



## Estimativa da quantidade de DNA nuclear em *Dicranopteris flexuosa* (Schrad.) Underw.

Beatriz Gouvêa Perez<sup>1</sup>, Ana Taliê Dutra Lauro<sup>1</sup>, Saulo Marçal de Sousa <sup>2</sup> & Lucas  
Vieira Lima<sup>1\*</sup>

### RESUMO

As samambaias são o segundo grupo mais diverso de plantas vasculares do planeta. No decorrer de sua história evolutiva, eventos de duplicação total do material genético contribuíram para sua diversificação e irradiação. As samambaias se destacam das demais plantas vasculares por apresentarem altos números cromossômicos com expressão diplóide, e por serem um dos poucos grupos de plantas vasculares a apresentar uma correlação positiva em número cromossômico e quantidade de DNA nuclear. Apesar de sua importância, o conhecimento acerca dos valores de C para samambaias ainda permanece incipiente, quando comparado com outros grupos de plantas. Especialmente a família Gleicheniaceae que possui apenas duas espécies amostradas. Desta forma, o objetivo deste estudo foi estimar valores de C para *Dicranopteris flexuosa*. Os resultados do presente estudo representam registros inéditos para os valores de C em *Dicranopteris flexuosa* ( $2C=9.16$ ), o que elevou para três o número de espécies investigadas na família Gleicheniaceae.

<sup>1</sup>Laboratório de Sistemática Vegetal, Centro Universitário Academia, Campus Arnaldo Janssen, R. Luz Interior, 345 - Santa Luzia, Juiz de Fora - MG, 36030-776

<sup>2</sup>Laboratório de Genética, Universidade Federal de Juiz de Fora, Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Biologia, Juiz de Fora – MG, 36036-900

\*Autor para correspondência: lucaslima@uniacademia.edu.br

**Palavras-chave:** Citogenética. Citometria de fluxo. DNA. Gleicheniaceae. Samambaia.

## 1 INTRODUÇÃO

Samambaias e licófitas, tradicionalmente denominadas pteridófitas, são plantas vasculares sem sementes que compartilham ciclo de vida único, no qual as fases gametofítica e esporofítica são independentes (Page 1979). Classificações recentes reconhecem como “pteridófitas” duas linhagens evolutivas distintas de plantas vasculares: a classe Lycopodiopsida (licófitas) e a classe Polypodiopsida (samambaias) (PPG I 2016).

Além de seu peculiar ciclo reprodutivo, as samambaias e licófitas se destacam das demais plantas vasculares por sua história de evolução do genoma, apresentando conservação de elevados números de cromossômicos em táxons com expressão gênica diplóide (Haufler 1987, 2002, 2014). Além disso, as samambaias e licófitas se destacam das demais plantas vasculares por apresentarem uma correlação positiva entre o número cromossômico e as quantidades de DNA nuclear (Clark *et al.* 2016).

Os valores C do DNA nuclear e o tamanho do genoma são importantes caracteres da biodiversidade com significado biológico fundamental e vários usos, especialmente para reconstrução da história evolutiva de grupos de interesse (Bennett & Leitch 1995; Bennett *et al.* 2000, Obermayer *et al.* 2002). Entretanto, o conhecimento sobre as samambaias ainda permanece incipiente, principalmente quando comparado com as Angiospermas. Atualmente, existem apenas 246 <sup>1</sup>registros de valores de C para samambaias (Leitch *et al.* 2019), dos quais apenas 2 são registros de espécies de Gleicheniaceae (Clark *et al.* 2016).

Gleicheniaceae é uma família de samambaias leptosporangiadas com cerca de 120 espécies distribuídos em sete gêneros (*Gleichenella* Ching, *Rouxopteris* H.M.Liu e *Stromatopteris* Mett. com uma espécie cada, *Dicranopteris* Bernh. com cerca de 12 espécies, *Diplopterigyium* (Diels) Nakai com cerca de 25 espécies, *Gleichenia* Sm. com cerca de 10 espécies e *Sticherus* C. Presl com cerca de 95 espécies) (Gonzales & Kessler, 2011; PPG I, 2016).

---

*Dicranopteris* possui distribuição pantropical e é caracterizado morfológicamente pela presença ramificações pseudodicotômicas isotômicas, presença um par de ramos opostos as ramificações principais, e rizoma recoberto exclusivamente por tricomas (Figura 1) (Mickel & Smith 2004, Lima & Salino 2018). No Brasil está representada por quatro espécies, *D. nervosa* (Kaulf.) Maxon restrita ao sul e sudeste do país, *D. seminuda* Maxon restrita ao extremo da região norte, *D. rufinervis* (Mart.) Ching ocorre no sudeste e nordeste do Brasil em áreas de Cerrado e *D. flexuosa* (Schard.) Underw., com ampla distribuição pelo país (Lima & Salino 2018).

Desta forma, é importante expandir a amostra de informações sobre o tamanho do genoma das samambaias para entender a evolução genômica dessas plantas (Bennett & Leitch 1995; Bennett *et al.* 2000). Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo reportar valores de C para *Dicranopteris flexuosa*.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas três amostras de tecido foliar de um mesmo indivíduo de *Dicranopteris flexuosa* (Fig. 1) (voucher LV Lima 66, depositado no herbário CESJ, sigla de acordo com Thiers 2020). Para se estimar os valores C, dessa espécie, foi utilizado a técnica de citometria de fluxo seguindo os métodos descritos em Obermayer *et al.* (2002).

Foram realizados três tratamentos, com pelo menos 10 mil núcleos analisados na quantificação de fluorescência com o citômetro CytoFLEX (Beckman Coulter, CA, EUA). Usamos *Pisum sativum* como padrão, que tem um conteúdo de DNA conhecido de  $2C = 9,09\text{pg}$  (Dolezel *et al.* 1998). Os histogramas foram gerados e analisados pelo CytExpert 2.0.1 e o conteúdo de DNA (pg) foi calculado seguindo Dolezel & Bartos (2005).

**FIGURA 1:** *Dicranopteris flexuosa* (Lima 66, CESJ). **A-B.** Hábito. **C.** Face abaxial. **D.** Báculo.



Fonte: Autores.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como resultado das análises de citometria fluxo, dos três tratamentos feitos para *Dicranopteris flexuosa*, a média de conteúdo de DNA foi  $2C=9.16$  pg. (Tabela 1). Até então, apenas duas espécies de Gleicheniaceae haviam sido investigadas quanto à estimativa dos valores de C, o presente estudo traz como novidade o segundo registro de valores de C para o gênero *Dicranopteris*. A outra espécie do gênero investigada foi *Dicranopteris linearis* que apresentou  $2C=6,41$ pg (Clark et al. 2016) (Tabela 2).

**TABELA 1:** Resultados dos três tratamentos de *D. flexuosa* no citômetro de fluxo.

Amostra	CV	Pico amostra	Pico padrão	Relação	Qtd DNA	Média
---------	----	--------------	-------------	---------	---------	-------

<i>D. flexuosa</i>	4.89%	42428.1	44981.1	1.06	8.57	
<i>D. flexuosa</i>	4.75%	50967.4	44981.1	0.88	10.30	9.16
<i>D. flexuosa</i>	4,31%	42606.2	44981.1	1.06	8.61	

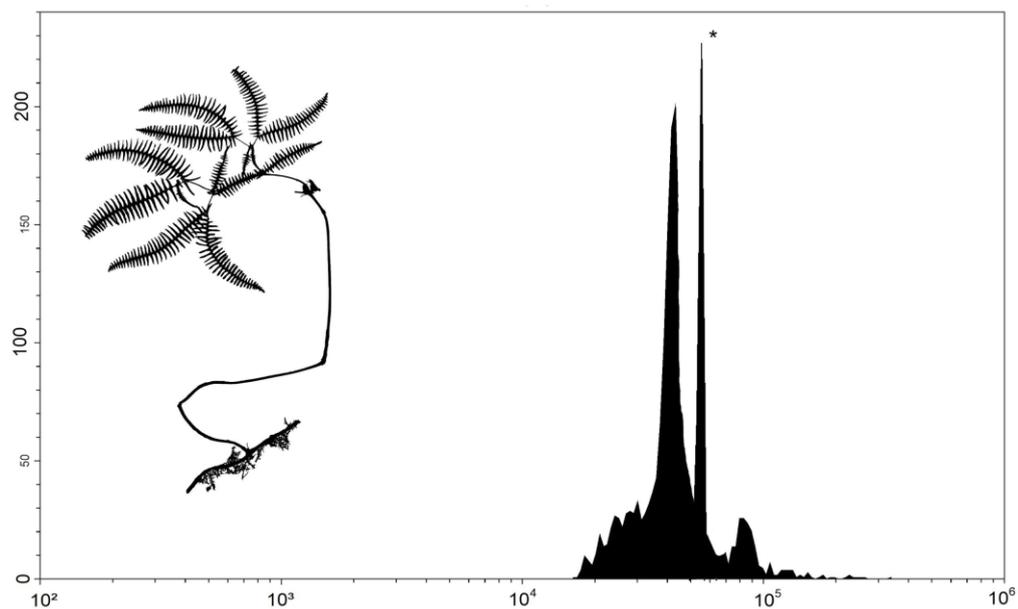
Fonte: Autores.

TABELA 2: Estimativas de valores de C para Gleicheniaceae

Espécie	2C	1C	Referência
<i>Diplazium bancroftii</i>	6.51	3.26	Clark et al. 2016
<i>Dicranopteris linearis</i>	6.41	3.21	Clark et al. 2016
<i>Dicranopteris flexuosa</i>	9.16	4,58	Presente estudo

Fonte: Autores.

Figura 2: Histograma de citometria de fluxo de *Dicranopteris flexuosa*. \* Controle interno (*Pisum sativum*).



Apesar da baixa amostragem de espécies investigadas no gênero, as diferenças encontradas no conteúdo de DNA entre *D. flexuosa* (9,16 pg) e *D. linearis* podem estar relacionados com diferentes níveis de ploidia. Até agora, existem apenas dois registros de números de cromossomos para *D. flexuosa* ( $n = 68$  e  $n = 78$ ) Löve 1976, Walker 1973, enquanto *D. linearis* teve três contagens de cromossomos ( $n = 39$ ,  $n = 78$  e  $n = 80$ ) Mehra & Singh 1956, Roy & Singh 1975. Uma vez que o número haplóide básico de *Dicranopteris* é 39, *D. flexuosa* pode ser uma espécie autopoliplóide. Portanto, as diferenças observadas no conteúdo de DNA entre *D. linearis* e *D. flexuosa* podem estar relacionadas aos números cromossômicos observados na literatura. Desta forma futuros estudos devem ser feitos a fim de se amostrar populações tetraploides e avaliar seu conteúdo de DNA.

Clark et al. (2016) estimaram as quantidades de DNA em Gleicheniaceae em  $2C=10$  pg. Embora os valores C encontrados para *D. flexuosa* se aproximem desta estimativa, as quantidades de DNA encontradas em *D. linearis* e *Diplopterygium brancroftii* se distanciam desta estimativa. Entretanto, devido à baixa amostragem na família, ainda não é possível concluir se esta estimativa se aproxima ou não da média da família.

#### 4 CONCLUSÃO

O presente estudo possibilitou a expansão do conhecimento dos valores de C para a família Gleicheniaceae, elevando o total de espécies investigadas para três. Mais estudos devem ser feitos a fim de ampliar ainda mais as informações disponíveis sobre os valores de C na família. Além disso, mais estudos de contagem e caracterização dos cromossomos são necessários a fim de se conhecer a relação entre números cromossômicos e as quantidades de DNA nuclear.

#### ABSTRACT

Ferns are the second most diverse group of vascular plants on the planet. Throughout its evolutionary history, events of total duplication of genetic material contributed to its diversification and irradiation. Ferns stand out from other vascular plants for presenting

high chromosome numbers with diploid expression, and for being one of the few groups of vascular plants to present a positive correlation in chromosomal number and amount of nuclear DNA. Despite its importance, knowledge about C values of ferns is still incipient when compared to other groups of plants, especially the Gleicheniaceae family, which has only two species sampled. Thus, the aim of this study was to estimate C values for *Dicranopteris flexuosa*. The results of the present study represent a new record for C values in *Dicranopteris flexuosa* ( $2C = 9.16$ ), which increased the number of species investigated in the Gleicheniaceae family to three.

**Keywords:** Cytogenetics. Flux cytometry. DNA. Gleicheniaceae. Ferns.

## REFERÊNCIAS

- BENNET, M. D. *et al.* Allium cepa L. cultivars from four continents compared by flow cytometry show nuclear DNA constancy. **Annals of Botany**. v. 85, n. 3, p. 351-357, 2000.
- BENNETT, M. D; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms. **Annals of Botany**. v. 76, n. 2, p. 113-176, 1995.
- CLARK J. *et al.* Genome evolution of ferns: evidence for relative stasis of genome size across the fern phylogeny. **New Phytologist**. v. 210, n. 3, p. 1072-1082, 2016.
- DOLEZEL, J. *et al.* Plant genome size estimation by flow cytometry: Inter-laboratory comparison. **Annals of Botany**. v. 82, p. 17-26, 1998.
- DOLEZEL, J.; BARTOS, J. Plant DNA flow cytometry and estimation of nuclear genome size. **Annals of Botany**. v. 95, p. 99-110, 2005.
- HAUFLER C. H. Electrophoresis is modifying our concepts of evolution in homosporous pteridophytes. **American Journal of Botany**. v. 74, n. 6, p. 953-966, 1987.
- HAUFLER C. H. Ever since Klekowski: testing a set of radical hypotheses revives the genetics of ferns and lycophytes. **American Journal of Botany**. v. 101, n. 12, p. 2036–2042, 2014.
- HAUFLER C. H. Homospory 2002: an odyssey of progress in pteridophyte genetics and evolutionary biology. **BioScience**. v. 52, n. 12, p.1081–1093, 2002.
- LEITCH I. J *et al.* **Plant DNA C-values Database**. Abr. 2019. Disponível em: <https://cvalues.science.kew.org/>. Acesso em: 11 ago. 2020.
- LIMA, V. L.; SALINO, A. The fern family Gleicheniaceae (Polypodiopsida) in Brazil. **Phytotaxa**. v. 358, n. 3, p. 199-234, 2018.

- LÖVE Á. 1976. IOPB chromosome number reports LIII. **Taxon** 25: 483-500.
- MEHRA PN & SINGH G. 1956. Cytology of Indian Gleicheniaceae. **Current Science** 25: 168-168.
- MICKEL, J. T.; SMITH, A. R. **The Pteridophytes of Mexico (Memoirs of The New York Botanical Garden 88)**. v. 88. New York: The New York Botanical Garden, 2004.
- OBERMAYER, R. *et al.* Nuclear DNA C-values in 30 species double the familial representation in pteridophytes. **Annals of Botany**. v. 90, n. 2, p. 209-217, 2002.
- ROY SK & SINGH JB. 1975. A note on the chromosome numbers in some ferns from Pachmarhi Hills, Central India. **Science & Culture** 41: 181–183.
- SCHUETTPELZ, E. *et al.* A community-derived classification for extant lycophytes and ferns. **Journal Of Systematics and Evolution**. v.54, p. 563-603, 2016.
- THIERS, B. 2020. Index Herbariorum: A global directory of public herbaria and associated staff. **New York Botanical Garden's Virtual Herbarium**. Disponível em <http://sweetgum.nybg.org/ih/>. Acesso em 01 mar. 2020.
- WALKER TG. 1973. Additional cytogenetic notes on the pteridophytes of Jamaica. **T RSE** 69: 109–135.