representam 30% da massa seca das folhas jovens (LOKVAN E KURSAR, 2001).

O extrato hidroalcoólico de folhas de *I. edulis* apresentou elevado teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante assim como atividade antiulcerogênica (POMPEU, 2012). Em *I. laurina*, foi encontrado um novo complexo de saponina triterpenoide, ingasaponin que exibiu significativa atividade apontando uso em formulações de vacinas (CRUZ et al., 2016). Contudo os estudos do ponto de vista químico e farmacológico para o gênero ainda são poucos diante da grande variedade de espécies do grupo (LIMA et al., 2018).

Das folhas de várias espécies do gênero *Inga* podem ser isolados diversos compostos fenólicos, como ácido gálico, catequina, epicatequina, miricetina entre outros que estão diretamente ligados à defesa contra herbívora, ação antioxidante e características favoráveis para a manipulação de óleos essenciais (CORREA, 1995).

Em sistemas agroflorestais (SAF's), o uso de *Inga* contribui para adubação e cobertura do solo, apresentando rápido crescimento, copa geralmente ampla e densa e alta produção de biomassa, que são características de diversas espécies de ingá, como *I. edulis*, *I. laurina*, que também apresentam resiliência à poda (SOUZA, 2012; FRANCO et al., 2003; ABIB, 2017).

Essas espécies contribuem também na segurança alimentar (produção de frutos para comercialização e alimentação humana e animal), fornecem matéria prima para construção, assim como agem para a conservação de recursos genéticos (SOUZA, 2012; FRANCO et al., 2003; ABIB, 2017). Podem também ser introduzidas em consórcio com outras espécies arbóreas quando essas necessitam de um microclima específico para crescer, uma vez que, apresentam crescimento rápido, e algumas espécies de *Inga* com dois a três anos já conseguem fornecer microclima favorável para o crescimento de outras espécies (KUMAR E NAIR, 2004; MILLER et al., 2006).

Muitas espécies do gênero apresentam interação simbiótica com bactérias fixadoras de nitrogênio, sendo importante nos sistemas agroflorestais pois se trata de uma forma, com baixo custo, de incorporar nitrogênio por meio das bactérias presentes nas raízes dessas arvores, regenerando áreas degradadas ou com déficit mineral principalmente na região amazônica, onde a fertilidade está intimamente ligada à matéria orgânica presente (ABIB, 2017; CAMPOS e SARTORELLI, 2015)

## 2.5 –MORFOLOGIA E DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA.

### 2.5.1 – *Inga edulis* Mart.

Árvores de 7-13 m altura; ramos jovens tomentosos. Estípulas com 4-7 mm de comprimento, lanceoladas ou filiformes; pecíolo com 1,5-5 cm de comprimento, alado ou não alado. Raque entre 4,5-15,5 cm comprimento, alado, 4-14 mm largura. Nectários sésseis, cupuliformes, compressos, elípticos ou estreitamente oblongos. Folíolos entre 3-5 pares, de 6-18x3-8,5 cm, elípticos ou ovados, ápice acuminado ou atenuado, base obtusa a aguda, faces adaxial e abaxial seríceas a esparso-seríceas (FERNANDES, 2011).

Unidades de inflorescências espiciformes isoladas ou fasciculadas, axilares. Pedúnculo com 1,5-5 cm comprimento, raque com 2-8 cm comprimento, brácteas com 5-7 mm comprimento, ovadas, caducas. Flores sésseis ou subsésseis, cálice

8-10 mm comprimento, tubuloso, seríceo. Corola com 13-20 mm comprimento, infundibuliforme, serícea; androceu 55-100 estames, 36-50 mm comprimento, tubo 15-24 mm comprimento, incluso, brancos; disco nectarífero presente; ovário 2,5-3 mm comprimento, glabro (FERNANDES, 2011).

Frutos entr 9-28 x 1-1,5 cm, lineares, margens expandidas, sulcados, faces cobertas, secção transversal cilíndrica, tomentosos; 5-14 sementes, 13-17x6-7 cm, elípticas a oblongas (FERNANDES, 2011).

Conhecida como ingá metro, ingá timbó, ingá doce, ingá macarrão ou ingá de mico (Figura 1), nativa do Brasil, está distribuída pela Amazônia, caatinga, mata atlântica e cerrado. Geralmente associadas a florestas pluviais, possui porte arbóreo e é amplamente utilizada por apresentar frutos comestíveis. Produz sombra, sendo que sua madeira, por poder ser destinada à lenha, é um ótimo componente para restauração florestal,. Essa espécie pode alcançar 25 m de altura com copa vasta e baixa, floresce de novembro a fevereiro, e frutifica entre os meses de julho a novembro (LORENZI, 2002; GARCIA & FERNANDES, 2015; POSSETE et al. 2010; FLORA DO BRASIL, 2020).

Utilizada por populações tradicionais amazônicas, amplamente cultivada em consórcios com abacaxi, mandioca café e outras frutíferas, a copa larga e desenvolvida proporciona sombreamento em plantios mistos. Possui arilo comestível e podendo ser encontrados frutos com até 2 m de comprimento (variedade melhorada por índios sulamericanos).

Seu ciclo de cultivo dura de 10 a 12 anos, podendo apresentar oito florações anuais. As folhas possuem nectários que atraem formigas, já os frutos apresentam potencial forrageiro ao gado. A madeira pode ser utilizada para caixotaria, uso de lenha ou carvão, bem como os frutos vêm a ser comercializados em feixes em mercados e feiras (SOUZA, 2012)

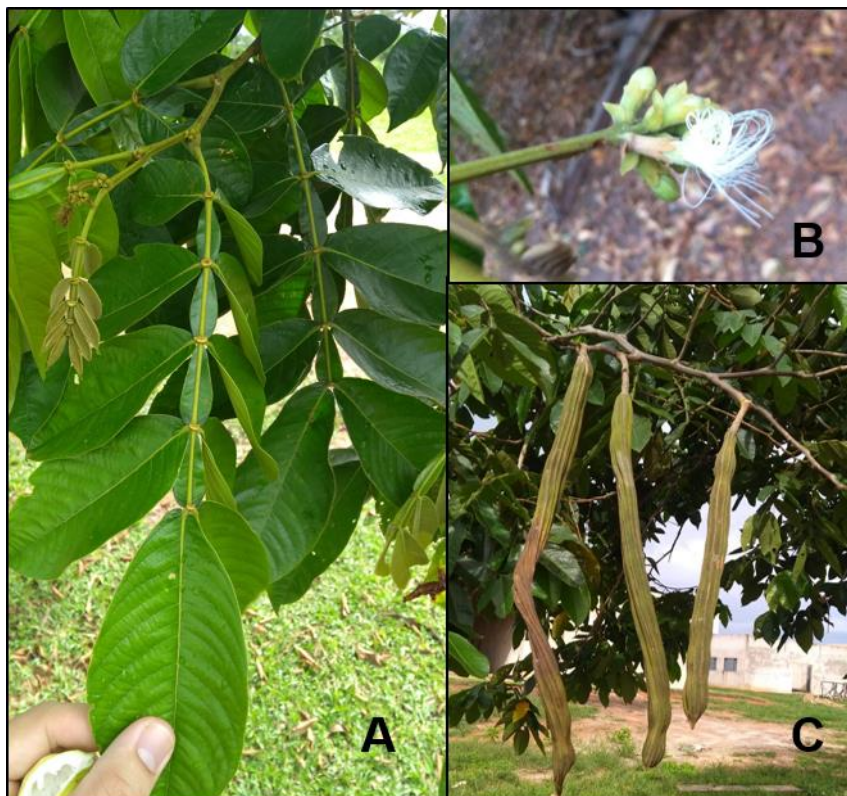


Figura 1 – Folha (A), flor e botões florais (B) e frutos (C), de *Inga edulis*. Foto: o autor e Saulo, Instituto Ouro Verde.

### 2.5.2 – *Inga laurina* (Sw.) Willd

*Inga laurina*, também chamado de ingá mirim, ingá feijão, ingá branco ou ingá de praia, ocorre desde a América Central até o norte da Argentina, principalmente em planícies.

Registrado em vegetação pluvial, rupestre ou floresta estacional, possui importância ornamental e florestal, além de produzir grande sombra. A germinação de suas sementes ocorre cerca de 10 dias após o plantio e seus frutos são fonte de alimento para humanos e animais.

Assim como *I. laurina* muitas espécies do gênero não suportam grandes períodos de armazenamento e ainda pode ocorrer viviparidade, em que a germinação ocorre ainda com o legume fechado em estágio de maturação (PENNINGTON, 1997; FONSECA & FREIRE, 2003; SOUZA & LORENZI, 2005).

A árvore de *I. laurina* (Figura 2) pode variar de 2-18m altura sendo seus ramos jovens glabrescentes. Possui estípulas entre 3-7 mm comprimento, lineares ou lanceoladas; pecíolo de 0,7-1,6 cm comprimento, marginado; raque 2,5-4 cm comprimento, não alada, raramente marginado, com 0,5-1,2 mm largura. Nectários

sésseis, pateliformes, circulares; folíolos 2 pares, 3-18x1,3-8 cm, elípticos ou obovados, com ápice acuminado ou obtuso, base aguda a obtusa, assimétrica, faces adaxial e abaxial glabras (FERNANDES, 2011).

As unidades de inflorescências são espiciformes, ramifloras, axilares; tendo pedúnculo com 2-3,5 cm comprimento; raque 5,5-11 cm comprimento; brácteas 0,5-0,8 mm comprimento, espatuladas, caducas; flores sésseis ou subsésseis; cálice 1,5-3,5 mm comprimento, campanulado, esparso seríceo; corola 7,5-11 mm comprimento, infundibuliforme, glabrescente com lóbulos seríceos; androceu 45-62 estames, 17-19 mm comprimento, tubo 8,5-10,5 mm comprimento, excerto, brancos; disco nectarífero ausente; ovário 1,2-1,5 mm comprimento; esparso-seríceo ou seríceo (FERNANDES, 2011).

Os frutos medem de 4-10 x 2-3,2 cm, oblongos ou estreitamente oblongos, retos ou falcados, subcilíndrico. As margens não são expandidas nem constrictas entre as sementes glabrescentes, gerando entre 1-7 sementes, 12-14x4-7 mm, estreito oblonga a obovadas (FERNANDES, 2011).

É uma espécie neotropical tolerante a regiões de cerrado e campos secos, mas ocorre também em áreas de planície litorânea. Existe registros de sua presença em 16 estados e no Distrito Federal, abrangendo os domínios Amazônico, Caatinga, Cerrado e Floresta Atlântica, Seus frutos são curtos e roliços, além de possuírem arilo comestível (FERNANDES, 2011, PENNINGTON, 1997).

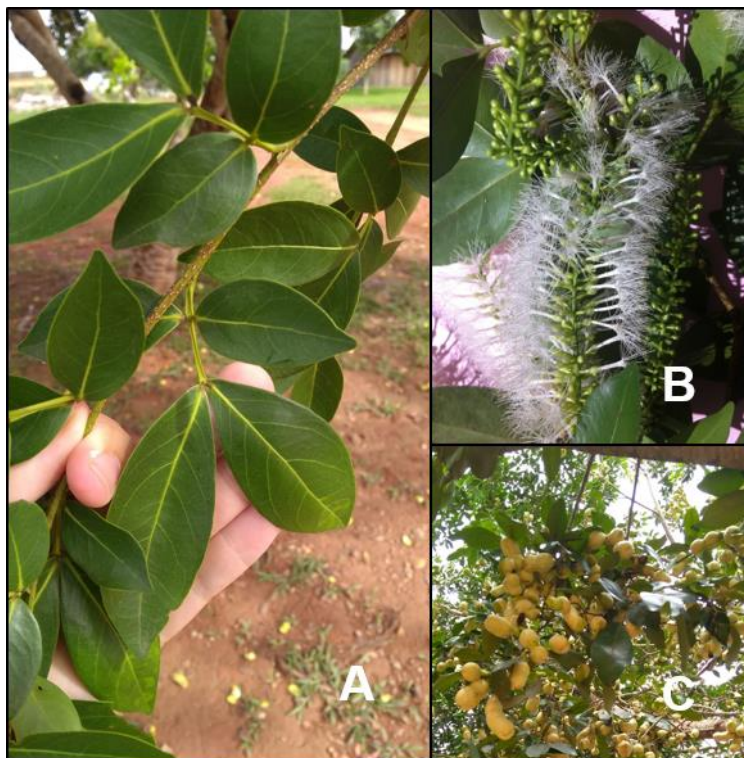


Figura 2 – Inflorescência (A), folhas (B) e frutos (C), de *Inga laurina*. Foto: o autor e Saulo, Instituto Ouro Verde.

### 2.5.3 – *Inga macrophylla* Humb. & Bonpl. ex Willd.

São árvores podem medir 6 a 25m de altura, sendo seus ramos jovens glabros a esparsamente seríceos. Estípulas com 1-2 cm comprimento, ovadas a lanceoladas e persistentes; pecíolo 5-12 cm comprimento, cilíndricos, raramente alado. Raque 4-19 cm comprimento, alada, entre 4-9 mm largura. Nectários sésseis a estipitados, com 0-2 mm comprimento, cilíndricos, circulares. Folíolos 2-3 pares, 13-21x7-14 cm, ovados a lanceolados, com ápice cuspidado, raramente agudo, base obtusa e oblíqua, as faces adaxial e abaxial esparsamente serícea com tricomas glandulares presentes (PENNINGTON, 1997; FERNANDES et al., 2016).

As unidades de inflorescência espiciforme, com 1-2 por axila; pedúnculo 5-7 cm comprimento. Raque 2-4 cm comprimento; brácteas 1,8-3x0,3-0,4 cm, lanceoladas, raramente linear ou ovadas, persistentes. Flores sésseis, pentâmeras; cálice 2,4-3,7 cm comprimento, tubuloso, glabro; corola 5-5,4 cm comprimento, tubulosa, vilosa. Androceu 10-10,5 cm comprimento, cujo tubo varia entre 6-6,2 cm comprimento, excerto, 55-100 estames, brancos; disco nectarífero ausente. Ovário 3-4 mm comprimento, glabro, estilete 10-10,5 cm comprimento, estigma cilíndrico. Fruto legume nucóide 18-32,5x2,3-2,5 cm, com base arredondada, ápice agudo a

truncado, raramente cuspidado, puberulento; 7-29 sementes, 1,2-1,5x0,6-0,7 cm. (PENNINGTON, 1997; FERNANDES et al., 2016).

A espécie *I. macrophylla* (Figura 3) tem recente ampliação de ocorrência no Mato Grosso, possui plantas que podem alcançar 25 metros de altura, os frutos são grandes e apresentam tegumento carnososo, por conta disso é difundida na América do Sul para fins alimentares (PENNINGTON, 1997; FERNANDES et al, 2016), pode ser destinada à adubação verde, lenha recomposição e recuperação de áreas degradadas. Pode ser encontrada nas florestas e pastagens da região norte de Mato Grosso (SOUZA & SOUZA, 2011, FERNANDES et al, 2016).

É umas das espécies frutíferas do gênero, caracterizada por legumes grandes e que podem ser consumidos *in natura*, sendo comercializado em feiras locais. Geralmente a planta está associada a formigas. As sementes são escuras muito úmidas e recalcitrantes. As plantas do gênero geralmente apresentam nódulos radiculares eficientes na fixação de N<sub>2</sub>, beneficiando o solo local (SOUZA, 2012; FLORA DO BRASIL, 2020).

De origem neotropical, distribuída pela América do Sul ocidental, pode ser encontrada no Brasil, Bolívia, Colômbia, Sul da Venezuela, Trinidad e Guianas. É cultivada em todo território amazônico. ocorrendo principalmente em florestas tropicais secundárias, áreas perturbadas ou mal drenadas e em quintais agroflorestais (SOUZA, 2012; PENNINGTON, 1997).



Figura 3 – Galho com folhas e inflorescência (A), folha e frutos (B), de *Inga macrophylla*. Foto: o autor e Saulo, Instituto Ouro Verde.

#### 2.5.4 – *Inga nobilis* Willd

Árvores de 5-8 m altura com ramos jovens tomentosos. Estípulas 1,5-5 mm comprimento, lanceoladas ou elípticas, caducas. O pecíolo possui 1-2,5 cm comprimento, não alado ou marginado. Raque com 6-11,5 cm comprimento, não alada ou marginada. possui nectários sésseis, pateliformes, circulares, as vezes obsoletos. Os folíolos são em 3-4 pares, 5,2-15x2,5-6,2 cm, elípticos, raramente ovados. Ápice agudo ou atenuado, base obtusa, atenuada, raramente oblíqua. Face adaxial glabra, com nervura central tomentosa e face abaxial glabrescente (PENNINGTON, 1997; FERNANDES, 2011).

Unidades de inflorescências em cachos, fasciculadas, axilares, ramifloras. Pedúnculo entre 1,5-4 cm comprimento; raque 0,7-1 cm comprimento; brácteas 1,8-2 mm comprimento, oblongas, caducas; flores pediceladas, pedicelo 1,8-2,4 mm comprimento; cálice 5-7 mm comprimento, tubuloso, seríceo; corola 4-8 mm comprimento, infundibuliforme, serícea, ápice dos lacínios vilosos. Androceu 38-42 estames, brancos, 23-25 mm comprimento, tubo 8-9,5 mm comprimento, incluso. Disco nectarífero ausente, ovário 1,8-2 mm comprimento, glabro. Frutos 7-10x3-3,5 cm, oblongos, plano-compressos, margens não expandidas, puberulentos; 7-11 sementes, 15-17x7-8 mm, ovadas (PENNINGTON, 1997; FERNANDES, 2011).

Conhecida como ingá sapo (Figura 4), essa espécie é de porte mediano, sendo encontrada em áreas alagadas principalmente em mata ciliar, além de apresentar tolerância a inundações. Ocorre naturalmente no norte da América do Sul e, no Brasil, alcança o Cerrado e Floresta Amazônica, estando associada geralmente a áreas alagadas ou próximo de corpos d'água. Sua floração é abundante e os frutos e a frutificação variam de acordo com a localidade (PENNINGTON, 1997; GARCIA & FERNANDES, 2010; SOUZA, 2012).



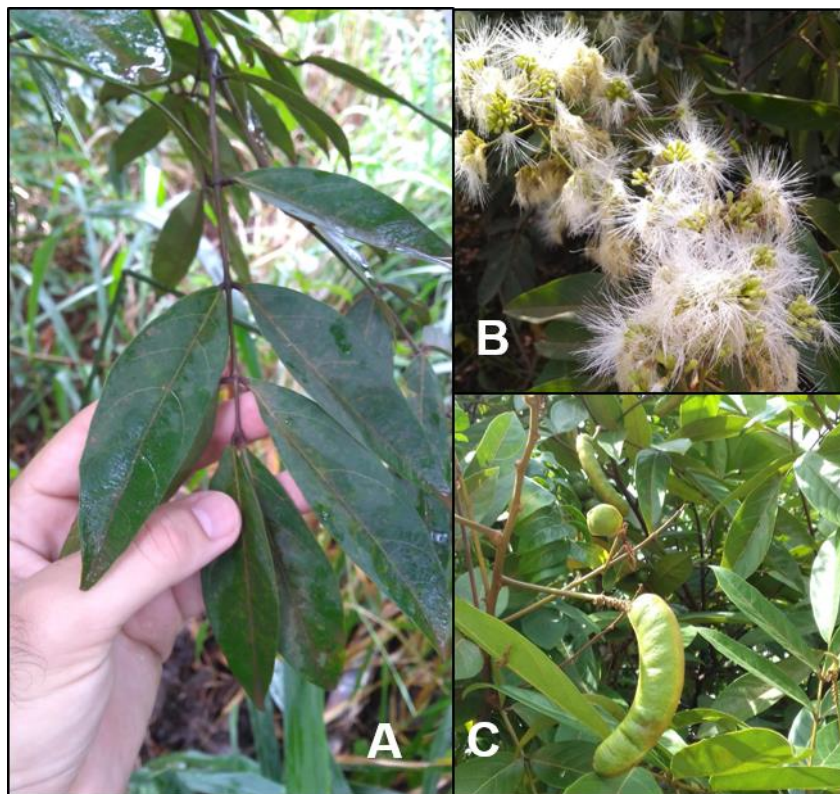


Figura 4 – Folha (A), inflorescências (B) e frutos (C), de *Inga nobilis*. Foto: o autor e Saulo, Instituto Ouro Verde.

#### 2.5.5 – *Inga pilosula* (Rich.) J.F.Macbr

O *Inga pilosula* possui ramos cilíndricos, hispídeos, inermes. Estipulas com 2-5 mm de comprimento, lanceoladas a elípticas, pubescentes e persistentes. Pecíolos 0,9-1,4cm de comprimento cilíndricos, alados, pubescentes, Nectários foliares 0,7-2 mm de diâmetro, pateliformes ou ciatiformes. Raque 1,6- 3 cm comprimento, cilíndrica, alada, pubescente. Folhas pinadas; folíolos 2 jugas, 4,9-12 cm de comprimento, 1,9-5,2 cm de largura, não sensitivos, coriáceos, discolors, puberulentos, elípticos. Ápice agudo a estreitamente atenuado, base aguda a arredondada, nervuras secundarias 9-15 pares, arqueados ou retos. Inflorescência espiciformes, axilares, pendunculos 3,2-4 cm de comprimento, cilíndricos, pubescentes, brácteas 2-3 cm de comprimento, lineares ou lanceoladas, pubescentes, caducas (PENNINGTON, 1997; SOUZA 2009; FLORA DO BRASIL, 2020).

As flores sésses, cálice com 5-7 mm de comprimento, tubular, lobos 5, pubescentes a subglabros. Corola gamopétala, 1,2 - 1,5 cm comprimento, tubulosa, lobos 5, seríceos a seríceo-vilosos. Estames 25-30, tubo estaminal 10-16 mm

comprimento, incluso ou curtamente excerto, filamentos livres 1,9-2,5 cm comprimento, anteras eglandulosas. Ovário 1,5-2 mm comprimento, elipsóide, glabro, estilete filiforme, excedendo os estames. Legume nucóide 6-10,5 cm comprimento, 2,3-2,9 cm largura, reto, plano, castanho escuro, com nervuras transversais proeminentes ou estrias recurvadas, coriáceo, glabro, ápice arredondado ou obtuso e base aguda, arredondada ou levemente truncada, margem espessa e linear (PENNINGTON, 1997; SOUZA 2009; FLORA DO BRASIL, 2020).

Também conhecida como ingá grande ou ingá do igapó (Figura 5), essa espécie é nativa do Brasil, ocorrendo no norte e parte do centro-oeste. De porte arbóreo, pode chegar a 20 metros, é terrícola, apresentando simbiose com bactérias que fixam nitrogênio no solo. Sua casca pode ser utilizada no tratamento de desinteira, assim como a parte interna do fruto utilizado para tratar abscessos (FILIPPS et al., 2004).

Está distribuída no Brasil, Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana Francesa, Guiana, Peru, Suriname, Trinidad, Venezuela, ocorrendo nos domínios Amazônico, Cerrado e Floresta Atlântica, sendo encontrada em floresta ripária, com vegetação secundária ou de várzea, geralmente associada a ambientes degradados. Ocorrem também em formações abertas, campo de dunas e floresta de restinga. A floração pode ser observada dos meses de maio a novembro, e frutificação no mês de abril (PENNINGTON, 1997; SOUZA, 2009; FLORA DO BRASIL, 2020).

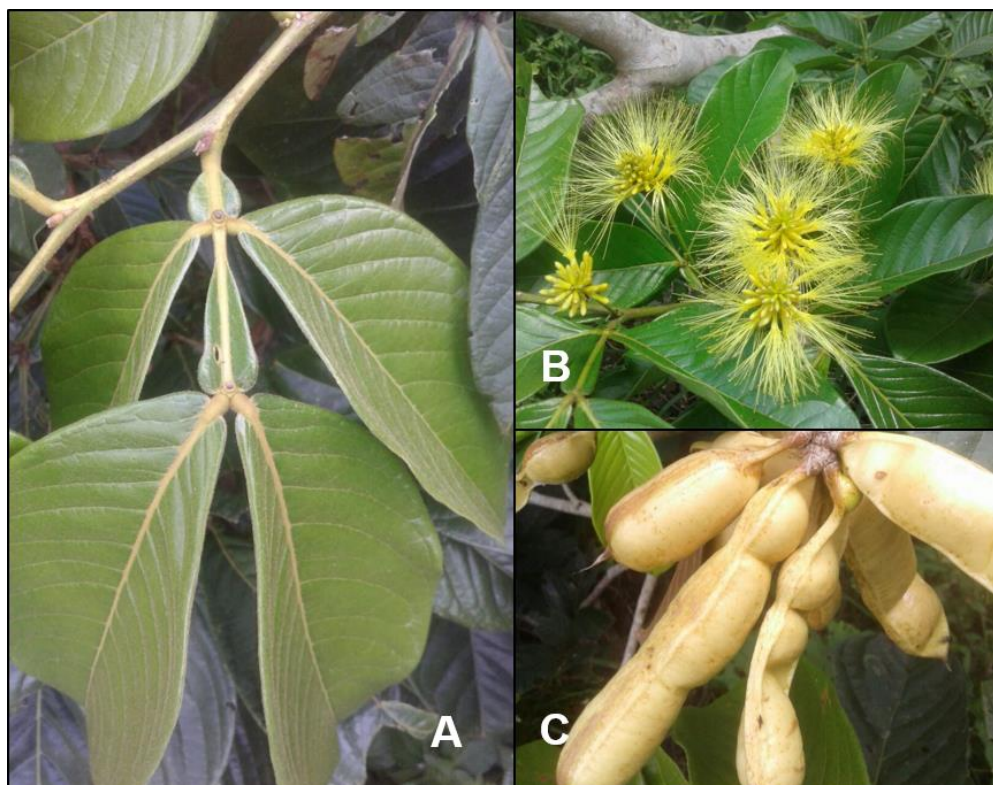


Figura 5 – Folha (A), inflorescências (B) e frutos (C), de *Inga pilosula*. Foto: Silvio, Instituto Ouro Verde.

As de espécies de *Inga* estudadas podem pertencer ao grupo ecológico das pioneiras, a secundária inicial ou ao grupo das clímax (DURIGAN e NOGUEIRA, 1990; AGUIAR et al., 2001; SILVA et al., 2003). São encontradas em planície, fundo de vales, início de encostas ou clareiras associadas à vegetação primária ou secundária, atuando na fixação de nitrogênio da cobertura do solo auxiliando a reposição da vegetação (COSTA e MANTOVANI, 1992).

## 2.6 – CITOGENÉTICA

Quando se trata do processo evolutivo das espécies, as modificações no cariótipo possuem caminhos próprios, muitos ainda incógnitos, o que gera enorme diversidade cromossômica em tamanho, forma, número, capacidade de pareamento meiótico, conteúdo de heterocromatina, entre outras variáveis (GUERRA e SOUZA, 2002).

A citogenética aborda o estudo da genética por meio do estudo das células, ou seja, citologia, que são análises ligadas aos cromossomos, tanto de forma isolada quanto condensada, avaliando a morfologia, organização, função, variação e

evolução (GUERRA, 1988; FERNANDES, 2018). Mesmo com o advento da genética molecular, a análise cromossômica é uma forma prática de observar o genoma de indivíduos eucariotos pela clareza na observação, possibilitando serem mensurados, diferenciados e manipulados (BRAMMER, 2007).

Os estudos cromossômicos são valiosos para a compreensão cariotípica, aliada ao bandeamento e a coloração diferenciada, a caracterização passou a fornecer mais detalhes a respeito do cariótipo (BRASILEIRO-VIDAL & GUERRA, 2002; BRAMMER, 2007).

A citogenética é uma análise que fornece peculiaridades do genoma das espécies, possibilitando estudá-lo, estabelecendo modelos cariotípicos e visualizando o comportamento meiótico (AARESTRUP, 2001; BERTÃO, 1993). Esses estudos contribuem no entendimento taxonômico e evolutivo, sendo fundamentais para a introdução de indivíduos em bancos de germoplasma (SOUZA et al., 2002; MATOS et al. 2009).

Tal forma de análise auxilia no entendimento a respeito de variações genéticas dentro da família (Martinez, 1976), o que pode ser útil na identificação e caracterização de espécies e híbridos, assim como na distinção de plantas, apresentando informações sobre parentesco entre espécies (SILVA et al., 2014).

Os cromossomos metafásicos, material de estudo, são compostos por estruturas paralelas chamadas cromátides. Cada uma é formada por um filamento de DNA, histonas e outras proteínas, e é nele em que se encontram os genes das células. Cada cromossomo possui duas cromátides unidas por uma região denominada centrômero ou constrição primária, dividindo as cromátides em dois segmentos, os braços cromossômicos.

Os cromossomos podem ser observados por meio da microscopia durante a divisão celular na metáfase mitótica, por isso são chamados de cromossomos metafásicos. É possível observar a dimensão, posição do centrômero, das constrições secundárias, regiões organizadoras nucleolares e satélites, caso haja (GUERRA, 1988; BRAMMER, 2007; SYBENGA, 1992).

A obtenção dos cromossomos pode se dar por diversas partes da planta. Alguns métodos menos onerosos, como os meristemas, regiões que apresentam alta taxa de divisão mitóticas. Eles podem ser encontrados em vários locais na planta e se caracterizam por não serem tecidos diferenciados. Para a análise citogenética, o meristema mais utilizado é o radicular por ser uma região de

crescimento rápido e apresentar um grande volume celular. Além disto, as raízes absorvem com maior facilidade as soluções antimitóticas utilizadas (GUERRA e SOUZA, 2002; DOLEZEL et al., 2014).

As soluções antimitóticas compreendem o processo de pré-tratamento dos meristemas, onde irá ocorrer o bloqueio do ciclo mitótico em metáfase, o que ocasiona acúmulo de células nesse estágio além de proporcionar maior compactação cromossômica, o que garante melhor visualização de constrições primárias e secundárias.

Essas soluções permitem maior dispersão dos cromossomos pela destruição ou inibição das fibras do fuso mitótico e aumentam a viscosidade do citoplasma, protegendo os cromossomos no processo de digestão. Para o pré-tratamento, pode ser utilizado, água gelada, 8 - Hidroxiquinoleína (C<sub>9</sub>H<sub>7</sub>NO), Colchicina (C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>O<sub>6</sub>N),  $\alpha$ -Bromonaftaleno (C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>Br), p - Diclorobenzeno (C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>Cl<sub>2</sub>), Óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), Amiprofos-metil, Orizalin ou Trifluralina (DOLEZEL et al., 1992; DOLEZEL et al., 2014; SINGH, 2018).

A digestão trata da degradação da parede celular e dos demais detritos celulares a fim de melhorar a visualização dos cromossomos metafásicos. A esse processo, é dado nome de digestão enzimática. Esta atua degradando a parede celular favorecendo a difusão das células no processo de dissociação celular ou esmagamento (KANTAMA et al., 2017). A dissociação fornece metáfases sem citoplasma, cromossomos preservados morfológicamente, e a visualização clara dos telômeros, centrômero e constrições secundárias, facilitando a confecção do kariograma (SILVA et al., 2018).

A forma mais comum de caracterizarmos é com o kariótipo, ordenando de forma decrescente e alinhado-o pelos centrômeros (GUERRA e SOUZA, 2002; DOLEZEL et al., 2014). Eles ainda podem ser classificados como simétrico ou assimétrico, por meio dos índices de assimetria intra e intercromossômica (LEVITSKY, 1931).

A assimetria pode ser calculadas por alguns métodos, como: o AI, índice de assimetria, recomendado por Paszko (2006), no qual baseia se no coeficiente de variação do índice centromérico, comprimento total do cromossomo, expressando assim a variação do comprimento cromossômico (CVCL) e do índice centromérico (CVCI). Ambos auxiliam na confecção do kariograma (PERUZZI e EROGLU, 2013).

A coloração do material é um ponto importante, pois permite a visualização clara dos cromossomos. Essa coloração pode ser uniforme, corando o cromossomo indiferentemente e diferencial, em que cora de forma distinta regiões específicas dos cromossomos. Para os métodos de análises convencionais (uniforme), pode ser utilizados corantes acéticos, como carmin ou orceína, reativo de Schiff e Giemsa, que se destacam por serem empregados em outras análises citológicas. O Giemsa é empregado principalmente quando os cromossomos em estudo são pequenos, pois confere coloração mais intensa e contrastada. Em muitos casos, o citoplasma pode reagir com o corante, o que ocasiona diminuição do contraste (GUERRA, 1986; GUERRA e SOUZA, 2002; FREITAS-NETO, 2014).

## 2.7 - CARIÓTIPO DO GÊNERO

*Inga* é um gênero com poucos estudos citológicos. O primeiro relato foi feito em 1962, por Shibata, para *Inga spuria* Humb. & Bonpl. ex Willd. e *Inga edulis*, ambos  $2n = 26$ , sugerindo  $x = 13$  como número básico para o gênero. Posteriormente, Hanson (1995), em estudos com 17 espécies, observou que 15 delas eram diploides  $2n = 26$ , e 2 eram tetraploides, *Inga insignis* Kunth e *Inga laurina* (Sw) Willd, com  $2n = 4x = 52$ . Okamoto (1998), em estudos com quatro espécies de *Inga*, verificou que *Inga laurina* e *I. luschnathiana* Benth. (*Inga subnuda* subsp. *luschnathiana* (Benth.) T.D.Penn.) eram tetraploides  $2n = 4x = 52$  e que *Inga affinis* DC (*Inga vera* subsp. *affinis* (DC.) T.D.Penn. ) e *I. sessilis* (Vell.) Mart. possuíam  $2n = 26$ .

Outros táxons apresentam variação numérica similar aos da tribo *Ingeae*, ocorrendo plantas poliploides, na maioria deles e com o mesmo número básico  $x = 13$ , *Acacia* Mill. (OBALLA e OLING' OTIE, 1994), *Mimosa* Linn. (NAZEER e Madhusoodanan, 1983; Shibata. 1962) e *Pithecellobium* Mart. (ATCHISON, 1951). Isso que pode indicar uma origem comum e uma evolução cariotípica similar (MATA, 2009). De modo geral, já se tem descrito para o gênero número cromossômico de 29 espécies conforme Tabela 1, compreendendo menos de 10 % de toda diversidade do gênero.

Tabela 1 – Número cromossômico para espécies de *Inga* Mill., conforme a classificação de Pennington, 1997.

<b>Espécies</b>	<b>Número cromossômico</b>	<b>Fonte</b>
<i>I. vera</i> subsp. <i>affinis</i> (DC.) T.D.Penn.	26	Okamoto, 1998
<i>I. bollandii</i> Sprague & Sandwith	26	Mata, 2009
<i>I. calderonii</i> Standl.	26	Pennington, 1997
<i>I. capitata</i> Desv	52	Mata, 2009
<i>I. cylindrica</i> (Vell.) Mart.	26/52	Mata, 2009
<i>I. cayennensis</i> Sagote x Benth.	26/104	Mata, 2009
<i>I. densiflora</i> Benth.	26	Pennington, 1997
<i>I. edulis</i> Mart.	26/22	Fedorov, 1969; Pennington, 1997 Matos, 2009
<i>I. heterophylla</i> Willd.	26	Pennington, 1997
<i>I. insignis</i> Kunth.	52	Pennington, 1997
<i>I. ingoides</i> (Rich.) Will	26	Mata, 2009
<i>I. jinicuil</i> G. Don	26	Pennington, 1997
<i>I. laurina</i> (Sw.) Willd	26/52	Pennington, 1997 Okamoto, 1998 Mata, 2009
<i>I. leiocalycina</i> Benth.	26	Pennington, 1997
<i>I. subnuda</i> subsp. <i>luschnathiana</i> (Benth.) T.D.Penn.	52	Okamoto, 1998
<i>I. marginata</i> Willd.	26	Pennington, 1997 Mata, 2009
<i>I. multicaulis</i> Benth.	26	Pennington, 1997
<i>I. oerstediana</i> Benth.	26	Pennington, 1997
<i>I. paterno</i> Harms	26	Hanson, 1995
<i>I. punctata</i> Willd.	26	Pennington, 1997
<i>I. sapindoides</i> Willd.	26	Pennington, 1997
<i>I. sessilis</i> (Vell.) Mart.	26	Okamoto, 1998
<i>I. sertulifera</i> DC.	26	Pennington, 1997
<i>I. spectabilis</i> (Vahl.) Willd.	26	Pennington, 1997
<i>I. striata</i> Benth.	26	Mata, 2009
<i>I. subnuda</i> Salzm. ex Benth.	26	Pennington, 1997; Mata, 2009
<i>I. thibaudiana</i> DC.	26	Mata, 2009
<i>I. umbellifera</i> (Vahl) Steud.	26	Pennington, 1997
<i>I. vera</i> Willd.	26	Mata, 2009 Fedorov, 1969

## 2.8 – CITOMETRIA DE FLUXO

A citometria de fluxo envolve a análise das propriedades ópticas de partículas que fluem em uma suspensão líquida, diferenciando-a de outras técnicas de análise quantitativa de núcleos por não necessitar da fixação de partículas em alguma superfície. A análise da suspensão líquida é feita a altas velocidades garantindo que as partículas sejam selecionadas de forma aleatória, sem qualquer

subjetividade. A dispersão da luz faz com que o citômetro forneça dados quantitativos relativos ao tamanho e complexidade das partículas que são analisadas, enquanto que, através da fluorescência, pode-se quantificar todos os compostos celulares desejados, desde que apresente autofluorescência ou que tenham sido antecipadamente marcados com corantes fluorescentes. (DOLEZEL, 1997; DOLEZEL et al., 2007).

Os dados de cada partícula são fornecidos em tempo real na forma de histogramas mono ou biparamétricos, o que torna possível gerar respectivamente as distribuições dos valores de frequência e a densidade de cada parâmetro óptico medido. A velocidade com que a suspensão flui permite que em um curto período de tempo sejam feitas várias análises (DOLEZEL et al., 2007).

Essa técnica foi desenvolvida no final dos anos 1950 com o intuito de realizar a contagem de células sanguíneas. Com o desenvolvimento técnico e o surgimento de novos fluorocromos, expandiu-se a outras áreas científicas, como a botânica e a microbiologia, aumentando continuamente o número de aplicações e trabalhos utilizando essa técnica no Brasil, principalmente na área da botânica (LOUREIRO et al., 2012).

Nos últimos anos, várias técnicas foram adaptadas para o uso em células vegetais, permitindo rápida quantificação do conteúdo de DNA e RNA, cariotipagem, contagem de células, estudo de cloroplastos, membranas celulares, avaliação da atividade mitocondrial. Isso resultou em uma gama de novas informações sobre a biologia molecular, bioquímica, fisiologia e ecologia das plantas (YANPAISAN et al., 1999).

Para as plantas, é possível obter milhões de núcleos em suspensão com apenas poucas gramas de tecido foliar, em um procedimento que envolve a maceração do tecido em uma solução tampão que mantém a integridade nuclear. São utilizados nesse processo corantes específicos para o DNA (DAPI, iodeto de propídeo, brometo de etídeo), o que permite ao aparelho estimar a quantidade de DNA presente (DOLEZEL e BARTOS, 2005).

O resultado da quantificação de DNA de um dado organismo é referido como valor C, expressando a quantidade de material genético existente, sendo assim o tamanho do genoma relevante para estudos de novas estratégias de clonagem, nível de ploidia e estimativa do tamanho do genoma. Contudo, ainda cerca de 98,4



% das angiospermas apresentam conteúdo genômico desconhecido (FERNANDES, 2015; LOUREIRO et al., 2012).

Para a obtenção dos valores C é necessário o uso de padrões de referência, e que estes tenham conteúdo próximo, mas não sobrepostos aos picos da amostra. *Solanum lycopersicum* é um dos padrões mais utilizados como ideal para mensurar através da citometria de fluxo (FERNANDES, 2015; PRAÇA-FONTES et al., 2011). Algumas plantas além da *Solanum lycopersicum* (2C = 2,00 pg) são recomendadas como padrão, tais como *Zea mays* (2C = 5,55 pg), *Pisum sativum* (2C = 9,16 pg), *Vicia faba* (2C = 27,70 pg), *Allium cepa* (2C = 35,12 pg) (PRAÇA-FONTES et al., 2011).

É recomendado uso de padrões internos, com picos 2C e 4C próximo das espécies estudadas, reduzindo erros. Além disso, diferenças no tamanho do núcleo e quantidades de heterocromatina podem influenciar a dispersão da luz interferindo na medição (JOHNSTON et al., 1999).

A coloração dos núcleos pode ser feita de diversos modos, um deles é o uso de iodeto de propídeo. Ele atravessa a membrana plasmática lesada, liga-se ao DNA da célula, o diacetato de 6-carboxifluoresceína penetra através da membrana íntegra e é hidrolisado por esterases, que produz fluoresceína, a qual fica retida por mais tempo dentro da célula (BRITO et al., 2003). O brometo de etido, assim como o iodeto, age de forma intercalada na cadeia de DNA, adequado a estimativa do conteúdo de DNA nuclear, necessitam também do uso de RNases (DOLEZEL, 1997; PRAÇA-FONTES et al., 2011).

Para o gênero *Inga*, existe apenas um registro de conteúdo de DNA, realizado por Ohri (2004), no qual observou 4C = 1,64 pg de DNA para espécie *I. dulcis* Willd. utilizando *Allium cepa* como padrão.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 OBTENÇÃO DO MATERIAL VEGETAL**

As sementes foram obtidas de cinco espécies de *Inga*, em áreas particulares no município de Alta Floresta (Tabela 2), exceto as sementes de *I. macrophylla*, que foram cedidas pelo IOV (Instituto Ouro Verde), advindas de uma propriedade rural no município de Nova Monte Verde - MT. O material foi incorporado ao Herbário

Tangará da Serra (TANG) da Universidade do Estado de Mato Grosso, localizado no município de Tangará da Serra - MT.

Tabela 2- Localização das espécies do gênero *Inga* Mill coletados em Alta Floresta (AF) e Nova Monte Verde – Mato Grosso.

<b>Espécie</b>	<b>Latit. (S)</b>	<b>Longit. (W)</b>	<b>Município</b>	<b>Nº Tombo</b>
<b><i>Inga pilosula</i> (Rich.) J.F.Macbr</b>	9°54'28.3464 ””	56°5'50.0244”	AF	6873
<b><i>Inga macrophylla</i> Humb. &amp; Bonpl. ex Willd</b>	Nova Monte Verde – MT, (Cedidas IOV)			6874
<b><i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd</b>	9°51'40.77”	56°4'9.5952”	AF	6876
<b><i>Inga edulis</i> Mart</b>	9°51'41,9868	56°4'5.3796”	AF	6872
<b><i>Inga nobilis</i> Willd</b>	9°51'42.3”	56°4'17.4”	AF	6875

### 3.2 - PREPARO DAS RAÍZES E OBTENÇÃO DAS METÁFASES

Para cada espécie foram semeadas 30 sementes em vermiculita, assim que as raízes atingiram 5 cm de comprimento, foram lavadas em água corrente, foi retirado o excesso de água das plântulas em papel absorvente e a raiz imersas em solução de amiprofos-metil (APM), na concentração de 3 µM, a temperatura de 4 °C, permanecendo de 15 horas (*I. edulis*, *I. laurina*, *I. macrophylla* e *I. pilosula*) a 17 horas (*I. nobilis*). Em seguida foram segmentadas a 1 cm incluindo o meristema radicular e realizada três lavagens em água destilada por 15 min cada e três lavagens em fixador, metanol: ácido acético na proporção 3:1 (PA) por 10 min e armazenadas a 4 °C por 24h (CARVALHO et al., 2007).

Após o armazenamento as raízes passaram por 3 lavagens em água destilada com duração de 15 min cada troca em seguida, foram transferidas para microtubos de 1,5 ml contendo pool enzimático (celulase 4 %, macerozime 1 % e hemicelulase 0,4 %), na concentração de 0,02 %, levadas ao banho maria, permanecendo de 3 horas e 30 minutos (*I. edulis*, *I. laurina*, *I. macrophylla* e *I. pilosula*) a 5 horas (*I. nobilis*), em seguida as raízes foram lavadas em água destilada passando por três trocas 15 min e três trocas consecutivas em fixador, e armazenadas a 4 °C, até o preparo das lâminas.

### 3.3 - CONFECÇÃO DAS LÂMINAS

As lâminas foram preparadas conforme a metodologia descrita por Carvalho e Saraiva (1993), pela técnica de dissociação celular do meristema radicular, secas ao ar em abalos rápidos e dispostas em chapa aquecedora por 5 min para a fixação do material, após 24h, as lâminas foram coradas com Giemsa 5 % (Merck KGaA) em tampão de fosfato (pH 6,8) por 5 min, e, logo em seguida, lavadas três vezes consecutivas em água destilada, e secas a temperatura ambiente 20 °C por 24 horas.

### 3.4 - ANÁLISE DOS CROMOSSOMOS

Quinze metáfases foram capturadas em magnitude de 1000x, fotografadas com o uso de um microscópio Fotômico Binocular (Leica ICC 50) acoplado a um computador com software LAZ EZ V1. 7.0, para a morfometria cromossômica foi realizadas as medições cromossômicas (tamanho do braço longo ( $\mu\text{m}$ ), braço curto ( $\mu\text{m}$ ) e tamanho total( $\mu\text{m}$ )) com auxílio do programa Micromesure for Windows, version 3.3, (REEVES E TEAR, 2000).

A nomenclatura foi classificada de acordo com a razão entre braços (r) proposta por Levan et al. (1964) e revisto por Guerra (1986), onde 1,00 a 1,49 são classificados como metacêntrico, 1,50 a 2,99 classificados como submetacêntrico e acima de 3 são classificados como acrocêntrico, por meio da fórmula:

$$r = LL \div LS$$

Onde:

r = razão entre os braços;

LL = comprimento do braço longo ( $\mu\text{m}$ );

LS = comprimento do braço curto ( $\mu\text{m}$ ).

Também foram calculados os índices centroméricos (IC) pela formula:

$$IC = BC \times 100 \div CT$$

Onde:

IC = índice centrométrico;

BC = Comprimento do braço curto ( $\mu\text{m}$ );

CT = Comprimento total ( $\mu\text{m}$ ).

O índice de assimetria intercromossômica (A2) (ROMERO, 1986) foi obtido pela equação:

$$A2 = S \div \bar{X}$$

Onde:

A2 = índice de assimetria intercromossômica;

S = desvio padrão;

$\bar{X}$  = média do comprimento cromossômico ( $\mu\text{m}$ ).

O índice de assimetria (AI) calculado de acordo com a seguinte equação (PASZKO, 2006).

$$AI = (CVCL \times CVCI) \div 100$$

$$CVCL = (\bar{X} \div IC \text{ médio}) * 100$$

$$CVCI = A2 \times 100$$

Onde:

AI = Índice de assimetria;

CVCL = Coeficiente de variação do comprimento total;

CVCI = Coeficiente de variação do índice centromérico;

$\bar{X}$  = média do comprimento total;

IC = Índice centromérico;

A2 = índice de assimetria intercromossômica.

Após análises, foi organizado o cariógrama para cada espécie, em ordem decrescente de tamanho, com os pares alinhados pelo centrômero com auxílio do programa Adobe® Photoshop® CC.

### 3.5 - DIVERSIDADE GENÉTICA

Os dados de comprimento total do maior cromossomo (CTMC  $\mu\text{m}$ ), comprimento total do menor cromossomo (CTmC  $\mu\text{m}$ ), comprimento do maior braço longo (CMBL  $\mu\text{m}$ ), comprimento do menor braço longo (CmBL  $\mu\text{m}$ ), comprimento do maior braço curto (CMBC  $\mu\text{m}$ ), comprimento do menor braço curto (CmBC  $\mu\text{m}$ ), razão entre braços do maior cromossomo (RMC  $\mu\text{m}$ ), razão entre braços do menor cromossomo (RmC  $\mu\text{m}$ ), índice centromérico do maior cromossomo (ICMC  $\mu\text{m}$ ), índice centromérico do menor cromossomo (ICmC  $\mu\text{m}$ ), conteúdo de DNA (DNA pg),

cromossomos metacêntricos (M), cromossomos submetacêntricos (SM) e cromossomos acrocêntricos (A).

Através destas características foi estimada a divergência genética entre as espécies, com base na dissimilaridade expressa pela distância euclidiana utilizando o software Genes. Foi utilizada a matriz de distância euclidiana média padronizada como método hierárquico aglomerativo, calculando o coeficiente de correlação fonética (CCC), utilizando a ligação média entre grupo (UPGMA) como método de agrupamento. Para a determinação do ponto de corte do dendrograma, foi utilizado o método de Mojena (1977).

### 3.6 – CITOMETRIA DE FLUXO

A citometria foi realizada com base na metodologia de Praça-Fontes et. al. (2011), o processo de extração dos núcleos foi executado de acordo com o protocolo adaptado de Otto (1990), onde são retirados discos de 2 cm de folhas jovens da espécie de interesse e do padrão interno (*Solanum lycopersicum*, 2C = 2,0 pg de DNA), (PRAÇA-FONTES et al., 2011) esses discos foram picotados (*chopping*) com lâminas de aço inoxidável em placa de Petri com 500 ul OTTO I (GALBRAITH et al., 1983), permanecendo por aproximadamente 3 min, em seguida o material picotado foi filtrado em tela de nylon com uma malha de 30 µm de diâmetro e adicionado mais 500 ul OTTO I, o material foi centrifugado a 1100 rpm por 3 min, após centrifugado o sobrenadante foi descartado.

Foi acrescentado ao material 100 ul OTTO I afim de ressuspender o material vegetal, encubando por 10 min, em seguida acrescentou-se 1,5 mL OTTO II (OTTO, 1990) contendo 75 µM de iodeto de propídio (IP Sigma®) e 50 µg mL<sup>-1</sup> de RNase (Sigma®) pH = 7,8. O material permaneceu 30 minutos no escuro, à temperatura ambiente, afim que ocorra reação do material com o corante e posterior filtragem em tela de 20 µm de diâmetro de poro.

#### 3.6.1 – Processamento e Quantificação do DNA.

O material foi analisado em citômetro de fluxo Partec PAS (Partec GmbH, Munster e Alemanha), equipado com uma fonte de luz a laser (488 nm). A

fluorescência IP emitida foi detectada por filtro de passagem da banda RG 610 nanômetros (nm).

Os histogramas de intensidade de fluorescência relativa foram avaliados no software FLOWMAX (Partec®). A razão entre as médias dos picos G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> das amostras e do padrão de referência foi calculada e convertida em picogramas (pg) de DNA. Cada amostra foi analisada três vezes, com mais de 5000 núcleos analisados, e o coeficiente de variação foi determinado.

O tamanho do genoma nuclear foi calculado a partir das leituras dos núcleos em G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>, de acordo com a fórmula:

$$V = (L1 \div L2) \times pg$$

Onde:

V: valor do conteúdo de DNA nuclear 2C (pg) de *Inga*

L1: leitura média do pico G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> de *Inga*

L2: leitura média do pico G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> do padrão

pg: valor do conteúdo de DNA do padrão em picogramas

Os pares de base (pb) também foram determinados pela seguinte forma: 1 pg de DNA corresponde a 0,978 x10<sup>9</sup> pb (DOLEZEL et al., 2003).

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 – NÚMERO CROMOSSÔMICO E CONTEUDO DE DNA

A metodologia utilizada na quantificação do número cromossômico para as espécies de *Inga* resultaram em imagens limpas e sem sobreposição de material, com cromatina preservada possibilitando a caracterização cromossômica para as 5 espécies do gênero *Inga* sendo, para *I. macrophylla*, *I. pilosula* e *I. nobilis* a primeira vez descritas.

O APM agente antitubulínico, testado forneceu resultados semelhantes ao encontrado por Matos (2009), para *I. edulis* que manteve em solução o material por 14 horas obtendo maior número de células em metáfase. O uso do agente bloqueador APM evita a formação de mitoses anormais e com micronúcleos (PLANCHAIS et al., 2000). Carvalho (2008), relata também que a concentração e o

tempo em solução com o agente antimitótico, são indispensáveis para obter material adequado para estudos citogenéticos.

O processo de maceração enzimática permite a eliminação da parede celular, ele pode ser realizado utilizando pool enzimático que proporciona degradação da parede celular de forma rápida por ser composto de três enzimas que degradam a pectina, a hemicelulose e celulose, para as espécies em estudo esse processo permitiu, observar cromossomos em ótimo estado de conservação.

Matos (2009), fez uso de pectinase por 4 horas e obteve células em metáfase em boas condições para análise e obteve resultados semelhantes utilizando metodologia descrita por Guerra e Sousa (2002), onde os tecidos após serem hidrolisados com HCL são macerados utilizando ácido acético, contudo a sobreposição de material se mostrou maior que a observada nesse estudo.

O número cromossômico encontrado para *I. edulis*  $2n = 28$  (Tabela 4), diverge dos observados por Matos (2009), no qual, encontrou  $2n = 22$  e por Fedorov (1969), Pennington (1997) e Mata (2009), que observaram  $2n = 26$ . Shibata (1962), indicou número básico  $x = 13$ , o que sugere que possa ter ocorrido eventos de disploidia ascendente para a espécie ( $x = 13$  para  $x = 14$ ) proporcionando essa variação observada neste trabalho.

Mata (2009), verificou para espécie de *Inga cayennensis* with indivíduos diploides e octaploides atestando que a poliploidia são mecanismos utilizados pelo gênero, assim, essas variações são justificáveis uma vez que são necessárias constantes evoluções para que espécies nativas possam se manter no ambiente. Para *I. laurina*, o número cromossômico encontrado foi de  $2n = 36$ , divergindo do citado na por Pennington, (1997) Okamoto (1998) e Mata (2009), onde foram identificados indivíduos diploides  $2n = 26$  cromossomos como também tetraploides  $2n = 52$ , quanto aos resultados observados para *I. laurina* tem-se como observação que possa ter ocorrido eventos de poliploidização do número básico como já é observado em estudos com o gênero (Mata, 2009) ou hibridação que gerou cariótipo ( $3n = 3x = 39$ ) e posterior disploidia descendente resultando em 36 cromossomos.

Para *I. pilosula*, *I. nobilis* e *I. macrophylla* estes são os primeiros registros do número cromossômico destas espécies sendo  $2n = 26$ ,  $2n = 28$  e  $2n = 30$  respectivamente, para estes temos que *I pilosula* está em consonância com o número atribuído ao gênero e que para as duas espécies sugere-se que seja resultado de disploidias ascendente a partir de  $x = 13$  para *I. nobilis*, passa a

apresentar  $x = 14$  e *I. macrophylla*,  $x = 15$ . Os estudos a respeito dos eventos de disploidia ascendente ou descendente são escassos para o gênero.

De modo geral diferentes níveis de ploidia em populações distintas comumente definem espécies biológicas, formação de raças locais, correspondendo a subespécies, variedades ou até mesmo espécies taxonômicas conforme a região e características morfológicas (FREEMAN e HERRON 2004; CARDOSO et al. 2000; SCHIFFINO-WITTMAN 2004).

O coeficiente de variação (CV %) observado, na quantificação do conteúdo de DNA, foi menor que 5 % (Tabela 4) o que possibilitou obtenção de picos G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub> mais adequados (Figura 6). Segundo DOLEZEL e BARTOS, (2005) e DOLEZEL, (1991), este valor é considerado bom, para uma análise acurada, e de qualidade demonstrando eficiência no uso do corante, e no protocolo utilizado para definição do pico G<sub>0</sub> e G<sub>1</sub>, indicando que, o material foi adequadamente preparado e, não houve danos significativos nos núcleos durante a extração, coloração ou análise (GONÇALVES et al., 2007; FERNANDES, 2019).

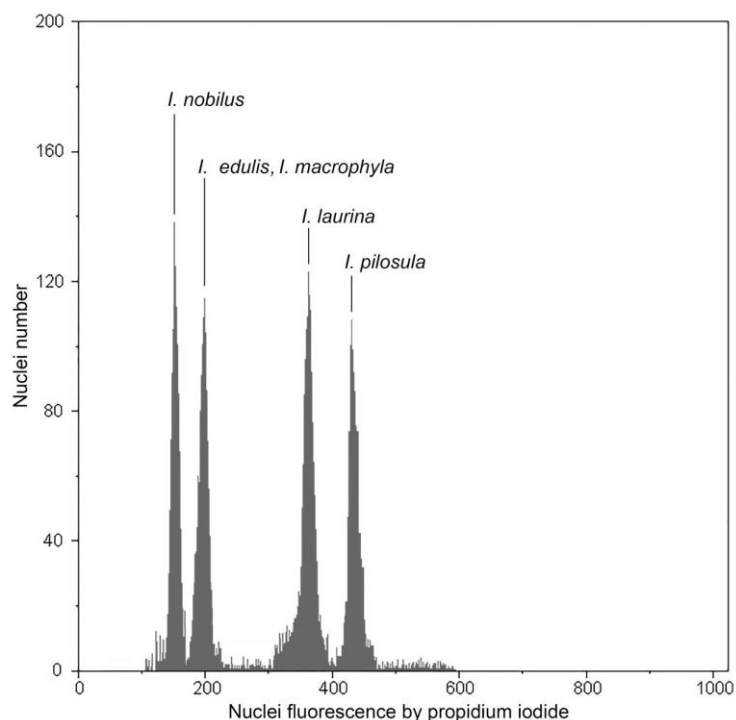


Figura 6 – Histograma da estimativa do tamanho do genoma nuclear de folhas de: *I. edulis* (Canal 200, padrão canal 130), *I. laurina* (Canal 375, padrão canal 82), *I. macrophylla* (Canal 200, padrão canal 131), *I. nobilis* (Canal 180, padrão canal 200) e *I. pilosula* (Canal 420, padrão canal 84), obtido de suspensão de núcleos corados com iodeto de propídio picos G<sub>0</sub> obtidos utilizando padrão interno (*S. lycopersicum*).

Dentro de um mesmo gênero de plantas o conteúdo 2C pode variar como visto na Tabela 3, e essa variação pode ser decorrente da poliploidia, presença de



heterocromatina ou cromossomos extranumerários, contudo a quantidade de DNA presente nos indivíduos da mesma espécie é considerada constante (REES, 1972; WITTMANN, 2001).

Todos valores de conteúdo de DNA foram divergentes colaborando na verificação de que são espécies diferentes, foram observados valores próximos para *I. edulis* e *I. macrophylla* isso pode ser oriundo da proximidade filogenética entre os indivíduos. Valores 2C distintos também foram observados por Amaral-Silva et al., (2016), onde obteve diferentes valores de conteúdo de DNA para três espécies de *Dorstenia* L. na qual apresentavam mesmo número cromossômico e distinta morfometria.

A espécie *I. nobilis* foi a que apresentou menor conteúdo de DNA assim como o menor índice centromérico 15,71 (Tabela 8) e também cariótipo com cromossomos menores, *I. pilosula* foi a espécie com maior conteúdo de DNA do estudo 5,13 pg. LEITE et al (2019) em estudos com *Passiflora* obteve valores que variaram de 1,0 pg a 4,78 pg para espécies do mesmo gênero atrelado a esses valores foram verificados diferentes números cromossômicos para as espécies.

Diferente dos resultados de Clarindo e Carvalho (2009) onde os valores encontrados em picogramas de DNA para duas espécies de *Coffea* aumentou proporcionalmente com o aumento do número cromossômico, no presente estudo foi observado grande aumento no conteúdo de DNA entre as espécies com pouca variação no número cromossômico.

Tem-se descrito conteúdo de DNA apenas para *I. dulcis* Willd onde utilizando metodologia descrita por Benette (2000), foi identificado conteúdo 4C = 1,64 para essa espécie não se conhece o número cromossômico e os valor é inferior aos conteúdos 2C identificados (OHRI, 2004).

Tabela 4 – Número cromossômico de células mitóticas (2n), pare de bases (pb), conteúdo de DNA 1C em pictogramas (C), valores médios do conteúdo de DNA 2C nuclear em picograma (DNA) e coeficiente de variação (CV) do conteúdo de DNA para espécies do gênero *Inga* Mill.

<b>Espécie</b>	<b>2n</b>	<b>pb</b>	<b>C</b>	<b>DNA</b>	<b>CV (%)</b>
<i>Inga edulis</i> Mart.	28	1,197	1,224	2,448	1,069
<i>Inga laurina</i> (Sw.) Willd.	36	2,297	2,297	4,594	1,602
<i>Inga nobilis</i> Willd.	28	0,946	0,968	1,937	2,212
<i>Inga macrophylla</i> Humb. & Bonpl. ex Willd.	30	1,189	1,216	2,432	0,362

<i>Inga pilosula</i> (Rich.) J.F.Macbr.	26	2,510	2,567	5,134	3,480
--	----	-------	-------	-------	-------

#### 4.2 – MORFOMETRIA E ÍNDICE DE ASSIMETRIA CROMOSSÔMICA

Das cinco espécies em estudo três apresentaram número cromossômico distintos. Para *Inga edulis* (Tabela 5), a fórmula cariotípica foi distinta de *Inga laurina* e *Inga macrophylla*, onde foram observados um par acrocêntrico (1), três pares metacêntricos (9, 11 e 14) e dez submetacêntricos (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 12 e 13) resultando na seguinte equação cariotípica  $2n = 1A + 3M + 10SM$ .

O tamanho cromossômico variou entre 7,48  $\mu\text{m}$  (PC1) a 1,90  $\mu\text{m}$  (PC14), com a menor média de comprimento cromossômico total 3,85  $\mu\text{m}$ , foram observados resultados semelhantes quanto a fórmula cariotípica, onde Matos (2009), verificou 3 pares acrocêntricos, 1 metacêntrico e 7 submetacêntrico.

Tabela 5. Morfometria cromossômica de *Inga edulis*.  $2n = 28$ .

PC	C.total ( $\mu\text{m}$ )	Braço		IC	r	Classe
		Longo	Curto			
1	7.48	5.65	1.83	24.39	3.10	A
2	5.11	3.77	1.34	26.26	2.81	SM
3	4.94	3.36	1.56	31.74	2.15	SM
4	4.66	2.91	1.74	37.50	1.67	SM
5	4.41	2.65	1.75	39.86	1.51	SM
6	4.07	2.63	1.44	35.40	1.83	SM
7	3.95	2.49	1.45	36.84	1.71	SM
8	3.60	2.37	1.22	34.12	1.93	SM
9	3.35	1.92	1.42	42.64	1.35	M
10	3.10	2.00	1.09	35.29	1.83	SM
11	2.71	1.44	1.26	46.67	1.14	M
12	2.49	1.62	0.86	34.84	1.87	SM
13	2.14	1.33	0.80	37.69	1.65	SM
14	1.90	1.12	0.77	40.87	1.45	M
<b>Total</b>	53.91	35.31	18.60			

PC (Par Cromossômico); IC (Índice Centromérico); r (Razão entre Braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico); A (Acrocêntrico).

*Inga laurina* (Tabela 6) também apresentou cromossomos metacêntricos (5, 9, 10, 11, 14, 15, 16 e 17) e submetacêntricos (1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 12, 13 e 18), e o tamanho dos cromossomos variou de 7,39  $\mu\text{m}$  (PC 1) a 3,74  $\mu\text{m}$  (PC 18), com fórmula cariotípica  $2n = 8M + 10SM$ , essa espécie diferiu de *I. macrophylla* em número de cromossomos e morfologia. O tamanho médio total dos cromossomos

entre essas duas espécies também foi distinto, sendo de 5,66  $\mu\text{m}$  para a espécie *I. macophylla* e 9,91  $\mu\text{m}$  para *I. laurina*.

Tabela 6. Morfometria cromossômica de *Inga laurina*.  $2n = 36$ .

PC	C.total ( $\mu\text{m}$ )	Braço		IC	r	Classe
		Longo	Curto			
1	7.39	4.74	2.65	35.86	1.79	SM
2	6.21	4.00	2.21	35.60	1.81	SM
3	5.93	3.84	2.09	35.20	1.84	SM
4	5.89	3.64	2.25	38.15	1.62	SM
5	5.65	3.24	2.41	42.62	1.35	M
6	5.56	3.58	1.98	35.65	1.80	SM
7	5.21	3.31	1.89	36.38	1.75	SM
8	5.07	3.36	1.71	33.80	1.96	SM
9	5.01	2.97	2.04	40.79	1.45	M
10	4.96	2.79	2.17	43.72	1.29	M
11	4.90	2.84	2.06	41.96	1.38	M
12	4.81	3.17	1.63	34.00	1.94	SM
13	4.58	2.75	1.83	39.94	1.50	SM
14	4.44	2.57	1.86	42.02	1.38	M
15	4.35	2.47	1.88	43.29	1.31	M
16	4.29	2.45	1.84	42.92	1.33	M
17	4.20	2.43	1.78	42.26	1.37	M
18	3.74	2.55	1.19	31.90	2.13	SM
<b>Total</b>	178.54	110.32	68.21			

PC (Par Cromossômico); IC (Índice Centromérico); r (Razão entre Braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico).

A equação cariotípica observada para *I. nobilis* (Tabela 7) foi  $2n = 3M + 11SM$ , sendo três pares metacêntricos 3, 12 e 14, e onze pares submetacêntricos (1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e 13). Os cromossomos variaram de 22,86 $\mu\text{m}$  (PC1) a 7,81 $\mu\text{m}$  (PC14), sendo o tamanho total médio dos cromossomo 15,23  $\mu\text{m}$ , superior a *I. laurina*, *I. edulis* e *I. pilosula*.

Tabela 7. Morfometria cromossômica de *Inga nobilis*.  $2n = 28$ .

PC	C.total ( $\mu\text{m}$ )	Braço		IC	r	Classe
		Longo	Curto			
1	22.86	15.79	7.07	30.93	2.23	SM
2	20.40	13.86	6.54	32.06	2.12	SM
3	19.40	11.18	8.22	42.39	1.36	M
4	18.39	12.57	5.81	31.62	2.16	SM
5	17.54	12.24	5.30	30.23	2.31	SM
6	17.29	11.18	6.11	35.33	1.83	SM
7	15.89	9.84	6.04	38.04	1.63	SM
8	15.17	10.21	4.96	32.71	2.06	SM
9	14.21	10.05	4.16	29.26	2.42	SM

<b>10</b>	12.44	8.06	4.38	35.22	1.84	SM
<b>11</b>	11.57	7.86	3.71	32.08	2.12	SM
<b>12</b>	11.07	6.05	5.02	45.33	1.21	M
<b>13</b>	9.31	6.01	3.30	35.48	1.82	SM
<b>14</b>	7.81	4.62	3.19	40.84	1.45	M
<b>Total</b>	213.35	139.52	73.83			

PC (Par Cromossômico); IC (Índice Centromérico); r (Razão entre Braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico).

A espécie *I. macrophylla* (Tabela 8) apresentou cromossomos variando de 7,71  $\mu\text{m}$  (PC 1) a 3,57  $\mu\text{m}$  (PC 15) no tamanho total, contendo oito pares metacêntricos (1, 2, 3, 5, 7, 10, 13 e 15) e sete pares submetacêntrico (4, 6, 8, 9, 11, 12, e 14) resultando na fórmula cariotípica para espécie  $2n = 8M + 7SM$ .

Tabela 8. Morfometria cromossômica de *Inga macrophylla*.  $2n = 30$ .

PC	C.total ( $\mu\text{m}$ )	Braço		IC	r	Classe
		Longo	Curto			
<b>1</b>	7.71	4.52	3.19	41.36	1.42	M
<b>2</b>	7.25	4.27	2.98	41.14	1.43	M
<b>3</b>	6.97	3.80	3.17	45.47	1.20	M
<b>4</b>	6.73	4.23	2.50	37.15	1.69	SM
<b>5</b>	6.69	3.85	2.83	42.36	1.36	M
<b>6</b>	6.44	4.40	2.05	31.78	2.15	SM
<b>7</b>	5.56	3.06	2.50	45.03	1.22	M
<b>8</b>	5.42	3.29	2.13	39.26	1.55	SM
<b>9</b>	5.32	3.27	2.04	38.42	1.60	SM
<b>10</b>	5.21	3.10	2.11	40.49	1.47	M
<b>11</b>	4.74	3.00	1.74	36.73	1.72	SM
<b>12</b>	4.60	2.77	1.82	39.66	1.52	SM
<b>13</b>	4.45	2.61	1.84	41.39	1.42	M
<b>14</b>	4.29	2.65	1.64	38.22	1.62	SM
<b>15</b>	3.57	2.10	1.47	41.15	1.43	M
<b>Total</b>	84.93	50.92	34.01			

PC (Par Cromossômico); IC (Índice Centromérico); r (Razão entre Braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico).

O cariótipo de *I. pilosula* (Tabela 9) apresenta cromossomos que variam de 7,32  $\mu\text{m}$  (PC1) a 3,21  $\mu\text{m}$  (PC13), o segundo menor valor médio para tamanho dos cromossomos 4,86  $\mu\text{m}$ . A equação cariotípica para espécie foi  $2n = 8M + 7SM$ , em que os pares 3, 6, 7, 8, 9 e 11 são metacêntricos e os pares 1, 2, 4, 5, 10, 12 e 13 são submetacêntricos.

As diferenças no cariótipo intraespecífico podem ser resultado de variações genéticas entre populações resultando em diversidade cariotípica a nível intraespecífico, resultado de rearranjos estruturais (MOSCONI, 1990; Cid e

PALOMINO, 1996). El-Bok et al. (2014) cita que essas variações estruturais intraespecíficas têm a origem geográfica, o que pode explicar as diferenças cariotípicas encontradas na literatura, com as vistas neste estudo

Tabela 9. Morfometria cromossômica de *Inga pilosula*. 2n = 26.

PC	C.total ( $\mu\text{m}$ )	Braço		IC	r	Classe
		Longo	Curto			
1	7.32	4.46	2.86	39.04	1.56	SM
2	6.33	4.31	2.01	31.83	2.14	SM
3	6.09	3.60	2.49	40.94	1.44	M
4	5.84	4.03	1.81	31.05	2.22	SM
5	5.22	3.59	1.63	31.16	2.21	SM
6	4.96	2.87	2.09	42.16	1.37	M
7	4.64	2.75	1.89	40.75	1.45	M
8	4.34	2.52	1.82	41.95	1.38	M
9	4.15	2.35	1.80	43.40	1.30	M
10	3.94	2.52	1.42	36.09	1.77	SM
11	3.65	2.02	1.64	44.80	1.23	M
12	3.58	2.26	1.32	36.87	1.71	SM
13	3.21	2.14	1.07	33.43	1.99	SM
<b>Total</b>	63.27	39.41	23.86			

PC (Par Cromossômico); IC (Índice Centromérico); r (Razão entre Braços); M (Metacêntrico); SM (Submetacêntrico).

Ao longo da evolução, ocorreram mudanças no cariótipo das espécies. Em estudo, contudo, podemos observar que o cromossomo quatro se manteve conservado quanto à posição do centrômero, assim como o cromossomo seis, exceto na espécie *I. pilosula*. Com base nos dados morfométricos das espécies de *Inga*, foram estimados os índices de assimetria intercromossômica  $A_2$  e índice de assimetria cariotípica AI (ROMERO ZARCO, 1986; PASZKO, 2006).

Os índices de assimetria cromossômica e cariotípica são comumente utilizados para observar a variação entre e dentro de diferentes táxons (PASZKO, 2006). Para os táxons em que são observados maiores valores de assimetria cariotípica tal variação pode indicar plantas basais evolutivamente. Contrário a isso, menores índices caracterizam plantas mais derivadas.

Outros indicativos de evolução cariotípica é a diminuição do tamanho cromossômico juntamente com o aumento do grau de assimetria (STEBBINS, 1971; MORALES, 2008).

Quando os valores de índice de assimetria intercromossômica são altos, pode ser resultado de mudanças que ocorrem na posição do centrômero ou diferenças no tamanho total dos cromossomos, o que resulta em cariótipos

heterogêneos. Essas mudanças podem ser resultados de poliploidias, disploidias, inversões e translocações desiguais detectáveis (PASZKO, 2006; FERREIRA, 2018).

O índice de assimetria intercromossômica  $A_2$  descreve a variação no comprimento cromossômico, e, por ser o desvio padrão, descreve de forma mais sensível e adequada a variação do comprimento cromossômico existente (ROMERO ZARCO, 1986; PASZKO, 2006). O índice de assimetria cariotípicas AI verifica a heterogeneidade do comprimento cromossômico e da posição centromérica, apresentando alta acurácia e sensibilidade para análise de assimetria cariotípica (PASZKO, 2006).

O índice de assimetria intercromossômica ( $A_2$ ) para as espécies em estudo variaram de 0,16 a 0,36, e o índice de assimetria cariotípica (AI) de 1,62 a 5,79, conforme a Tabela 10.

*I. macrophylla* e *I. laurina* são as espécies mais basais dentro das espécies estudadas uma vez que apresentam os maiores valores de AI. A espécie *I. edulis* pode ser classificada como a mais derivada uma vez que AI observado no estudo é o maior, dentre as espécies avaliadas. *I. pilosula* apresentou valores próximos a *I. nobilis* sendo valores intermediários os observados no estudo.

Tratando da variação AI é produto da variação relativa no comprimento do cromossomo (CVCL) e um componente que expressa a variação relativa do índice centromérico (CVCI), dessa forma possibilita observar a heterogeneidade no tamanho dos cromossomos ou no índice centromérico do cariótipo em estudo (PASZKO, 2006). Assim, das cinco espécies estudadas, *Inga edulis* apresenta cromossomos mais assimétricos, seguido de *I. nobilis* e *I. pilosula*, *I. macrophylla* e *I. laurina*, sendo esta última a espécie que apresentou maior simetria no tamanho cromossômico, apresentando maior número cromossômico com menores tamanhos.

Tabela 10. Índices de assimetria intercromossômica ( $A_2$ ) e índice de assimetria (AI) de 5 espécies do gênero *Inga* L.

<b>Espécies</b>	<b><math>A_2</math></b>	<b>AI</b>
<i>Inga edulis</i>	0,36	5,79
<i>Inga laurina</i>	0,16	1,62
<i>Inga nobilis</i>	0,27	3,73
<i>Inga macrophylla</i>	0,21	1,72
<i>Inga pilosula</i>	0,24	3,00

O aumento da assimetria no cariótipo pode ser decorrente de diversos fatores dentre eles translocações Robertsonianas, inversões e translocações desiguais que podem ser observadas através da análise do comportamento meiótico (ROMERO ZARCO, 1986), dentre outros fatores.

De acordo com observado na Figura 6, houve variação no número e morfologia dos cromossomos das cinco espécies estudadas, todas apresentam cromossomos grandes.

As duas espécies já descritas, *I. edulis* e *I. inga laurina*, apresentaram divergência quanto ao número cromossômico observado. O primeiro apresentou um par cromossômico acrocêntrico e os demais metacêntricos e submetacêntrico. Foi notória a heterogeneidade no tamanho cromossômico e essa assimilaridade no tamanho dos cromossomos também foi observada por Matos et al. (2009) estudando *I. edulis*.

Em *I. edulis* o par cromossômico 1, foi classificado como acrocêntrico e o se homólogo como submetacêntrico (Figura 7A), existe também uma diferença no tamanho dos braços longo do par que pode ser resultado de translocações desiguais entre os cromossomos, esse tipo de translocação também foi observado no par cromossômico 4.

O cariótipo obtido para *I. laurina* (Figura 7B) diverge em número ao encontrado na literatura. Porém quanto a morfologia se apresenta semelhante uma vez que em ambos os estudos os cromossomos da espécie se mostraram diminutos e simétricos (HANSON, 1995). Essa espécie exibiu os menores valores encontrados para os índices de assimetria, foi, tal uniformidade e baixa assimetria permite pressupor que a espécie seja mais basal comparada as demais.

Houve semelhança no número cromossômico apresentados pela espécie *I. edulis* com *I. nobilis* (Figura 7C), ambas apresentaram 28 cromossomos. Contudo, os valores de assimetria para a espécie foram maiores, mostrando-se mais simétricos que o primeiro. Mesmo apresentando maior homogeneidade, os cromossomos da espécie são distintos, tanto entre os pares quanto dentro de cada par homólogo, a exemplo o cromossomo 1 e o 6 que apresenta o braço longo ligeiramente maior que o braço longo do cromossomo homólogo. Para essa espécie, essa é a primeira descrição citogenética.

O cariótipo que apresentou maior média no tamanho dos cromossomos foi *I. macrophylla* (Figura 7D), com cromossomos metacêntricos e submetacêntricos. O número cromossômico encontrado diverge do número básico  $x = 13$  abordado por Shibata (1986), cujo cariótipo é um dos mais simétricos entre as espécies estudadas, sendo esse trabalho a primeira descrição cariotípica também para *I. macrophylla*.

A espécie *I. pilosula*, em consonância com a literatura, apresentou  $2n = 26$  cromossomos. O cariótipo apresenta moderada assimetria, com pares cromossomos metacêntricos e submetacêntricos. Os pares 2 e 4 apresentaram divergência entre seus homólogos, em que um cromossomo acrocêntrico faz par com cromossomo metacêntrico e submetacêntrico, o que pode ser atribuído a translocações desiguais entre os cromossomos gerando essa formação. Essa espécie apresentou também maior conteúdo de DNA, menores valores em número cromossômico.



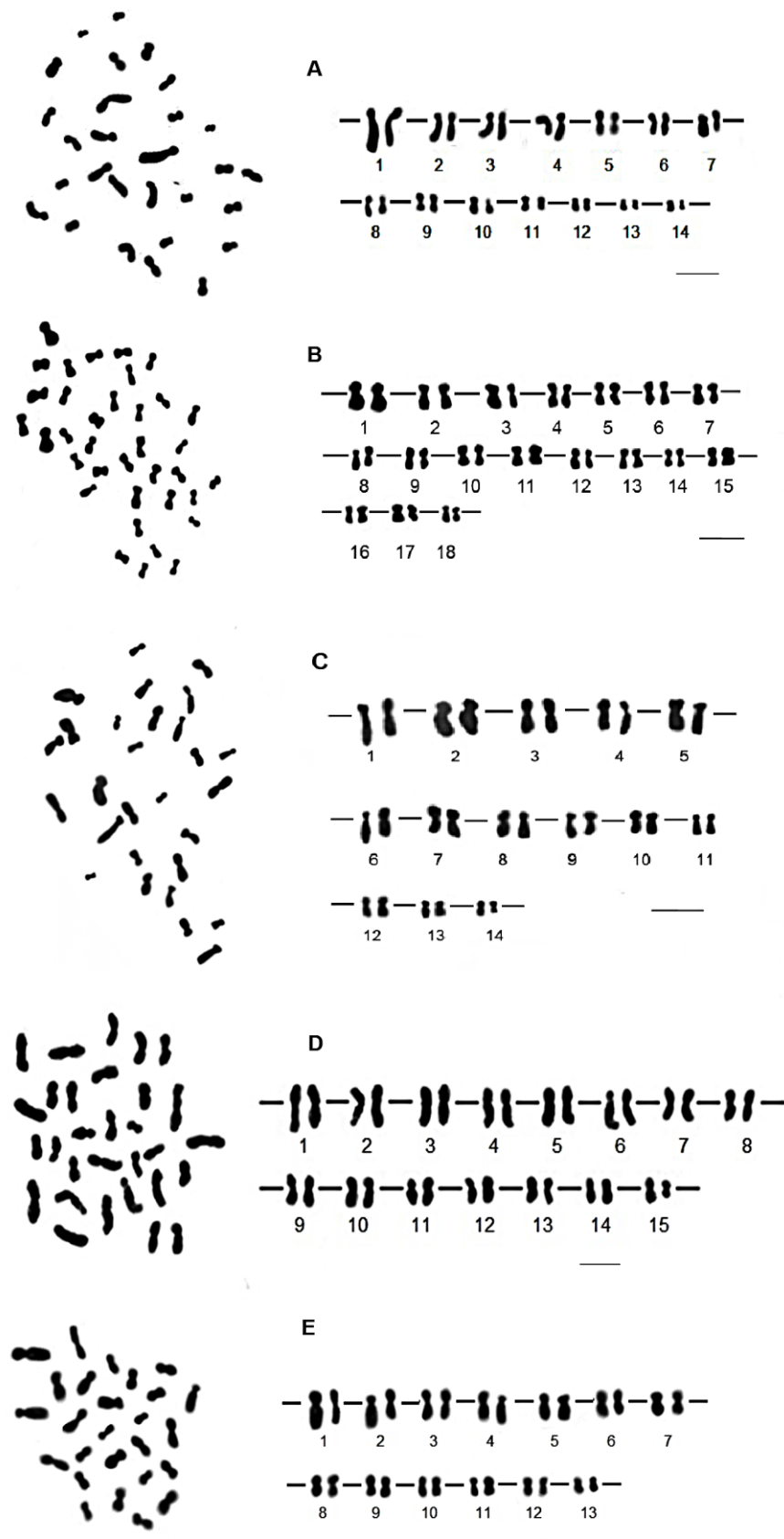


Figura 7 – Metáfase mitótica de *I. edulis* (A, cromossomos acrocêntricos nos pares 1, 4 e 7), *I. laurina* (B, cromossomo acrocêntrico no par 8), *I. nobilis* (C, cromossomos acrocêntricos nos pares 1 e 6), *I. macrophylla* (D, cromossomo acrocêntrico no par 11) e *I. pilosula* (E,

cromossomos acrocêntricos nos pares 2 e 4), pré-tratados com 3 µm de amiprofos-metil (APM), corados com Giemsa 5 %. Barra 10 µm.

### 4.3 – DIVERSIDADE GENÉTICA

O agrupamento tem for finalidade reunir por meio de critérios de classificação agrupando para que haja homogeneidade dentro do grupo e heterogeneidade entre os grupos (CRUZ et al., 2012). Para confecção do dendrograma, foi utilizado o método UPGMA, ligação média entre grupos obtida pela distância euclidiana média padronizada. Esse método foi o que expressou maior correlação cofenética CCC para os dados (0,95), indicando maior consistência no padrão de agrupamento e esse coeficiente foi significativo a 1 %.

De acordo com a Figura 7, podemos dividir as espécies em dois grupos, como mostra Mojema (1977), baseado no tamanho relativo das distâncias. O corte feito a 0,70\*\* atribui ao grupo 1 as espécies *I. edulis* e *I. macrophylla*, *I. laurina* e *I. pilosula*, já *I. nobilis* formou outro grupo distinto. De acordo com Richardson (2001), por meio de uma matriz de dados com marcadores ITS observou que *I. edulis* e *I. nobilis* eram mais próximas entre si. Quando os dados foram obtidos através de uma matriz de dados de marcadore *trnL-F*, *I. laurina* e *I. nobilis* eram mais próximas. Os dados utilizando esses dois marcadores divergem do obtido de dados citogenéticos uma vez que *I. nobilis* foi a espécie mais distantes das demais.

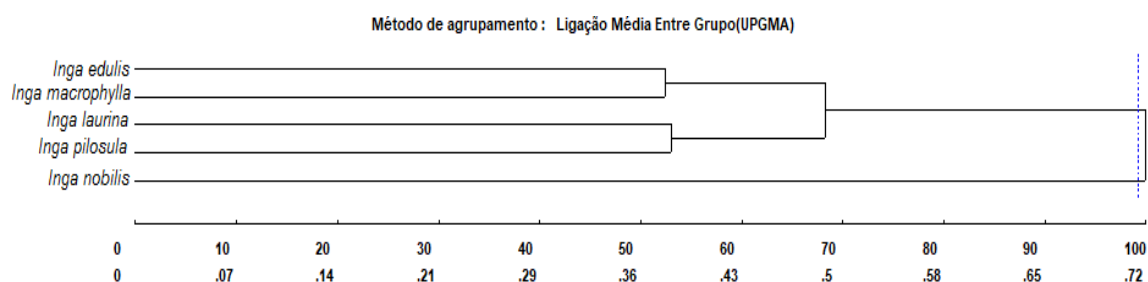


Figura 7. Dendrograma estabelecido pelo método UPGMA, com base na dissimilaridade obtida pela distância euclidiada, agrupamento referente à divergência genética de cinco espécies *Inga* Mill.

Dentre as espécies estudadas as que apresentaram maior dissimilaridade entre si de acordo com SINGH, foram as espécies 2 e 3 (*I. laurina* e *I. nobilis*) e as espécies mais próximas foram as espécies 1 e 4 (*I. edulis* e *I. macrophylla*).

Para dissimilaridade entre as espécies a variável que mais contribuiu foi a ICMC (Índice de assimetria do maior cromossomo) (Tabela 11), seguido do ICmC

(Índice de assimetria do menor cromossomo) de forma que esse índice foi o fator que dividiu as cinco espécies em estudo em dois grupos distintos. O ICMC médio para as espécies do grupo 1 foram 20,30 e 35,70 (1 e 4, *I. edulis* e *macrophylla*), 35,44 e 34,10 (2 e 5, *I. laurina* e *pilosula*) respectivamente e para o grupo 2 *I. nobilis* o valor de 15,71, mostrando que a espécie de *I. nobilis* apresentou resultado inferior as demais compondo um grupo.

Tabela 11 - Contribuição relativa das variáveis para divergência genética de cinco espécies do gênero *Inga* Will, ICMC índice centromérico do maior cromossomo, ICmC índice centromérico do menor cromossomo, M metacêntrico, SM submetacêntrico, A acrocêntrico, CTMC comprimento total do maior cromossomo, CTmC comprimento total do menor cromossomo, CMBL comprimento do maior braço longo, CmBL comprimento do menor Braço longo, RMC razão centromérica do maior cromossomo, RmC razão centromérica do menor cromossomo, CMBC comprimento do maior braço curto, CmBC comprimento do menor braço curto e DNA conteúdo 2c de DNA nuclear.

Variáveis	Contribuição (%)
ICMC	63,31
ICmC	9,20
M	8,51
SM	4,75
A	4,58
CTMC	2,65
CMBL	2,40
RMC	1,95
DNA	1,46
CMBC	0,57
CTmC	0,34
CmBL	0,14
CmBC	0,05
RmC	0,03

## 5. CONCLUSÕES

O número cromossômico encontrado para as espécies *Inga edulis* e *Inga laurina*  $2n = 28$  e  $2n = 36$  diverge da literatura. Para *Inga pilosula*, *Inga macrophylla* e *Inga nobilis* essa é a primeira descrição apresentando  $2n = 28$ ,  $2n = 30$  e  $2n = 26$  ampliando o conhecimento a respeito da citogenética do grupo.

Destas espécies *I. edulis* e *I. nobilis* apresentaram mesmo número cromossômico, sugere que as variações encontradas nesse estudo comparado com a literatura seja decorrente de eventos de disploidia ascendente e descendente e poliploidia.

O conteúdo de DNA foi distinto para todas as espécies estudadas. As mais próximas foram *I. edulis* e *I. macrophylla* apresentando 2,44 pg e 2,43 pg respectivamente, as espécies citadas também divergem quanto ao número cromossômico.

*Inga laurina* é a espécie mais simétrica quanto à morfologia cromossômica, e *Inga edulis* à espécie com maior assimetria tanto cariotípicas quanto intercromossômica, sendo notório que existe grande variação entre às espécies e podendo atestar que estão em processo de evolução distintos e algumas de ocorrência recente.

Quando a diversidade genética *I. nobilis* foi à espécie que diferiu das demais sendo o índice centromérico do maior cromossomo a variável que mais contribuiu para a formação dos grupos, apresentando valor de 15,71 para a espécie citada.

## REFERÊNCIAS

- AARESTRUP, J. R. **Análise morfológica dos cromossomos de pimentão (*Capsicum annuum* L.)**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2001. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento).
- ABIB, M. C. S. **Adubação verde com ingá (*inga edulis*) em solo latossolo amarelo de quintais agroflorestais na Amazônia Centra**. Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 2017. 66. Dissertação (Agricultura no Trópico Úmido.).
- AGRICULTURE AND AGRI-FOOD CANADA. **Acession queries, taxonomic queries and research crops descriptor: evaluation data queries**. Canada, 2003.
- AGUIAR, O. T. de; PASTORE, J. A.; ROCHA, F. T.; BAITELLO, J. B. Flora fanerogâmica de um trecho da floresta densa secundária no Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Cunha/Indaiá – Cunha (SP). **Revista do Instituto Florestal**, v. 13, n. 1, p. 1-18, 2001.
- AMARAL-SILVA P. M., CLARINDO W. R., CARRIJO T. T., CARVALHO C. R., PRAÇA-FONTES M. M. The contribution of cytogenetics and flow cytometry for understanding the karyotype evolution in three *Dorstenia* (Linnaeus, 1753) species (Moraceae). **Comparative Cytogenetics** 10(1): 97-108, 2016. Doi: <https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v10i1.6719>
- MILTRE, L. K.; MARQUES, A. M.; CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W.R. APLICAÇÃO DA CITOMETRIA DE FLUXO NA IDENTIFICAÇÃO DE HÍBRIDOS INTERESPECÍFICOS DE *Coffea*. In: XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação, Paraíba 2010.
- ATCHISON E. Studies in the Leguminosae. II. Cyto geography of *Acacia* (Tourn.) L. **American Journal of Botany** v.35: 651 - 655. 1949.
- ATCHISON, E. Studies in the Leguminosae VI. Chromosome number among tropical woody species. **American journal of Botany**, v.38, p.538-54, 1951. Doi: [doi:10.2307/2438013](https://doi.org/10.2307/2438013)
- BARNEBY, R. C.; GRIMES, J. W. Silk tree Guanacaste, monkey's earring: A generic system for the synandrous mimosaceae of the americanas. **Memoirs of the New York Botanical Garden**. v.74, p.1-292, 1996.
- BENNET, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Annals of Botany**, v. 76, n. 2, p. 113-176, 1995.
- BENNET, M.D. Nuclear DNA content and minimum generation time in herbaceous plants. **Proceedings of the Royal Society of London B**, v.181, n. 1063 p.109-135, 1972.
- Bennett M. D.; Leitch I. J. Pesquisa de tamanho de genoma vegetal: um campo em foco. **Annales Botanici** 95: 1–6. 2005. doi:10.1093 / aob / mci001

BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in Angiosperms: progress, problems and prospects. **Annals of Botany**, 95 (1): 45–90, 2005.

BERTÃO, M. R. **Evolução cariotípica no gênero *Capsicum* (Solanaceae)**. Piracicaba, SP: ESALQ, 148 p 1993. (Dissertação- Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

BRAMMER, S. P.; ZANOTTO, M.; CAVERZAN, A. 2007. **Citogenética vegetal: da era clássica à molecular**. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/852541/1/pdo85.pdf>> Acesso em: 02, dezembro, 2019.

BRASILEIRO-VIDAL, A. N.; GUERRA, M. **Citogenética molecular em cereais**. In: BRAMMER, S. P.; IORCZESKI, E. J. (Org.). Atualização em técnicas celulares e moleculares aplicadas ao melhoramento genético vegetal. Passo Fundo: Embrapa Trigo, p. 277-298. 2002.

BRITO L. F. C.; BARTH A. D; BILODEAU-GOESEELS S.; PANICH P. L.; KASTELIC J. P. Comparison of methods to evaluate the plasmalemma of bovine sperm and their relationship with in vitro fertilization rate. **Theriogenology**, v.60, p.1539-1551, 2003

CALDERON, L. A.; LEITE, J. S. R. A.; BLOCH, C. Serine protease inhibitors from Amazon Leguminosae seeds: purification and preliminary characterization of two chymotrypsin inhibitors from *Inga umbratica*. **Protein and Peptide Letters**, v 8, 485. 2001.

CAMPOS FILHO, E. M., & Sartorelli, P. A. R. Guia de árvores com valor econômico. **Agroicone**. 2015.

CARDOSO, M. B.; SCHIFINO-WITTMANN, Maria Teresa; BODANESE-ZANETTINI, Maria Helena. Taxonomic and evolutionary implications of intraspecific variability in chromosome numbers of species of *Leucaena* Benth. (Leguminosae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, 134.4: 549-556. 2000.

CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W. R.; ALMEIDA, P. M. Plant cytogenetics: still looking for the perfect mitotic chromosomes. **Nucleus**. 50:53-462. 2007.

CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W. R.; PRAÇA, M. M.; ARAÚJO, F. S.; CARELS, N. Genome size, base composition and karyotype of *Jatropha curcas* L., an important biofuel plant. **Plant Science**. 174:613–617, 2008.

CID, R.; PALOMINO, G. Cytotypes and meiotic behavior in Mexican populations of *Myrtillocactus geometrizans* var. *geometrizans* (Cactaceae). **Cytologia**. 61:343-348, 1986.

CLARINDO, W. R., & CARVALHO, C. R. Comparison of the *Coffea canephora* and *C. arabica* karyotype based on chromosomal DNA content. **Plant Cell Reports**, 28(1), 73. 2009.

CORREA, S. M. V. C.; CONSERVA, L. M.; MAIA, J. G. S. Constituents of roots of *Inga edulis* var. *Parviflora*. *Fitoterapia*, Milano, v.66, p. 379, 1995.

COSTA, M. P. da.; MANTOVANI, W. Composição e estrutura de clareiras em mata mesófila na Bacia de São Paulo-SP. **Revista do Instituto Florestal** v. 4, pt. 1, p. 178-183, 1992.

CRUZ, C.D.; REGAZZI, A.J.; CARNEIRO, P.C.S. **Modelos biométricos aplicados ao melhoramento de plantas**. 4 ed. v.1. Viçosa: UFV, 2012

CRUZ, M. F. S. J.; PEREIRA, G. M.; RIBEIRO, M. G.; SILVA, A. M.; TINOCO, L. W.; SILVA, B. P.; PARENTE, J. P. Ingasaponin, a complex triterpenoid saponin with immunological adjuvant activity from *Inga laurina*. **Carbohydrate Research**, 420, 23, 2016.

OLIVEIRA, D. L.; ROCHA, C.; MOREIRA, P. C.; MOREIRA S. O. L. PLANTAS NATIVAS DO CERRADO: UMA ALTERNATIVA PARA FITORREMEDIAÇÃO, **Estudos**, v. 36, n. 11/12, p. 1141-1159, 2009.

DE DAVID, Margô; GONÇALVES, Karina Gondolo; NETO, Germano Guarim. A SUBFAMÍLIA MIMOSOIDEAE (FABACEAE) PARA A FLORA DE MATO GROSSO, BRASIL. **Biodiversidade**, v. 14, n. 3, 2015.

DOLEZEL J, BARTOS J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Ann Bot** 95:99–110. 2005. doi:10.1093/aob/mci005

DOLEZEL J, CÍHALÍKOVÁ J, LUCRETTI S. A high-yield procedure for isolation of metaphase chromosomes from root tips of *Vicia faba* L. **Planta** 188:93–8.1992;

DOLEZEL, J. Applications of flow cytometry of nuclear DNA content in higher plants. **Phytochemical Analysis**, 2: 143-154, 1991.

DOLEZEL, J. Applications of flow cytometry for the study of plant genomes. **Journal of Applied Genetics**, v. 38, n. 3, p. 285-302, 1997.

DOLEZEL, J., GREILHUBER, J.; SUDA, J. Flow cytometry with plants: an overview. in *Flow Cytometry with Plant Cells* (eds. Dolezel, J., Greilhuber, J. & Suda, J.) 41–65 (Wiley-VCH, Weinheim, Germany), 2007.

DOLEZEL, J.; BARTOS, J. A. N. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**, 95 (1): 99-110, 2005.

DURIGAN, G.; NOGUEIRA, J. C. B. **Recomposição de matas ciliares**. São Paulo: Instituto Florestal, 14 p, 1990.

EHRENBERGEROVÁ, Lenka; CIENCIALA, Emil; KUCERA, Ales; GUY, Ludivine; HABROVÁ, Hana Carbon stock in agroforestry coffee plantations with different shade trees in Villa Rica, Peru. **Agroforestry Systems**, v. 89, p 1-13, 2015.

EL-BOK, S.; ZOGLAMI-KHELIL, A.; BEN-BRAHIM, T.; OUJI, A.; HASSEN, H., OUSSAMA, L.; JABRI, C. DOUGGARI, R. EL-GAZZAH, M. Chromosome Number and Karyotype Analysis of some Taxa of Vicia Genus (Fabaceae): Revision and Description. **International journal of agriculture & biology**. 16:1067-1074, 2014.

**Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB115>>. Acesso em: 29 Jan. 2020

FEDOROV, Andrej Aleksandrovich. Chromosome numbers of flowering plants. **Acad. Sci. USSR Moscow, Repr.** 1974, 1969, 419-429.

FERNANDES, A. F. R. D. S. **Citogenética e citometria de fluxo de espécies de Dorstenia (Moraceae) endêmicas da Floresta Atlântica**. Alegre: Universidade Federal do Espírito Santo, 2015. 57 p. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Genética e Melhoramento).

FERNANDES, J. M. **Ingeae Benth. (Leguminosae, Mimosoideae) no estado de Minas Gerais, Brasil: taxonomia, morfoanatomia de nectários extraflorais e padrões de distribuição geográfica**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2011. 298p. PhD Thesis. Tese de Doutorado.

FERNANDES, J. M.; GARCIA, F. C. P.; AMOROZO, M. C. M.; SIQUEIRA, L. C.; MAROTTA, C. P. B.; CARDOSO, I. M. Etnobotânica de Leguminosae entre agricultores agroecológicos na Floresta Atlântica, Araponga, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, v. 65, n. 2, p.539-554, 2014.

FERREIRA, D. A. T. **CARIÓTIPO E CONTEÚDO DE DNA NUCLEAR DE Passiflora L.: UMA CONTRIBUIÇÃO PARA SISTEMÁTICA E EVOLUÇÃO DO GÊNERO**. Alegre: Universidade Federal do Espírito Santo, 2018. 94 p. Tese (Genética e Melhoramento),

FILIPPS, R. A. DE; MAINA S. L.; CREPIN, J. **Plantas Medicinais das Guianas**. 2004. Disponível em: <http://botany.si.edu/bdg/medicinal/medplantsgui3.pdf>

FONSECA, S. C. L.; FREIRE, H. B. Sementes Recalcitrantes: Problemas na pós - colheita. **Bragantia**, 62(2): 297-303. 2003;. <http://dx.doi.org/10.1590/S0006-87052003000200016>

FRANCO, A.A.; RESENDE, A.S.; CAMPELLO, E.F.C. Importância das leguminosas arbóreas na recuperação de áreas degradadas e na sustentabilidade de sistemas agroflorestais. In: Seminário sistemas agroflorestais e desenvolvimento sustentável, Campo Grande – MS, 2003. Anais: Seminário sistemas agroflorestais e desenvolvimento sustentável 24p

FREEMAN, S.; HERRON, J. C. Evolutionary analysis. Upper Saddle River, NJ: **Pearson Prentice Hall**, 2007.

FREITAS NETO, M. **Tamanho do genoma e cariotipagem convencional e diferencial em coqueiro (Cocos nucifera L.)**. Campos dos Goytacazes:



Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, 2014. 77p. (Tese - Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas).

Garcia, F. C. P. & Fernandes, J. M. 2010. **Inga Mill.** In: Rafaela Campostrini. (Org.). GARCIA, F.C.P. **Relações Sistemáticas e fitogeográficas do Gênero Inga Miller (Leguminosae. Mimosoideae. Ingeae) nas Florestas da Costa Sul e Sudeste do Brasil.** 248f. Tese. (Doutorado). Universidade Estadual Paulista, Rio Claro-SP. 1998.

Garcia, F.C.P., Fernandes, J.M. 2015. **Inga in Flora do Brasil 2020** em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB22803>>. Acesso em: 25 Jul. 2018

GUERRA, M. 1988. **Introdução a citogenética geral.** Rio de Janeiro: Guanabara. 142p.

GUERRA, M. dos S. Characterization of different types of condensed chromatin in *Costus* (Zingiberaceae). **Plant Systematics and Evolution**, 158:107-115, 1988.

GUERRA, M. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. **Revista Brasileira de Genética**. 9:741-743, 1986.

HANSON, L. Some new chromosome counts in the genus *Inga* (Leguminosae: Mimosoideae). **Kew Bulletin**, Kew, v. 50, n. 4, p. 801-804, 1995.

INGA **in Flora do Brasil 2020 em construção.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB22803>>. Acesso em: 24 de setembro de 2016.

JOHNSTON, J. S.; BENNETT, M. D.; RAYBURN, A. L.; GALBRAITH, D. W.; PRICE, H. J. Reference standards for determination of DNA content of plant nuclei. **American Journal of Botany**, v. 86, n. 5, p. 609-613, 1999.

KANTAMA, L.; WIJNKER, E.; JONG, H. Optimization of Cell Spreading and Image Quality for the Study of Chromosomes in Plant Tissues. In: SCHMIDT, A. (ed.). **Plant Germline Development.** New York: Humana Press. p. 141-158. 2017.

KINUPP, V. F.; LORENZI, H. Plantas alimentícias não convencionais (PANC) no Brasil: um guia de identificação, aspectos nutricionais e receitas ilustradas. São Paulo: **Instituto Plantarum de Estudos da Flora**, 768p., 2014.

KRON. P.; SUDA, J.; MARIDO B.C. Aplicações da citometria de fluxo à biologia evolutiva e populacional. **Annu Rev Ecol Evol Syst** 38: 847–876. 2007.

KUMAR, B.M.; NAIR, P.K.R. The enigma of tropical homegardens. **Agroforestry Systems**. 61: 135-152. 2004.

LEITE, C. T., FERREIRA, D. A. T., VIEIRA, A. T., PRAÇA-FONTES, M. M., FERREIRA, A., CARVALHO, C. R., & CLARINDO, W. R. In vitro responses in *Passiflora* species with different chromosome numbers, ploidy levels and nuclear 2C

values: revisiting and providing new insights. **Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)**, 136(3), 549-560. (2019).

LEVAN, A.; FREDGA, A.; SANDERBERG, A. A. Nomenclature for centromeric position in chromosome. **Hereditas**. 52:201-220, 1964.

LEVITSKY, G. A. The karyotype in systematics. **Bulletin of Applied Botany, Genetics and Plant Breeding**. 27:220–240, 1931.

LEWIS, G. P.; SCHRIRE, B.; MacKINDER, B.; LOCK, M. Leguminosae or Fabaceae: legumes of the world. 10. ed. **Kew: Royal Botanic Gardens**, 2005. 578 p.

LEWIS, G.P., SCHRIRE, B., MACHINDER, B.; LOCK, M. Legumes of the World. **Kew: Royal Botanic Gardens**, 2005.

LIMA, N.; SANTOS, V.; LA PORTA, F. A. Quimiodiversidade, bioatividade e quimiosistemática do gênero *Inga* (Fabaceae): uma breve revisão. **Rev Virtual Quim**, 10: 459-473. 2018

FERNANDES, L. **Cariótipo e conteúdo de DNA nuclear de quatro espécies do gênero *Costus* L.: uma contribuição citotaxonômica e evolutiva**. Alta Floresta: Universidade do Estado de Mato Grosso, 2018. 72p. **Dissertação** 9Programa de pós graduação em genética e melhoramento de plantas).

LINNAEUS, C. **Systema Naturae**. Lugduni Batavorum. 1735.

Lokvam, J.; Kursar, T. A. Divergence in structure and activity of phenolic defenses in young leaves of two co-occurring *Inga* species. **Journal of Chemical Ecology** 2005, 31, 1109.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: **Editora Plantarum**, 167 p. 2002.

LORENZI, H.; Árvores Brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. Nova Odessa: **Editora Plantarum** p. 169. 1998.. ISBN 13:9788586714412

LOUREIRO, J.; CASTRO, M.; DE OLIVEIRA, J. M.; ANTUNES, P.; CANHOTO, J.; CASTRO, S. Aplicações da citometria de fluxo em horticultura. **Revista da APH**, v. 108, p. 26, 2012.

MARHOLD K, KUDOH H, PAK JH, WATANABE K, SPANIEL S, LIHOVA J  
Diversidade do citótipo e variação do tamanho do genoma no leste Poliploidia asiática *Cardamine* (Brassicaceae). **Ann Bot** 105: 249–264. 2010. doi:10.1093 / aob / mcp282

MATOS, D. L.; FARIAS, C. C. M.; KARSBURG I. V. Caracterização Morfológica dos cromossomos de *Inga edulis*. In: 2ª Jornada Científica da UNEMAT - CONIC. Cáceres -MT, 2009. Anais: **2ª Jornada Científica da UNEMAT – CONIC**, 2009.

MILLER, P. **The gardener's dictionary abridged**: London, 4 ed. s.n. , v.3, 1754.

Miller, R.P.; Penn, J.W.; Leeuwen. Amazonian homegardens: their ethnohistory and potential contribution to agroforestry development. In *Tropical Homegardens: A Time-Tested Example of Sustainable Agroforestry*. Kumar, B.M. and Nair, P.K.R. Eds. Pp 43-60. Springer. 2006.

MORALES, A. G. **Evolução cromossômica de espécies de *Crotalaria* (L.) da seção *Hedriocarpae*, subseção *Macrostachyae* (Leguminosae- Papilionoideae)**. Piracicaba: Universidade de São Paulo, 2008. 70p. Dissertação - Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas).

MOSCONI, E. A. Chromosome studies on *Capsicum* (Solanaceae). In: Karyotype analysis in *C. chacoense*. **Brittonia**. 42:147-154, 1990.

NAZEER, M. A. MADHUSOODANAN, K.J. Intraspecific polyploidy in *Mimosa pudica* Linn. **Currier Science**, Texas, v. 52, p. 128-129, 1983.

OBALLA, P.O.; OLING' OTIE, P. A. S. Chromosome numbers in two African *Acácia* species. **Kew Bull.** 49:107 - 113. 1994.

OHRI, D.; BHARGAVA, A.; CHATTERJEE, A. Nuclear DNA Amounts in 112 Species of Tropical Hardwoods-New Estimates. **Plant biology**, v. 6, n. 5, p. 555-561, 2004.

OKAMOTO, J. M. **Ecofisiologia da germinação e do metabolismo respiratório de quatro espécies do gênero *Inga* Mill. (*Mimosaceae*) submetidas à hipoxia e anoxia**. Rio Claro: Universidade Estadual Paulista, 1998. 76f. Dissertação (Mestrado em Biologia vegetal).

O'LEARY, M. A.; GEISLER, J. H. The position of Cetacea within Mammalia: Phylogenetic analysis of morphological data from extinct and extant taxa. **Systematic Biology**, 48.3: 455-490. 1999.

BAJPAI, S.; GINGERICH, P. D. A new Eocene archaeocete (Mammalia, Cetacea) from India and the time of origin of whales. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, 95.26: 15464-15468. 1998.

PASZKO, B. A. Critical and a new proposal of karyotype asymmetry indices. **Plant Systematics and Evolution**. 258:39-48, 2006.

PERUZZI L.; EROGLU H. E. Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure. **Comparative Cytogenetics**, 7(1): 1–9, 2013.

PLANCHAIS, S.; GLAB, N.; INZÉ, D.; BERGOUNIOUX, C. Chemical inhibitors: a tool for plant cell cycle studies. **FEBS Lett.** 476:78-83, 2000.

PLUMIER, C. Novae plantarum americanarum genera. **Journal Boudot**, Parisi, p.13, 1703.

POMPEU, D. R.; KARIN, H. R.; MONTEIRO, M.; TINTI, S. V.; CARVALHO, J. E. Capacidade antioxidante e triagem farmacológica de extratos brutos de folhas de *Byrsonima crassifolia* e de *Inga edulis*. **Acta Amazônica** 2012, 42, 165.

POSSETTE, R. F.S., RODRIGUES, W.A. O gênero *Inga* Miller (Leguminosae – Mimosoideae) no estado do Paraná, Brasil. **Acta Botânica Brasileira** 24(2): 354-368. 2010. <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-33062010000200006>

PRAÇA-FONTES, M. M.; CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W. R.; CRUZ, C. D. Revisiting the DNA C-values of the genome size-standards used in plant flow cytometry to choose the “best primary standards”. **Plant Cell Reports**, v. 30, n. 7, p. 1183-1191, 2011.

R Core Team (2019). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

RAGUSA-NETTO, J. & FECCHIO, A. Plant food resources in diet of a parrot community in a gallery forest of the Southern Pantanal (Brasil). **Braz, J. Biol.** 66 (4). p. 1021-1032. 2006.

REES, H., JONES, R.N. The origin of the wide species variation in nuclear DNA content. **International Review of Cytology**, San Diego, v.32, p.53-92, 1972.

REEVES, A.; TEAR, J. **Micromesure**. Version 3.3. Free Program distributed by the authors over the internet from Department of Biology at Colorado State University, 2000.

RICHARDSON, J.E., PENNINGTON, R.T., PENNINGTON, T.D., HOLLINGSWORTH, P.M. Rapid Diversification of a Species-Rich Genus of Neotropical Rain Forest Trees. **Science** Vol 293 nº5538. p. 2242-2245. 2001.

ROMERO ZARCO, C. A new method for estimating karyotype asymmetry. **Taxon**. 35:526-530, 1986.

WITTMANN, M. T. S. Determinação da quantidade de DNA nuclear em plantas. **Ciência rural**. Santa Maria. Vol. 31, n. 5 (set./out. 2001), p. 897-902, 2001.

SHIBATA, K. Cytological studies on some wild and cultivated plants of Colombia. II. Species of *Mimosaceae* and *Galegeae*. **Japan Journal Genetic**, Tokyo, v. 37, p. 410, 1962.

SILVA, A. F. da; OLIVEIRA, R. V. de; SANTOS, N. R. L.; PAULA, A. de. Composição florística e grupos ecológicos das espécies de um trecho de floresta semidecídua submontana da Fazenda São Geraldo, Viçosa-MG. **Revista Árvore**, Viçosa, v. 27, n. 3, p. 311-319, 2003.

Silva, E. M.; Rogez, H.; Larondelle, Y. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. **Separation and purification technology**, 55, 381. 2007.

SILVA, J. C.; CARVALHO, C. R.; CLARINDO, W. R. Updating the maize karyotype by chromosome DNA sizing. **PloS one**, 13 (1), 2018.

SILVA, R., SOARES, J., RODRIGUES, F., PASQUAL, M., PEREIRA, F., & CHAGAS, E. Análise histoquímica em sementes de ingá (*Inga cinnamomea* spruce ex benth). Bento Gonçalves: SBF, 2012. **Anais CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA**, 22p.

SOUZA, C. M.; SILVA, H. R.; VIEIRA-JR., G. M.; AYRES, M. C. C.; COSTA, C. L. S.; ARAÚJO, D. S.; CAVALCANTE, L. C. D.; BARROS, E. D. S.; ARAÚJO, P. B. M.; BRANDÃO, M. S.; CHAVES, M. H. Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova** 30, 351. 2007.

SOUZA, L. S. **Avaliação do potencial de folhas de 05 espécies de ingá para alimentação de bovinos**. Trabalho de conclusão de Curso- Universidade Estadual do Mato Grosso, Alta Floresta, 2018. 62F

SOUZA VC, LORENZI H. Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII. **Nova Odessa: Instituto Plantarum**; 2005.

SOUZA, LAG de. **Guia da biodiversidade de fabaceae do Alto Rio Negro**. Manaus: FINEP, 2012.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em Maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência Agrotécnica**, v.26, n.6, p.1209-1217, 2002.

STEBBINS, G. L. **Chromosomal Evolution in Higher Plants**. London: Edward Arnold Ltd, 216p. 1971.

SUDA, J.; LEITCH, J. I. The quest for suitable reference standards in genome size research. **Cytometry Part A** 77A:717–720. 2010. doi: 10.1002/cyto.a.20907

SYBENGA, J. Some sources of error in the determination of chromosome length. **Chromosoma**, 10.1-6: 355-364. 1959.

VIVOT, E.; MUÑOZ, J. D.; CRUAÑESA, M. C.; CRUAÑESA, M. J.; TAPIAB, A.; HIRSCHMANN, G. S.; MARTÍNEZ, E.; DI SAPIO, O.; GATTUSO, M. Inhibitory activity of xanthine-oxidase and superoxide scavenger properties of *Inga verna* subsp. *affinis*. Its morphological and micrographic characteristics. **Journal of Ethnopharmacology**, 76, 65. 2001.

WILLDENOW, C.L. *Inga*. In: LINNAEUS, C. **Species Plantarum**. 4 ed. Bertolini: v.4, pt. 2, p.1005-1027. 1806.

YANPAISAN, W.; KING, N. J.; DORAN, P. M. Flow cytometry of plant cells with applications in large-scale bioprocessing. **Biotechnology advances**, v. 17, n. 1, p. 3-27, 1999.

ZARCO, C. R. A New Method for Estimating Karyotype Asymmetry. **Taxon**, 35(3), 526. 1986. doi:10.2307/1221906

LUBKE, L. *Trema micrantha* (L.) BLUME fenologia reprodutiva, germinação e citogenética em área de restauração florestal no sudoeste do Paraná. Trabalho de Conclusão de Curso. 57 f. 2016.

GALBRAITH, D. W.; HARKINS, K. R.; MADDOX, J. M.; AYRES, N. M.; SHARMA, D. P.; FIROOZABADY, E. Rapid flow cytometric analysis of the cell cycle in intact plant tissues. **Science**, 220 (4601): 1049-1051, 1983.

MARTINEZ, A. P. Procedimentos para facilitar el estudio de cromossomas en materials vegetales difíciles. **Cuadernos G. Biological**, 5: 53-60, 1976.

OTTO, F. J. DAPI staining of fixed cells for high-resolution flow cytometry of nuclear DNA. **Methods in cell biology**, 33: 105-110, 1990.