

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE AGRONOMIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ZOOTECNIA

**ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM ESPÉCIES AMERICANAS DE *Lupinus L.*:
NÚMERO CROMOSSÔMICO E COMPORTAMENTO MEIÓTICO**

IONARA FATIMA CONTERATO
Bióloga (UFSM)

Dissertação apresentada como um dos requisitos à obtenção do Grau de
Mestre em Zootecnia
Área de concentração Plantas Forrageiras

Porto Alegre (RS), Brasil
Março de 2004

Dedico esta dissertação:

À minha mãe ISOLDA Maraschin Conterato (em memória) e meu pai ROQUE Conterato, pela vida e pelos ensinamentos que não foram esquecidos...

Ao MARCELO, meu irmão, pela amizade, amor, cumplicidade...

Ao SANDRO, meu namorado, pelo amor, compreensão...

À LUCIA, pela amizade...

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, professora Maria Teresa Schifino-Wittmann, pelos ensinamentos, orientação, disponibilidade e amizade durante o transcorrer deste trabalho.

Ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Às colegas e amigas Elaine, Mirela, Carine, Marisa, Biane, Divanilde, Fernanda, Paula, Vanessa, Viviane, pela amizade e agradável convivência.

Às amigas Elaine Biondo, Mirela Lunardi, Carine Simione, Marisa Pozzobon e Fernanda Bortolini pela ajuda recebida durante o andamento do trabalho.

À Tatiana Boff e Mardiore dos Santos pelo empréstimo de bibliografias e fotografias.

Ao Rogério, secretário do Departamento de Plantas Forrageiras pelo auxílio e amizade.

À professora Silvia Teresinha S. Miotto, pela determinação taxonômica e auxílio nas coletas.

À Colin Hughes e José Francisco Montenegro Valls pelo envio de sementes de *Lupinus*.

A minha família pela confiança, compreensão, amizade

Ao Marcelo, meu irmão pela amizade, companheirismo e apoio durante a vida acadêmica.

Ao Sandro, pelo carinho, companheirismo e apoio durante este trabalho.

A todas as pessoas que de alguma forma colaboraram para a realização deste trabalho, quer pelo apoio técnico, quer pelo emocional.

ESTUDOS CITOGENÉTICOS EM ESPÉCIES AMERICANAS DE *Lupinus* L.: NÚMERO CROMOSSÔMICO E COMPORTAMENTO MEIÓTICO¹.

Autora: Ionara Fatima Conterato

Orientadora: Maria Teresa Schifino-Wittmann

RESUMO

O comportamento meiótico e viabilidade do pólen foram estudados em 23 acessos de sete taxa de *Lupinus* ocorrentes no Rio Grande do Sul. Para as espécies *L. lanatus*, *L. rubriflorus*, *L. multiflorus*, *L. paranensis*, *L. bracteolaris*, *L. guaraniticus* e *Lupinus* sp., o pareamento cromossômico foi regular com preferencial formação de bivalentes, mas a ocorrência de alguns poucos quadrivalentes foi observado em um acesso de *Lupinus* sp e presença de quadrivalentes, associações múltiplas e aderência cromossômica foi evidenciada em um acesso de *L. guaraniticus*. O índice meiótico e a estimativa da viabilidade do pólen foram superiores a 90% em todos os acessos e espécies analisadas, como reflexo da regularidade meiótica, indicando serem plantas meioticamente estáveis. Números cromossômicos de ($2n=36$) foram determinados pela primeira vez para *L. guaraniticus* e *L. paraguariensis* e confirmados números de $2n=36$ para *L. lanatus*, *L. rubriflorus* e $2n=34$ para *L. bracteolaris* ocorrentes no Rio Grande do Sul. Em 13 acessos analisados de *Lupinus* sp provenientes do Peru e Bolívia foi observado $2n=48$ cromossomos, e $2n=36$ em dois acessos de *Lupinus* cf. *bandelierae* da Bolívia. No híbrido ornamental *Lupinus* Russel foi observado $2n=48$ cromossomos. As duas espécies unifolioladas norte americanas *L. cumulicula* e *L. villosus* exibiram número cromossômico de $2n=52$, diferindo dos demais números conhecidos para as Américas. Os dados cromossômico obtidos neste trabalho aliados aos da literatura reforçam a idéia de que os lupinos andinos formam um grupo citológico diferenciado dentro do gênero, que os lupinos do sudeste da América do Sul são também um grupo citologicamente diferente da maioria dos demais taxa americanos, e que os lupinos unifoliolados norte americanos e os brasileiros não são diretamente relacionados.

¹Dissertação de Mestrado em Zootecnia – Plantas Forrageiras, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil. (122p.). Março, 2004.

CYTOGENETIC STUDIES IN AMERICAN SPECIES OF *Lupinus* L.: CHROMOSOME NUMBER AND MEIOTIC BEHAVIOR¹.

Author: Ionara Fatima Conterato
Adviser: Maria Teresa Schifino-Wittmann

ABSTRACT

Meiotic behavior and pollen fertility were studied in 23 accessions of seven *Lupinus* taxa occurring in Rio Grande do Sul. The multifoliolate *L. lanatus*, *L. rubriflorus*, *L. multiflorus*, *L. paranensis*, *L. bracteolaris*, and *Lupinus* sp., and the unifoliolate *L. guaraniticus* presented regular chromosome pairing, with predominance of bivalents. Eventual quadrivalents were found in one accession of *Lupinus* sp., and quadrivalents, other multivalents and chromosome stickiness were observed in one accession of *L. guaraniticus*. Meiotic indexes and estimations of pollen viability were higher than 90% for all species and accessions analyzed, reflecting the generally regular meiotic behavior and pointing to a meiotic stability of these plants. Chromosome numbers ($2n=36$) were determined for the first time for *L. guaraniticus* and *L. paraguariensis*, and confirmed $2n=36$ for *L. lanatus* and *L. rubriflorus* and $2n=34$ for *L. bracteolaris*. The 13 accessions examined of *Lupinus* sp. from Peru and Bolivia had all $2n=48$ chromosomes, while $2n=36$ was found for two *L. cf. bandelierae* from Bolivia. *Lupinus Russel*, an ornamental hybrid, had $2n=48$ and in the accessions of two North American unifoliolate species *L. cumulicola* and *L. villosus* $2n=52$, a chromosome number unknown among American taxa, was found. The results of the present work, plus literature data, support the suggestion that Andean lupins are a cytologically differentiated group, that southeastern South-american species are cytologically also a different group from most other American taxa, and that the Brazilian and North American unifoliolate *Lupinus* are not directly related.

¹ Master of Science dissertation in Forrage Science, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil. (122p.). March, 2004.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Citogenética e melhoramento: considerações gerais.....	3
2.2. O gênero <i>Lupinus</i>	6
2.2.1. Importância.....	6
2.2.2. Origem e distribuição.....	8
2.2.3. Taxonomia e sistemática de <i>Lupinus</i>	14
2.2.4. Citogenética e genética.....	20
2.2.4.1 Dos <i>Lupinus</i> do Velho Mundo.....	20
2.2.4.2. Dos <i>Lupinus</i> do Novo Mundo.....	29
2.2.5. <i>Lupinus</i> no Rio Grande do Sul.....	34
2.2.6. Descrição sumária das espécies utilizadas no presente trabalho.....	35
2.2.6.1. Espécies sul-rio-grandenses.....	35
2.2.6.2. Espécies norte-americanas.....	42
2.2.6.3. Espécies andinas.....	43
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	50
3.1. Material utilizado.....	50
3.1.1. Para análise meiótica, índice meiótico e viabilidade do pólen.....	50
3.1.2. Para determinação cromossômica.....	51
3.2. Métodos.....	52
3.2.1. Coleta, fixação e estocagem das inflorescências.....	52
3.2.2. Preparação das lâminas.....	54
3.2.3. Análise do comportamento meiótico.....	54
3.2.4. Análise das tétrades.....	55
3.2.5. Estudo dos grãos de pólen.....	56
3.2.6 Análise dos dados.....	56
3.2.7. Germinação das sementes.....	56
3.2.8. Fixação.....	57
3.2.9. Preparação das lâminas.....	57
3.2.10. Análise do material.....	57
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	59
4.1. Análise do comportamento meiótico.....	59

4.2. Índice Meiótico.....	67
4.3. Viabilidade do pólen.....	69
4.4. Número cromossômico.....	73
4.4.1. Número cromossômico para espécies sul-americanas de <i>Lupinus</i>	74
4.4.2. Número cromossômico para espécies norte- americanas de <i>Lupinus</i>	83
5. CONCLUSÕES.....	87
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	89
7. APÊNDICES.....	99
8. VITA.....	122

RELAÇÃO DE TABELAS

	Página
1. Número cromossômico dos <i>Lupinus</i> do Velho Mundo.....	23
2. Principais diferenças entre os <i>Lupinus</i> do Velho e do Novo Mundo.....	24
3. Número cromossômico apresentado por espécies de lupinos andinos, norte e centro-americanos.....	31
4. Material utilizado para análise meiótica, índice meiótico e viabilidade do pólen.....	51
5. Material utilizado (espécies, acessos e local de coleta) para determinação cromossômica.....	53
6. Análise do comportamento meiótico em espécies e acessos de <i>Lupinus</i>	61
7. Índice meiótico em espécies e acessos de <i>Lupinus</i>	68
8. Estimativa da viabilidade do pólen em espécies e acessos de <i>Lupinus</i>	70
9. Espécies e acessos de <i>Lupinus</i> analisados para determinação cromossômica.....	73

RELAÇÃO DE FIGURAS

	Página
1. Distribuição geográfica do gênero <i>Lupinus</i>	11
2. Aspecto geral de <i>L. paranensis</i>	41
3. Aspecto geral de <i>L. lanatus</i>	41
4. Aspecto geral de <i>L. rubriflorus</i>	41
5. Aspecto geral de <i>L. guaraniticus</i>	41
6. Metáfase I em <i>L. guaraniticus</i> 2125 com quadrivalente (seta).....	64
7. Metáfase I em <i>L. guaraniticus</i> 2125 com quadrivalente (seta).....	64
8. Metáfase I em <i>Lupinus</i> sp 2098, com quadrivalente (seta).....	64
9. Metáfase em vista polar de <i>Lupinus</i> sp 2131.....	64
10. Anáfase em <i>L. lanatus</i> 2119.....	64
11. Diacinese em <i>L. bracteolaris</i> 128464.....	64
12. Metáfase I em <i>L. paranensis</i> 129986.....	65
13. Diacinese em <i>L. rubriflorus</i> 2123.....	65
14. Anáfase em <i>L. rubriflorus</i> 2139.....	65
15. Tétrade e tríade em <i>L. rubriflorus</i> 2139.....	72
16. Tétrade em <i>L. lanatus</i> 2119.....	72
17. Pólen viável e inviável em <i>L. lanatus</i> 2110.....	72
18. Pólen viável de <i>L. rubriflorus</i> 2114.....	72
19. Pólen viável e inviável de <i>L. guaraniticus</i> 2109.....	72
20. Pólen viável e inviável de <i>L. bracteolaris</i> 128464.....	72
21. Metáfase mitótica em <i>L. lanatus</i> 9525.....	77
22. Metáfase mitótica em <i>L. paraguariensis</i> 002861.....	77
23. Metáfase mitótica em <i>L. rubriflorus</i> 129995.....	77
24. Metáfase mitótica em <i>L. guaraniticus</i> 129985.....	77
25. Metáfase mitótica em <i>L. guaraniticus</i> 130223 (setas indicam cromossomos grandes).....	77
26. Metáfase mitótica em <i>Lupinus</i> sp CEH 2001.....	80
27. Metáfase mitótica em <i>Lupinus</i> sp CEH 2218.....	80
28. Metáfase mitótica em <i>Lupinus</i> sp CEH 2272.....	80
29. Metáfase mitótica em <i>Lupinus</i> sp CEH 2037.....	80
30. Metáfase mitótica em <i>Lupinus</i> sp CEH 2002.....	80
31. Metáfase mitótica em <i>Lupinus</i> cf. <i>bandelierae</i> CEH 2301.....	80
32. Metáfase mitótica em <i>Lupinus</i> Russel.....	85
33. Metáfase mitótica em <i>Lupinus villosus</i> CEH 1986.....	85
34. Metáfase mitótica em <i>Lupinus cumulicula</i> CEH 1984.....	85
35. Metáfase mitótica em <i>L. cumulicula</i> CEH 1984 (seta indica cromossomo com satélite).....	85

RELAÇÃO DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AFLP – Polimorfismo de comprimento de fragmentos amplificados
BRA – código do Herbário Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia –
Brasília
CENARGEN – Centro Nacional de Recursos Genéticos e Biotecnologia
Cf – conferatur
Cv – cultivar
DPFA – Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia
FISH – Hibridização in situ fluorescente
ITS – Espaçadores transcritos internos
ISSR – Sequências simples repetidas interpassadas
RAPD – Polimorfismo de DNA amplificado ao acaso
Sp – espécie
Subsp – subespécie
S/n – sem número
 μm – micrômetros

1 – INTRODUÇÃO

O gênero *Lupinus* L. (*Leguminosae-Faboideae*) ocorre no Velho e Novo Mundo e compreende de 300-500 espécies de plantas herbáceas e arbustivas, multi e unifolioladas. As espécies do gênero ocorrem predominantemente no continente americano, distribuindo-se do Alasca à Terra do Fogo, sendo descritas somente 12 espécies multifolioladas para a Região Mediterrânea e África (Plitmann, 1981; Planchuelo, 1996; Gladstones, 1998).

Apesar do grande número de espécies, os lupinos de importância agrícola são todos da Região Mediterrânea e África, cultivados principalmente para grãos, forragem verde e seca, adubo verde e como ornamentais, sendo *L. albus* L., *L. luteus* L., *L. angustifolius* L., *L. pilosus* Murr. e *L. atlanticus* Gladst. as mais importantes. Em contraste, apenas uma dentre as centenas de espécies do Novo Mundo, *L. mutabilis* Sweet tem sido usada para consumo humano. Todas produzem sementes grandes e atrativas, porém, o consumo é dificultado pela presença de alcalóides amargos difíceis de serem removidos, sendo que a domesticação destes legumes implicou sempre na seleção de linhas “doces” com baixos teores de alcalóides (Hoveland & Townsend, 1985; Zohary & Hopf, 1993).

Estudos citogenéticos em *Lupinus* têm sido relatados em trabalhos isolados e para algumas espécies nos últimos 60 anos, estes restritos em sua

maioria ao Velho Mundo. As informações citogenéticas envolvendo número cromossômico e comportamento meiótico são relativamente escassas quando comparadas com outros gêneros de leguminosas, que incluem espécies cultivadas. Isso se deve em grande parte à dificuldade na contagem dos cromossomos devido ao seu grande número e ao pequeno tamanho (1–4 μ m), também pelo fato de que as espécies de *Lupinus* nunca foram consideradas como “espécies modelos”, não havendo, portanto, grande volume de trabalhos. Outro agravante é a carência de revisões taxonômicas completas para o gênero nas Américas, como consequência, os poucos trabalhos disponíveis envolvem apenas poucas espécies.

Estudos citogenéticos fornecem dados importantes para a compreensão evolutiva entre os membros de um gênero, bem como contribuem para programas de melhoramento por identificar alguns problemas associados com hibridação interespecífica. Tais estudos também ajudam a desenvolver estoques citogenéticos os quais podem servir como uma valiosa fonte para aplicação de técnicas moleculares por identificar genes e sua localização nos cromossomos.

Esta dissertação teve por objetivos avaliar o comportamento meiótico em espécies de lupinos ocorrentes no Rio Grande do Sul e, como parte de um grande projeto de revisão taxonômica das espécies de *Lupinus* ocorrentes na América do Sul, prover dados sobre número cromossômico em espécies sul americanas e norte americanas, na tentativa de reunir informações importantes para estudos evolutivos do gênero e para futuros trabalhos de melhoramento genético em algumas de suas espécies.

2 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 – Citogenética e melhoramento: considerações gerais

Melhoramento genético de plantas é a arte e a ciência de melhorar a hereditariedade de plantas para benefício da humanidade. Como arte, depende da habilidade em observar plantas com características estéticas, ambientais, nutricionais, econômicas que são visíveis em cada indivíduo. Como ciência, o melhoramento depende de várias áreas do conhecimento, como a botânica, genética, fisiologia, entomologia, estatística, dentre outras (Poehlman & Sleper, 1995).

O sucesso de um programa de melhoramento genético depende, dentre outros aspectos, de estudos básicos de caracterização de recursos genéticos disponíveis, sendo imprescindível que haja variabilidade genética herdável e que se crie bancos de germoplasma.

A caracterização de germoplasma é essencial para o melhoramento genético e pode ser realizada de diversas maneiras, como por exemplo, através de análises morfológicas (tamanho das folhas, duração do período vegetativo, floração e frutificação), agronômicas (produção de sementes, resistências ao estresse e a doenças), bioquímicas (flavanóides, isoenzimas), moleculares (marcadores de DNA), genéticas (análises de herança de caracteres) e citogenéticas (número cromossômico, regularidade meiótica,

fertilidade dos grãos de pólen). Nesse sentido, a citogenética é uma importante ferramenta para esta caracterização.

A citogenética compreende todo e qualquer estudo relativo ao cromossomo isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto no que diz respeito à sua morfologia, organização, função e replicação, quanto à sua variação e evolução (Guerra, 1988). Para Stebbins (1971), diferenças cromossômicas refletem diferenças na origem da variação genética, enquanto diferenças morfológicas, fisiológicas e bioquímicas refletem diferenças nos produtos de ação gênica, modificados por influências ambientais.

Sybenga (1998), relatou dois aspectos importantes a respeito da citogenética para o melhoramento de plantas: primeiramente, gerar informações e, segundo, providenciar métodos para a manipulação genética. As informações citogenéticas importantes para o melhoramento são aquelas que já existem sobre o material com o qual se está trabalhando, sobre a metodologia usada no decorrer do trabalho, e também as novas informações que surgirão com o desenvolvimento do projeto. O segundo aspecto onde a citogenética é importante para o melhoramento, é estabelecendo técnicas para manipulação genética que inclui transferência de genes, efeitos de dosagem gênica (haploidia, aloploidia, autopoliploidia, por exemplo) e manipulação dos sistemas genéticos (melhoramento de híbridos, apomixia).

A citogenética também possui um papel importante nos estudos evolutivos e taxonômicos. A comparação de características citogenéticas e morfológicas pode, em muitos casos, ser empregada para auxiliar nos problemas de classificação e identificação taxonômica, auxiliando na

compreensão de certos grupos, como tem sido feito por exemplo com algumas forrageiras (Schifino-Wittmann, 2000).

Dentre as muitas informações obtidas pela citogenética, as que se referem ao número cromossômico são as mais conhecidas. Hoje, a comunidade sistemata é bem servida por catálogos de contagens cromossômicas de plantas. Por exemplo, uma listagem atualizada de números cromossômicos citados na literatura pode ser encontrada no site Index Plant Chromosome Number ([http:// mobot.org](http://mobot.org)), sob o patrocínio do Missouri Botanic Garden (Stace, 2000). Todavia, estudos detalhados do comportamento meiótico e fertilidade do pólen são escassos para a maioria das plantas existentes, exceto para algumas das principais culturas que alimentam o mundo, como o arroz, trigo, milho, aveia, centeio, tomate e batata.

Números cromossômicos tem sido registrado para apenas 25% das angiospermas (Bennet, 1998), e muitas dessas espécies têm apenas uma ou poucas contagens, estas freqüentemente antigas e muitas vezes duvidosas (Stace, 2000).

Apesar do significado fundamental do número cromossômico em sistemática e evolução, os dados para angiospermas são incompletos e uma ampla documentação de dados cromossômicos básicos é uma importante prioridade, devido aos problemas atuais frente à conservação dos recursos genéticos mundiais (Stace, 2000).

O desenvolvimento das técnicas de FISH (Fluorescente *in situ* hibridization) e GISH (Genomic *in situ* Hibridization), na década de 80, mostrou-se uma poderosa ferramenta para a citogenética e melhoramento de plantas no

que tange à poliploidia, hibridações naturais, presença de genomas estranhos e, de acordo com Sybenga (1998), permite monitorar a transferência de genes de interesse intra e interespecífico. A utilização destas técnicas permite, em muitos materiais, a identificação de rearranjos cromossômicos, identificação de genomas em híbridos bem como processos envolvidos na hibridação e especiação (Bennet, 1995; Stace, 2000).

Os estudos citogenéticos compreendem a descrição do número e da morfologia dos cromossomos através de métodos e coloração convencionais, bandeamentos e citogenética molecular envolvendo mapeamento gênico. Entre alguns exemplos citam-se os trabalhos de Schifino-Wittmann et al., (1985) que estudaram indivíduos de *Phalaris* (Poaceae) pertencentes a dois grupos, para detectar possíveis diferenças entre eles e verificar a presença de híbridos; Nefta & Fernandez (2002), estudaram o cariótipo de cinco subespécies do complexo *Turnera sidoides* (Turneraceae) para investigar a natureza poliplóide neste complexo e determinar se diferenciação cariotípica tem ocorrido entre subespécies.

2.2 - O gênero *Lupinus*

2.2.1 - Importância

Várias espécies de *Lupinus* têm sido usadas como alimento por 3000 anos ou mais na Bacia do Mediterrâneo (Gladstones, 1970) e por mais de 6000 anos nas montanhas andinas, mas nunca alcançaram o mesmo status da soja, ervilha ou outras culturas (Petterson, 1998).

Algumas espécies anuais do gênero são atualmente cultivadas na Bacia do Mediterrâneo para consumo humano e animal, forragem verde e seca e adubo verde. As mais importantes são o lupinos-branco (*L. albus*), o lupinos-azul (*L. angustifolius*), e o lupinos-amarelo (*L. luteus*). Todos crescem vigorosamente e produzem sementes grandes e atrativas, entretanto seu uso é dificultado pela presença de alcalóides amargos que podem ser parcialmente removidos pela fervura ou mais eficientemente pela seleção de linhas “doces” com baixos teores de alcalóides (Zohary & Hopf, 1993).

Observações sobre lupinos e seus usos foram descritos por Columella, Theophrastus, Varro e Virgil, os quais registraram seu valor na melhoria de solos e na habilidade de crescer em solos pobres e sob condições rudes. Ocasionalmente algumas espécies foram utilizadas para produção de óleo, fibras e para fins medicinais (Gladstones, 1970; Wolko & Weeden, 1990).

Nos Estados Unidos, os lupinos eram uma cultura economicamente importante até a década de 50, quando o barateamento dos adubos nitrogenados levou ao declínio de seu cultivo (Hoveland & Townsend, 1985). *L. angustifolius* foi amplamente usado nos séculos XVIII e XIX como um substituto do café ou para adulterá-lo. Na Itália, foi usado nos tempos de fome, e recentemente tem sido usado para adubo verde no Marrocos (Gladstones, 1970; Gladstones, 1998).

Cultivares “doces” de *L. angustifolius* são ainda cultivadas como forragem nos Estados Unidos (Hoveland & Townsend, 1985). Na Austrália mais de um milhão de hectares de lupinos crescem anualmente (Reader et al., 1997)

e *L. angustifolius* “doce” é reconhecido internacionalmente como valioso recurso protéico vegetal (Cowling et al., 1998).

Apesar da extensa flora do gênero nas Américas e do seu uso ancestral, apenas *L. mutabilis* Sweet teve alguma importância econômica para populações indígenas. Alguns autores mencionam que esta espécie tenha sido usada em rituais religiosos e festivais andinos, e que os alcalóides teriam papel curativo em doenças cardíacas, reumatismos, malária e infecções parasíticas internas (Gladstones, 1998). Esta é a única espécie americana domesticada e cultivada para grãos e tem despertado interesse na Europa devido à boa qualidade de suas sementes, as quais poderiam ser uma fonte valiosa de proteínas e óleo, especialmente para alimento animal (Hardy et al., 1997). O lupinus Russel, um possível híbrido entre *L. polyphylus* Lindl. e *L. arboreus* Sims, foi desenvolvido como ornamental na Europa e liberado em 1937, posteriormente foi introduzido na Nova Zelândia, sendo considerado uma forrageira potencial para ovelhas em solos pobres (Hoveland & Townsend, 1985; Hill, 1995). Atualmente, *Lupinus Russel* é bastante cultivado como ornamental na Europa devido aos racemos multicoloridos.

2.2.2 - Origem e distribuição

O gênero *Lupinus* L. com 300 a 500 espécies ocorre predominantemente no Novo Mundo, mas com um segundo centro de diversidade no Velho Mundo (figura 1) (Monteiro, 1987). A grande diversidade de espécies está nas Américas e a maioria dos táxons ocorrem na costa e regiões montanhosas do oeste da América do Norte, do Alasca ao México, e na

América do Sul e Central são amplamente distribuídas com exceção da Bacia Amazônica (Gladstones, 1998; Hill, 1995). Na América do Sul distinguem-se duas áreas ecogeográficas de diversidade de lupinos: Atlântica e Andina. Na América do Norte, a abundância de espécies decresce de oeste para leste, mostrando a íntima preferência ecológica do gênero por climas temperados e regiões de altitude (Monteiro, 1987).

Gross (1986), também divide as espécies americanas em dois grupos: norte e sul-americanas. Entre as últimas, aquelas originárias da região atlântica do continente dividem-se em espécies de folhas compostas e espécies de folhas simples, enquanto todas as espécies andinas possuem folhas compostas. As espécies com folhas digitadas apresentam distribuição ampla, enquanto as de folhas simples ou unifolioladas têm seu principal centro de diversidade nos planaltos do centro e sudeste do Brasil (Monteiro & Gibbs, 1986), com extensão de alguns táxons para o Uruguai, Paraguai e Argentina (Monteiro, 1987).

Planchuelo-Ravelo (1984), igualmente separa as espécies de *Lupinus* em duas regiões geográficas: região atlântica que compreende o leste do Brasil, Uruguai, Paraguai, centro e leste da Argentina e, região andina, que se estende pelas montanhas dos Andes, desde a Venezuela, Colômbia, Equador, Peru, Bolívia, Chile e noroeste da Argentina até as planícies da Patagônia no extremo sul da América do Sul.

Nesta região, a topografia possui um importante papel nos fatores climáticos, tais como a temperatura e a pluviosidade. A temperatura decresce cerca de 0,6°C para cada 100 m de altitude e a inclinação do terreno exerce

grande influência no movimento de ar, precipitação, radiação solar e erosão do solo. Como resultados há mais microclimas nesta região do que na atlântica, e mais adaptações associadas com condições ambientais, criando assim uma grande diversidade ecológica de espécies (Planchuelo-Ravelo, 1984; Planchuelo, 1999).

Planchuelo & Dunn (1984), afirmam que, além do maior número de espécies, também os maiores centros de especiação estão localizados na América do Norte e América do Sul.

As 12 espécies reconhecidas para o Velho Mundo, todas anuais, multifolioladas e divididas em distintos grupos citotaxonômicos, muitos deles monoespecíficos, distribuem-se na região do Mediterrâneo e com menos freqüência ao norte da África. A distribuição destas espécies está limitada ao sul pelas áreas de desertos da África e ao norte, pelas cadeias de montanhas européias – em ambas as direções, as barreiras são limites naturais (Monteiro, 1987).

A distribuição e diferenciação dos *Lupinus* do Velho Mundo foi influenciada pelo homem, durante os tempos históricos e pré-históricos. As preferências ecológicas de muitas espécies, e provavelmente o sistema de fecundação (prevalecendo autofecundação), também fornecem alguma indicação para o possível papel da tendência de domesticação na diferenciação de *Lupinus* (Plitmann, 1981).

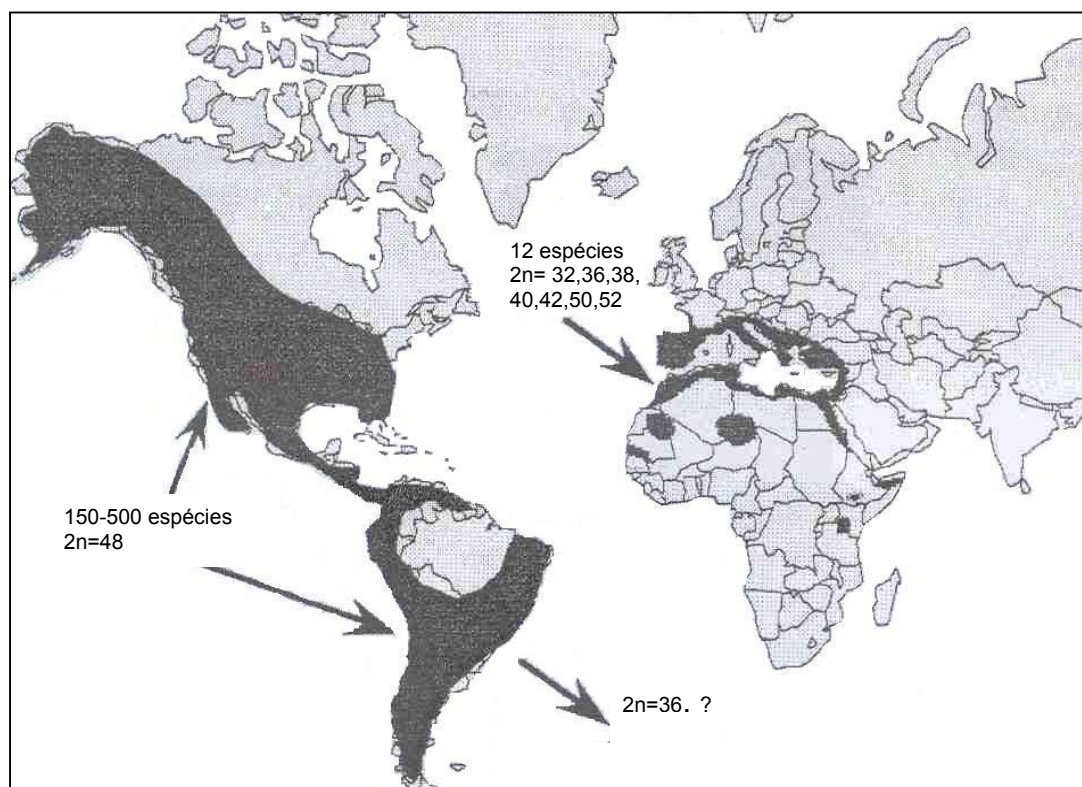


Figura 1 - Distribuição geográfica do gênero *Lupinus*, adaptado de Ainouche & Bayer (1996).

A filogenia de *Lupinus* é ainda matéria de debates e controvérsias, com diferentes hipóteses sugeridas com relação ao centro primário de origem e rotas migratórias durante a sua diversificação (Zimniak-Przybylska & Przybylska, 1997; Ainouche & Bayer, 1999).

Dunn (1971) propôs que os lupinos de folhas simples da América do Sul deram origem, através de dispersão à longa distância, aos lupinos de folhas simples do sudeste dos Estados Unidos. Dunn (1984) considera os lupinos de folhas simples como a parte primitiva do gênero, baseado em caracteres primitivos tais como: hábitat, condição perene e arbórea, folhas simples, fecundação cruzada, flores vistosas, polinização por insetos, e outros caracteres anatômicos. Sugere ainda que os *Lupinus* do Velho Mundo foram

introduzidos da América do Sul por humanos durante um período agronômico pré-histórico devido à presença de grandes sementes e debulha não natural das vagens, ambas deletérias sob seleção natural.

Plitmann (1981), supõe que o gênero teve sua origem na América do Norte e, através de migração e dispersão a longa distância algumas poucas sementes de lupinos poderia ter alcançado o Velho Mundo. O grupo de sementes lisas e o de sementes rugosas poderiam ter chegado ao Norte da África e região Mediterrânea em duas sucessivas migrações independentes durante o Mioceno-Plioceno.

A hipótese de Plitmann, de uma origem norte-americana para o gênero com introduções esporádicas para o Velho Mundo invoca a mesma explicação para a introdução dos lupinos da América do Sul (Monteiro, 1987). Nesta base, *Lupinus* poderia ser tratado como uma introdução recente da América do Norte para a América do Sul. Esta situação pode ser aceitável para alguns dos complexos de espécies andinas que evoluíram recentemente, mas é problemática na explicação da ocorrência do grupo unifoliolado que ocorre freqüentemente como endêmico e restrito aos campos de altitude de Minas Gerais (Monteiro & Gibbs, 1986).

Cristofolini (1989), trabalhando com dados serológicos, sugeriu a Ásia temperada tropical como centro de origem. Nesta base, a uniformidade serológica da seção das sementes rugosas sugere um pronunciado conservadorismo, em concordância com a textura das sementes. A variabilidade nos caracteres serológicos na seção das sementes lisas sugere altas taxas de evolução correlacionada com a adaptação, a aridez e impacto

humano. Sob esta hipótese, as Américas e região Mediterrâneo-Africana são tidas como centros secundários de especiação.

Dados do gene *rbcL* e regiões ITS1+2 de rDNA de Käss & Wink (1997), apoiaram uma origem no Velho Mundo. A existência de distintas linhas evolutivas e distâncias genéticas implicam que *Lupinus* poderia ter colonizado independentemente a América do Norte, leste da América do Sul e depois a oeste da América do Sul. As migrações poderiam ter ocorrido através do Estreito de Bering, pontes de terra conectando continentes, ou através do Oceano Atlântico por transporte de sementes à longa distância. A íntima conexão entre os táxons de lupinos norte-americanos e sul-americanos dos Andes sugere migração da América do Norte para a América do Sul. Dados de isozimas (Wolko & Weeden, 1990, 1990a), e seqüências de DNA (Aïnouche & Bayer, 1999) corroboram os dados de Käss & Wink (1997).

Gladstones (1998), combinou os trabalhos anteriores com dados de DNA e sugeriu que *Lupinus* é um produto final avançado e altamente evoluído de um processo evolutivo que iniciou no Hemisfério Norte, com um progressivo desenvolvimento e ramificação primeiro das espécies de folhas simples da costa leste da América do Sul, em seguida do grupo de sementes rugosas do norte da África e sementes lisas do Mediterrâneo. As espécies das montanhas e costa oeste da América do Sul e do Norte seriam o ponto final, o grupo mais derivado de todos.

Desse modo, os lupinos de folhas simples da costa leste da América do Sul seriam os mais primitivos dentro do gênero. A presença de quatro espécies deste grupo no sudeste dos Estados Unidos poderia ser resultado de

introduções independentes, ou indiretamente por transporte de sementes à longa distância como sugerido por Dunn (1971), ou, eventos evolutivos independentes.

Para Monteiro (1987), qualquer tentativa de esboçar a história evolutiva para *Lupinus* é um exercício meramente especulativo devido à ausência de monografias para as subunidades geográficas das espécies do Novo Mundo, falta de dados citológicos detalhados, principalmente para as espécies unifolioladas, e parcialidade dos estudos bioquímicos atuais.

2.2.3 - Taxonomia e sistemática de *Lupinus*

Sistemática refere-se à ciência da diversidade de organismos e compreende a descoberta, descrição, interpretação da diversidade biológica e investiga como as espécies estão relacionadas, enquanto a taxonomia envolve a designação dos nomes científicos para grupos de organismos a onde eles ocorrem (Judd et al., 1999).

A história taxonômica de *Lupinus* é bastante controversa e complexa no que se refere ao número de espécies. Alguns autores fazem referência a 200 (Bisby, 1981; Plitmann, 1981), 150 (Burkart, 1987), podendo chegar até 500 (Dunn, 1984; Planchuelo-Ravelo et al., 1993). A grande dificuldade em se determinar o número exato de espécies é o grande número de nomes publicados, o tamanho do gênero, a ampla distribuição geográfica dos táxons, alta variabilidade dos caracteres morfológicos, diversidade ecológica e falta de diagnósticos claros para separação das espécies (Plitmann, 1981; Käss & Wink, 1997; Aïnouche & Bayer, 1999).

A taxonomia das espécies, principalmente as norte-americanas e andinas complica-se ainda mais devido à hibridação, à poliploidia existente, e à dificuldade para estabelecer relações específicas nestas áreas (Monteiro & Gibbs, 1986; Monteiro, 1987).

Planchuelo (1999), cita a série *Species Lupinorum*, conduzida por Smith (1938-1942), como uma das obras mais extensas sobre *Lupinus*. Para a autora, as centenas de novas espécies descritas por Smith para a América do Sul, são baseadas em caracteres irrelevantes e sem referência a nenhuma espécie de países adjacentes. Com isso, muitos dos táxons propostos pelo autor são atualmente considerados sinônimos.

Aproximadamente 63 táxons arbustivos, perenes e anuais foram citados para a região andina, mas é possível que após uma avaliação crítica este número possa ser reduzido pois vários táxons podem ser sinônimos (Planchuelo-Ravelo, 1984).

Bentham (1859), no tratamento de *Lupinus* para a Flora Brasiliensis reconhece 11 espécies de lupinos unifoliolados.

Monteiro & Gibbs (1986) em sua revisão taxonômica das espécies de *Lupinus* unifoliolados do Brasil reconheceram 13 espécies arranjadas em dois subgrupos distintos: a) espécies sem estípulas ou com estípulas completamente adnatas ao pecíolo, sem porção distal livre (*L. coriaceus* Benth., *L. decurrens* Gardner, *L. guaraniticus* (Hassl.) C. P. Sm., *L. ovalifolius* Benth., *L. parvifolius* Gardner, *L. prouvensalanus* C. P. Sm.); b) espécies com estípulas adnatas ao pecíolo, com porção distal livre (*L. arenarius* Gardner, *L.*

crotalarioides Mart. ex Benth., *L. insignis* (Glaziou ex) C. P. Sm., *L. leavigatus* Benth., *L. sellowianus* Harms, *L. subsessilis* Benth., *L. velutinus* Benth.).

As 12 espécies de lupinos multifoliolados do Velho Mundo são todas anuais, com sementes grandes e com base no padrão da testa das sementes, divididas em dois grupos: lupinos de sementes rugosas (*L. atlanticus* Glads., *L. cosentinii* Guss., *L. digitatus* Forsk., *L. palestinus* Boiss., *L. pilosus* Murr., *L. princei* Harms., *L. somaliensis* Baker) e lupinos de sementes lisas (*L. albus* L., *L. angustifolius* L., *L. hispanicus* Boiss & Reuter, *L. luteus* L., *L. micranthus* Guss.) (Plitmann, 1981).

Plitmann (1981), sugeriu dissociação sistemática para os lupinos do Velho Mundo. Nesta base, o grupo das sementes rugosas como um todo e as espécies de sementes lisas representam distintas entidades biológicas, geneticamente separadas uma da outra por vários mecanismos de isolamento e sem nenhuma relação sistemática. As marcantes diferenças entre os lupinos de sementes rugosas e lisas podem ser encontrados também em dados serológicos (Cristofolini, 1989) e protéicos (Salmanowicz & Przybylska, 1994).

Relações taxonômicas entre as espécies de *Lupinus* têm sido investigadas usando diferentes abordagens (Przybylska & Zimniak-Przybylska, 1995). Comparações dos fenótipos de isozimas (Wolko & Weeden, 1990), indicaram que as espécies de sementes lisas do Velho Mundo são relacionadas às espécies de sementes rugosas do Velho Mundo, este último formando um grupo mais coeso quando comparadas com as espécies de sementes lisas. Neste estudo, os lupinos do Velho Mundo mostraram maiores

afinidades com a espécie da América do Sul, *L. mutabilis*, que com qualquer espécie da América do Norte analisada.

Käss & Wink (1997), propuseram a existência de quatro grupos de *Lupinus*, mais ou menos distintos, baseados em dados moleculares do gene *rbcL* e regiões ITS1+2 de rDNA: 1) As espécies da parte leste da América do Sul; 2) O grupo homogêneo das espécies de sementes rugosas (*Scabrispermae*) do Velho Mundo o qual é distinguido do grupo de sementes lisas (*Malacospermae*); 3) No grupo heterogêneo das sementes lisas, um pequeno grupo com *L. angustifolius*, *L. hispanicus* e *L. luteus* é reconhecido; 4) Os lupinos da América do Norte e da América do Sul de distribuição oeste. Os dados moleculares claramente mostraram que os lupinos de sementes rugosas (*Scabrispermae*) são muito relacionados. Dados baseados em alcalóides (Wink et al., 1995), proteínas das sementes (Zimniak-Przybylska & Przybylska, 1997; Salmanowicz & Przybylska, 1994), proteínas serológicas (Cristofolini, 1989), isozimas (Wolko & Weeden, 1990) também evidenciam a uniformidade deste grupo.

Alcalóides quinolizidine (QA) são metabólitos secundários característicos das *Fabaceae* e abundantes em *Lupinus*. Estes metabólitos têm sido usados em quimiotaxonomia e investigações evolutivas incluindo o gênero *Lupinus* (Wink et al., 1995).

Caracteres de sementes e dados de alcalóides (Plitmann, 1981), implicam que os lupinos de sementes lisas do Velho Mundo, especialmente *L. luteus* e *L. angustifolius*, são relacionados mais aos lupinos norte-americanos

que outros do Velho Mundo, uma visão corroborada pelos dados moleculares de Käss & Wink (1997).

Aïnouche et al. (1996), estudaram a composição de alcalóides das sementes de *L. tassilicus* Maire da África Central e compararam com as espécies relacionadas dos lupinos de sementes rugosas. Neste estudo, embora os dados de alcalóides não tenham revelado significantes alterações qualitativas entre as amostras, os autores puderam distinguir dois subgrupos de populações baseados na relação de epilupinina e multiflorina: os que acumulam predominantemente multiflorinas e distribuem-se essencialmente na Região Mediterrânea; e aqueles que contém epilupinina como alcalóides principais, e originárias do deserto e regiões áridas da África. Os dados de alcalóides também apoiaram a íntima afinidade entre as formas de *L. tassilicus* da Argélia e Líbia, e entre estes últimos e *L. digitatus* do Egito.

Wink et al. (1995), estudaram a composição de alcalóides em 56 espécies de *Lupinus* e verificaram a existência de aproximadamente 100 alcalóides. Neste estudo, os autores verificaram que lupininas bicíclicas e derivados são abundantes em alguns lupinos do Velho Mundo e em três espécies do Novo Mundo, enquanto multiflorina e derivados foram encontrados em sete táxons do Velho Mundo e em dois da América do Sul.

Käss & Wink (1997), utilizaram as análises de alcalóides de Wink et al. (1995), e verificaram o limitado valor dos padrões de alcalóides em *Lupinus* como marcador taxonômico. Neste estudo, apenas os lupinos de sementes rugosas foram mais ou menos reconhecidos como um grupo, devido ao consistente padrão de alcalóides multiflorina.

Planchuelo-Ravelo et. al. (1993), analisaram o padrão de alcalóides de três ecótipos de *L. linearis* Desr. e seis ecótipos do complexo *L. gibertianus*. C. P. Sm. Neste estudo, os perfis de alcalóides de ambas espécies e ecótipos foram similares em suas composições, confirmando a visão que ambas espécies são relacionadas e que os membros do complexo *L. gibertianus* não são geneticamente diferenciados, mas representam diferentes fenótipos.

Planchuelo (1996), analisou a morfologia e as semelhanças de alcalóides em duas espécies selvagens de *Lupinus* da América do Sul e as comparou com espécies nativas cultivadas da Bacia do Mediterrâneo. As afinidades morfológicas e as similaridades do padrão de alcalóides entre *L. gibertianus*, *L. linearis* da América do Sul e *L. angustifolius* da Bacia Mediterrânea demonstraram que estes táxons são intimamente relacionados. Neste estudo, a autora sugeriu, com base em evidências de origem e distribuição das espécies, que o complexo *L. gibertianus*–*L. linearis* é um possível ancestral de *L. angustifolius*.

Um estudo filogenético baseado em ITS de DNA nuclear permitiu a Aïnouche & Bayer (1999), separar os lupinos de sementes lisas dos lupinos de sementes rugosas do Velho Mundo. As análises filogenéticas foram realizadas para 44 táxons fornecendo ainda novas abordagens dentro da taxonomia e sistemática dos lupinos do Novo Mundo, incluindo: (1) sua aparente subdivisão geográfica leste-oeste; (2) a relação das espécies anuais do sudeste da América do Norte com as espécies anuais e perenes de folhas simples e compostas dos lupinos do sudeste da América do Sul, e (3) o reconhecimento

do grupo *Platycarpus*, formado por táxons anuais, com cotilédones sésseis e derivados de um ancestral comum. Alguns táxons deste grupo estendem-se da América do Norte até o oeste da América do Sul.

Talhinhas et al. (2003), utilizando marcadores moleculares do tipo AFLP, ISSR e RAPD em algumas espécies de *Lupinus*, verificaram baixos níveis de similaridade genética. No entanto, estas técnicas regularmente mostraram uma grande similaridade genética entre *L. pilosus* e *L. cosentinii*, *L. mutabilis* e *L. polyphyllus* e entre *L. luteus*, *L. hispanicus* e *L. angustifolius*, separando claramente as espécies do Velho e do Novo Mundo. Os autores sugeriram ainda que a baixa similaridade entre os *Lupinus* poderia ser resultado de um longo processo de divergência no que se refere às regiões não codificantes do genoma, as quais poderiam representar uma proporção muito importante do genoma de *Lupinus*.

2.2.4 - Citogenética e genética

2.2.4.1 - Dos *Lupinus* do Velho Mundo

Os estudos citológicos do gênero *Lupinus* permanecem um tanto quanto atrasados quando comparados aos de outras leguminosas. Os poucos estudos acerca do assunto são demasiadamente pobres, tanto em número quanto em quantidade. As principais razões residem naturalmente no fato de *Lupinus* ser um material desfavorável para observações citológicas, o que já havia sido comentado por Malheiros (1942), além do número relativamente elevado de cromossomos, $2n = 32$ a 52 e o seu pequeno tamanho de 1 a 4μ .

Com isso, há dificuldade para definir o número exato de cromossomos para todas as espécies (Atkins et al., 1998; Pazy et al., 1977).

Os primeiros relatos referentes à citogenética do gênero, compilados por Malheiros (1942), são controversos e datam das décadas de 20 e 30, com informações sobre o número cromossômico de *L. albus* ($2n = 40$), *L. angustifolius* ($2n = 40, 48$), *L. mutabilis* ($2n = 42, 48$), *L. luteus* ($2n = 46, 48$).

Malheiros (1942), analisou a citologia em seis espécies de *Lupinus*, encontrando $2n = 40$ em *L. angustifolius*, $2n = 48$ em *L. mutabilis*, $2n = 50$ em *L. albus*, *L. luteus*, $2n = 52$ em *L. rothmaleri* (= *L. hispanicus*) e $2n = 32$ para *L. cosentinii*. Os números cromossômicos para as duas últimas espécies foram as primeiras determinações realizadas.

Pazy et al. (1977), analisaram o número cromossômico e o comportamento meiótico em sete espécies e duas variedades de *Lupinus* do Velho Mundo com o objetivo de confirmar dados cromossômicos já existentes, bem como verificar possíveis indicações de poliploidia nas configurações meióticas. As análises confirmaram para *L. albus* $2n = 50$, *L. angustifolius* var. *angustifolius* e var. *basalticus* $2n = 40$, *L. luteus* $2n = 52$, *L. palestinus* $2n = 42$, *L. micranthus* $2n = 52$, *L. pilosus* $2n = 42$. *L. micranthus* apresentou $2n = 52$ diferindo do número cromossômico $2n = 50$ encontrado por Gladstones (1970).

Quanto às análises meióticas, Pazy et al. (1977), relataram que em todas as populações analisadas a meiose apresentou-se regular, exceto para três populações de *L. palestinus* que apresentaram maior número de bivalentes em bastão que as demais espécies e também configurações semelhantes a quadrivalentes, no entanto, fases tardias da meiose mostraram-se sem

distúrbios. Segundo os autores, associações secundárias entre os cromossomos de *Lupinus* já foram mencionadas por outros autores e deveria ser objeto de futuras investigações.

Gladstones (1998), e Monteiro (1987), compilaram números cromossômicos confirmados para as espécies de *Lupinus* de sementes lisas e rugosas ocorrentes no Velho Mundo, e estes variaram de $2n = 32$ a $2n = 52$ (tabela 1).

A grande variação de números cromossômicos apresentadas pelas espécies do Velho Mundo permitiram a Pazy et. al. (1977), inferir sobre a existência de uma série aneuplóide com diferentes números cromossômicos básicos variando de $x = 5, 6(9), 7, 8$ e 13 , bem como de diferentes níveis de ploidia. Uma grande variação de números básicos presumivelmente indica ativa evolução e as três rotas comuns são provavelmente a perda de cromossomos pequenos seguida de translocações desiguais, aneuploidia a nível poliplóide e poliploidia dibásica (Stace, 2000).

Para Plitmann (1981), um dos três aspectos que caracterizam os *Lupinus* do Velho Mundo é o polimorfismo cromossômico, com no mínimo sete diferentes números encontrados nestas espécies, contrastando com a homogeneidade cromossômica de $2n = 48$ (raro $2n = 36$) nas Américas. Os dois grupos diferem ainda em sua distribuição geográfica, características morfológicas, padrão de alcalóides e reprodução biológica (tabela 2) (Plitmann, 1981; Gammar et al., 1999).

TABELA 1 – Número cromossômico dos *Lupinus* do Velho Mundo

Espécie	Número cromossômico (2n)
Sementes rugosas	
<i>L. atlanticus</i>	38 ^{1 2}
<i>L. cosentinii</i>	32 ^{1 2}
<i>L. digitatus</i>	36 ^{1 2}
<i>L. palestinus</i>	42 ¹
<i>L. pilosus</i>	42 ^{1 2}
<i>L. princei</i>	38 ²
<i>L. somaliensis</i>	? ^{1 2}
Sementes lisas	
<i>L. albus</i>	50 ^{1 2}
<i>L. angustifolius</i>	40 ^{1 2}
<i>L. hispanicus</i>	52 ^{1 2}
<i>L. luteus</i>	52 ^{1 2}
<i>L. micranthus</i>	52 ^{1 2}

? – conhecido apenas pelo Especimen Tipo

Compilações cromossômicas: 1) Monteiro 1987, 2) Gladstones, 1998

Para alguns autores, os lupinos do Velho Mundo parecem estar isolados geneticamente entre si e aparentemente sem qualquer proximidade sistemática devido ao sistema de reprodução com altos níveis de autopolinização automática e acentuada incompatibilidade nos cruzamentos interespecíficos tanto nos lupinos de sementes lisas, quanto nos de sementes rugosas. Este isolamento é evidenciado pelo fato de que não foram encontrados híbridos naturais entre estes dois grupos de espécies (Monteiro, 1987).

TABELA 2- Principais diferenças entre os lupinos do Velho e do Novo Mundo

	Velho Mundo	Novo Mundo
Hábito	anuais, herbáceos	anuais, perenes, as vezes com caulues lenhosos
Folhas	5—ou mais folíolos	1-3-5 ou mais folíolos
Frutos	grandes, acima de 3x1 cm	pequenos, geralmente estreitos ou curtos
Sementes	grandes (maior que 5 mm de diâmetro)	pequenas (5mm ou menos em diâmetro)
Alcalóides	lupinina, lupanina, hidroxilupanina	lupinina, lupanina, sparteina
Cromossomos	2n = 32, 36, 38, 40, 42, 50, 52	2n = 48 (36)
Rep. Biológica (& hibridização)	maioria autofecundação. Sem hibridização interespecífica	fecundação cruzada e autofecundação. Ocorrência de hibridização
Habitats	secundários ou perturbados	primários e secundários
Zonas climáticas	mediterrânea (subtropical)	mediterrânea, temperada, tropical, subalpina)

Adaptado de Plitmann, 1981

Considerável avanço tem sido obtido na compreensão da taxonomia e sistemática de lupinos, baseado essencialmente sobre a morfologia, ecologia, química, cruzabilidade e abordagens genéticas. Isto é particularmente verdadeiro para o Velho Mundo devido ao pequeno número de espécies e sua crescente importância como plantas fixadoras de nitrogênio e suplemento protéico (Aïnouche & Bayer, 1999).

Carstairs et al. (1992), analisaram o tamanho, o número cromossômico e a habilidade de cruzamentos em três espécies de *Lupinus* do Velho Mundo e suas implicações para as relações cito-sistemáticas entre os lupinos de sementes rugosas. As contagens cromossômicas foram realizadas para *L. princei* 2n = 38, *L. atlanticus* 2n = 38 e *L. digitatus* 2n = 36.

Quanto às análises meióticas, Carstairs et al. (1992), relataram que as espécies analisadas apresentaram meiose regular com formação de 19

bivalentes em metáfases I de *L. princei* e *L. atlanticus* e 18 bivalentes em todas as células de *L. digitatus* analisadas. Essa regularidade meiótica foi confirmada na alta viabilidade do pólen (73-99%).

Quanto à viabilidade das sementes, *L. princei*, que possui os maiores cromossomos, não produziu sementes viáveis na F₁ quando cruzado com *L. cosentinii* (n = 16), *L. atlanticus*, *L. digitatus* e *L. pilosus* (n = 21), enquanto *L. digitatus* e *L. atlanticus* produziram híbridos interespecíficos entre eles e com *L. cosentinii*. Os autores confirmaram ainda que *L. pilosus* não forma híbridos F₁ férteis com *L. atlanticus*, *L. cosentinii* e *L. digitatus*. Baseados nas informações de número cromossômico, tamanho e habilidade de cruzamentos interespecíficos os autores reconheceram três subgrupos distintos dentro dos lupinos de sementes rugosas: o grupo Princei (*L. princei*), grupo Atlanticus (*L. atlanticus*, *L. digitatus* e *L. cosentinii*) e o grupo Pilosus (*L. pilosus* e *L. palestinus*) (Carstairs et al., 1992).

Gupta et al. (1996), afirmaram que o genoma de *L. atlanticus* é mais similar ao de *L. digitatus* que o de *L. cosentinii* e *L. pilosus* e que este possui maior similaridade genômica com *L. atlanticus*, enquanto *L. princei* aparece tendo um genoma isolado dentro deste grupo. Com base nas configurações cromossômicas das células meióticas em F₁ os autores sugerem que estas espécies têm, no mínimo, dois genomas parcialmente em comum, incluindo também translocações e inversões. Estas espécies, com parcial similaridade genômica e anormalidades cromossômicas (inversões e translocações), poderiam ter evoluído através de alopoliploidização, enquanto *L. princei* que

possui os maiores cromossomos poderia ter evoluído através de autoploidização e ter permanecido isolado geneticamente.

Naganowska & Ladon (2000), analisaram o número cromossômico de duas espécies e linhas híbridas interespecíficas. As contagens cromossômicas realizadas demonstraram $2n = 52$ para *L. luteus* cv. Topaz, *L. hispanicus* subsp. *hispanicus* e para o híbrido *L. x hispanicoluteus*. Este fato tem importantes implicações práticas e teóricas para o melhoramento de plantas, já que os híbridos interespecíficos destas duas espécies poderiam ser uma fonte de variação para gerar novas cultivares.

Gammar et al. (1999), usaram citometria de fluxo para determinar a quantidade individual de DNA por núcleo em oito espécies de *Lupinus* do Mediterrâneo e verificar possível correlação entre conteúdo de DNA e seus números cromossômicos. Os resultados mostraram não haver flutuação significativa na quantidade de DNA em *L. luteus*, *L. micranthus* com $2n = 52$ e *L. angustifolius* com $2n = 42$, a mesma quantidade de DNA em *L. pilosus* e *L. palestinus* ambos com $2n = 42$. Flutuação significativa na quantidade de DNA ocorre entre *L. pilosus*, *L. palestinus* com $2n = 42$ e *L. cosentinii* com $2n = 32$ e *L. digitatus* com $2n=36$ cromossomos, sendo esta variação não correlacionada com o número cromossômico das espécies.

Obermayer et al. (1999), determinaram o tamanho do genoma em algumas espécies de *Lupinus* do Velho Mundo usando *Glycine max* "Caresia" ($1C=1,143pg$) e um acesso de *L. pilosus* ($1C=0,649pg$) como padrão interno. Os autores obtiveram em *L. anatolicus* 0,606 pg, *L. pilosus* 0,620-0,678 pg, *L.*

luteus 1,173 pg, *L. hispanicus* 1,043pg, *L. hispanicus* ssp. *hispanicus* x *L. luteus* 1,036 pg.

As diferenças nos tamanhos dos genomas permitiram a Obermayer et al. (1999), reconhecer dois grupos de táxons: 1) *L. anatolicus* e *L. pilosus* com 0,606 a 0,678 pg e (2) *L. luteus*, *L. hispanicus* e *L. hispanicus* ssp. *hispanicus* x *L. luteus* com 1,029-1,178 pg. Esta diferença de 1,9 vezes é devido à grande variação nos números cromossômicos de $2n = 42$ em *L. pilosus* e *L. anatolicus*, versus $2n = 52$ em *L. luteus*, *L. hispanicus* e *L. hispanicus* ssp. *hispanicus* x *L. luteus* e indica forte diversificação genômica.

Naganowska et al. (2003), estimaram o conteúdo 2C de DNA nuclear em 18 espécies e formas botânicas do gênero *Lupinus*, representando diferentes números cromossômicos e distintos grupos taxonômicos. Os valores encontrados variaram de 0,97 pg em *L. princei*, 2,44 pg em *L. luteus* e 1,90 pg em *L. mutabilis* (Novo Mundo). Nenhuma correlação significativa entre conteúdo de DNA e número cromossômico somático foi observada neste estudo, mas os valores 2C encontrados para os *Lupinus* do Velho Mundo confirmam sua divisão taxonômica na seção *Scabrispermae* (sementes rugosas) e *Malacospermae* (sementes lisas).

Wolko & Weeden (1989), utilizaram 44 linhas de quatro espécies de *Lupinus* do Velho Mundo e *L. mutabilis* do Novo Mundo para estimar a poliploidia do genoma com base no número de locus isozímicos. Os resultados sugeriram que os locus duplicados refletem a natureza poliplóide do genoma, como poderia ser predito a partir do relativamente elevado número cromossômico do gênero. As diferenças no número de genes entre espécies

de lupinos refletem perdas diferenciais de locus duplicados presentes no ancestral poliplóide destas espécies.

Apesar do número cromossômico ($2n = 50, 52$) de *L. albus*, *L. luteus* e *L. hispanicus*, os dados de isozimas não suportam redundância genômica maior que tetraploidia.

Naganowska & Zielinska (2002), realizaram o primeiro trabalho com citogenética molecular utilizando a técnica de FISH (*Fluorescence in situ Hybridization*) para determinar a distribuição genômica dos genes de RNA ribossomal em cinco espécies de *Lupinus*. Os autores observaram variação específica no número e tamanho dos genes 18S–25S de rDNA e a presença em todas as espécies de um par de cromossomos carregando o gene 5S.

Naganowska et al. (2003a), utilizaram FISH para determinar a distribuição genômica de genes de rRNA em *L. hispanicus*, *L. luteus*, *L. hispanicoluteus*. Neste trabalho, as três espécies diplóides apresentaram dois pares de cromossomos carregando genes ribossomais 18S, 5.8S–25S e um par carregando genes ribossomais 5S. O uso de sondas de rDNA permitiu ainda a identificação de três diferentes pares de cromossomos e a conservação do número de locus de rDNA entre as três espécies.

Programas de melhoramento em *Lupinus* têm focalizado o aumento da produção de sementes, resistência a moléstias como fusarium, antracnose; tolerância a fatores ambientais como frio e toxicidade por alumínio; cruzamentos, cultura de anteras e seleção de linhas com baixos teores de alcalóides (Cowling et al., 1998).

Sementes de *Lupinus* contém normalmente entre 1 e 2% de alcalóides (Gladstones, 1970). Mutantes de *L. angustifolius*, *L. albus* e *L. luteus* foram selecionados contendo respectivamente 0,001, 0,06 e 0,02% de alcalóides na década de 70 (Lewis, 1983).

Molvig et al. (1997), obtiveram plantas transgênicas de *L. angustifolius* pela incorporação de um gene de albumina de semente de girassol, com aumento no conteúdo de metionina, valor biológico e digestibilidade protéica. Igualmente, Li et al. (2000), produziram plantas transgênicas de *L. luteus* usando *Agrobacterium tumefaciens* para a transferência de genes. Esta técnica, segundo os autores, poderia ser usada para introduzir genes para tolerância a herbicidas e resistência à doenças.

2.2.4.2 - Dos *Lupinus* do Novo Mundo

Os *Lupinus* americanos são bastante numerosos, geneticamente complexos e possuem, em geral, distribuição ampla (Monteiro, 1987). As espécies são pouco estudadas taxonomicamente e os estudos citológicos são restritos principalmente à contagem cromossômica (Naganowska et al., 2003).

Para a maioria das espécies estudadas da América do Norte, América Central e algumas andinas, o número cromossômico predominante é $2n = 48$, com alguns indivíduos exibindo $2n = 96$, exceto para *L. subcarneus* Hook. e *L. texensis* Hook. que apresentam $2n = 36$ (tabela 3) (Darlington, 1955; Federov, 1969; Dunn, 1984; Gladstones, 1998; Goldblatt, 1981, 1984, 1985, 1988; Goldblatt & Johnson, 1990, 1996, 1998). As duas espécies do Texas são

para Gladstones (1998), provavelmente sobreviventes *in situ* das primeiras imigrações via Estreito de Bering ou diretamente através do Atlântico.

O número cromossômico básico sugerido é $x = 6$, e conseqüentemente, os *Lupinus* do Novo Mundo são considerados como uma série paleopoliploide que comporta-se como diplóide (Dunn, 1984).

Dunn (1984) e Gross (1986) sugeriram que *Lupinus* originou-se na América do Sul, de *Crotalaria*, e postularam sobre a necessária alteração por aneuploidia do número cromossômico básico de $x = 7$ para $x = 6$, seguido por repetidas duplicações cromossômicas associadas com a evolução do hábito anual e folhas compostas e adaptação ao frio e climas mais áridos.

Cox (1972), cita $2n = 48$ para dez espécies e seis subespécies de lupinos ocorrentes na América do Norte, incluindo *L. aridus* Douglas ex Lindl., anteriormente citado como tendo $2n = 24$ (Dunn, 1984). Para Gladstones (1998), a predominância de $2n = 48$ e 96 entre os *Lupinus* da América do Norte adequa-se á teoria de que poliploidia acompanha recente evolução e colonização.

Monteiro (1987), baseado em dados existentes de número cromossômico, afirmou que no Novo Mundo o gênero mostra poliploidia em níveis múltiplos, dissimilares daqueles do Velho Mundo, e que as hibridações (associada às vezes com introgressão) e poliploidia têm contribuído para a complexidade taxonômica dos lupinos da América do Norte e do Sul.

TABELA 3 – Número cromossômico apresentado por espécies de lupinos andinos, norte e centro-americanos.

Espécie	Nº Cromossômico (2n)	Referência
<i>L. densiflorus</i>	48	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. douglasii</i>	48	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. elegans</i>	48	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. mutabilis</i>	48	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. nanus</i>	48	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. nootkatensis</i>	48	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. ornatus</i>	48	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. polyphyllus</i>	48	Darlington (1955); Federov (1969); Goldblatt (1981, 1984, 1985, 1988); Goldblatt & Johnson, 1990)
<i>L. pubescens</i>	48	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. hartwegii</i>	48-50	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. barkeri</i>	50	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. albicaulis</i>	48	Federov (1969)
<i>L. albicoccineus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. ananeanus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. arboreus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. arcticus</i>	48	Federov (1969), Goldblatt, (1981)
<i>L. argenteus</i>	48	Federov (1969); Goldblatt (1988)
<i>L. aridus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. caespitosus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. caudatus</i>	48, 96	Federov (1969)
<i>L. cytisoide</i>	48	Federov (1969)
<i>L. hilarianus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. humulicula</i>	48, 96	Federov (1969)
<i>L. laxiflorus</i>	48, 96	Federov (1969)
<i>L. lepidus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. leptophyllus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. leucophyllus</i>	48, 96	Federov (1969)
<i>L. littoralis</i>	48	Federov (1969)
<i>L. mexicanus</i>	48	Federov (1969)

TABELA 3 - Continuação

Espécie	NºCromossômico (2n)	Referência
<i>L. microphyllus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. montanus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. paniculatus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. perennis</i>	48, 96	Federov (1969); Goldblatt (1988)
<i>L. pusillus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. reticulatus</i>	40	Federov (1969)
<i>L. varius</i>	48	Federov (1969)
<i>L. verustus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. texensis</i>	34, 36	Federov (1969)
<i>L. superbus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. sulphureis</i>	48, 96	Federov (1969)
<i>L. suksdorfii</i>	96	Federov (1969)
<i>L. succulentus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. subcarnosus</i>	34, 36, 48	Darlington (1955); Federov (1969)
<i>L. sericeus</i>	48	Federov (1969)
<i>L. saxosus</i>	96	Federov (1969)
<i>L. russellianus</i>	36	Federov (1969)
<i>L. caballoanus</i>	48	Goldblatt & Johnson (1996, 1998)
<i>L. platamodes</i>	48	Goldblatt & Johnson (1996, 1998)

Para Gammar et al. (1999), a estabilidade e a uniformidade do número cromossômico básico e as raras alterações na ploidia no grande número de espécies americanas, contrasta com aquelas encontradas no pequeno número de espécies na Bacia do Mediterrâneo, afirmando que *Lupinus* tem dois centros de diversificação com diferentes modos de especiação e evolução cromossômica.

Maciel & Schifino-Wittmann (2002), realizaram a primeira determinação cromossômica para nove espécies multifolioladas de *Lupinus* ocorrentes no sudeste da América do Sul, sendo as primeiras contagens para os lupinos sul-americanos não andinos. As contagens cromossômicas foram

realizadas em 30 acessos de espécies ocorrentes no Rio Grande do Sul e os resultados encontrados foram $2n = 32$ e 34 para *L. bracteolaris* Desr. e *L. linearis* Desr. e $2n = 36$ para *L. gibertianus* C. P. Sm., *L. lanatus* Benth., *L. magnistipulatus* Planchuelo & Dunn, *L. multiflorus* Desr., *Lupinus reitzii* Pinheiro & Miotto, *L. rubriflorus* Planchuelo e *L. uleanus* C. P. Sm. Os autores observaram que as espécies da América do Sul analisadas têm baixo número cromossômico quando comparadas com as do Velho Mundo, que $2n = 36$ contrasta com os dados dos lupinos da América do Norte (em geral $2n = 48$) e que na parte sudeste da América do Sul predomina baixo número cromossômico. Os resultados deste trabalho associados aos dados da literatura permitiram aos autores discutir implicações evolutivas do gênero, sugerindo que:

1) As espécies do sudeste da América do Sul também formam um grupo citológico distinto dos táxons da América do Norte. Isto foi corroborado por dados moleculares que evidenciaram a existência de quatro diferentes grupos no gênero: as espécies do leste da América do Sul, as espécies homogêneas de sementes rugosas do Velho Mundo, as espécies heterogêneas de sementes lisas do Velho Mundo e os táxons da América do Norte e oeste da América do Sul (Käss & Wink, 1997).

2) Níveis mais altos de poliploidia não desempenharam importante papel na evolução e especiação de *Lupinus* na América do Sul, ao contrário do que ocorreu na América do Norte.

3) A predominância de baixo número cromossômico nas espécies do leste da América do Sul, e a existência de números similares em duas das seis

espécies de sementes rugosas do Velho Mundo, suportam a hipótese de Gladstones (1998), que na evolução do gênero, as espécies do leste da América do Sul ramificaram-se primeiro, seguidas pelo grupo das sementes rugosas.

Os representantes unifoliolados brasileiros e norte-americanos apesar de terem sido revisados taxonomicamente por Monteiro & Gibbs (1986) e Dunn (1971), respectivamente, não foram até o presente momento objeto de estudos citogenéticos no que tange ao comportamento meiótico e número cromossômico. Estes estudos básicos são importantes e necessários na tentativa de inferir possíveis relações com as espécies multifolioladas do gênero, bem como implicações evolutivas.

2.2.5 - *Lupinus* no Rio Grande do Sul

Apesar de alguns autores terem abordado algumas espécies ocorrentes no Estado (Rambo 1953, 1966; Barreto & Kappel, 1967), apenas recentemente (Santos, 2000; Pinheiro & Miotto, 2001) foi realizado um estudo taxonômico formal para as espécies do *Lupinus* ocorrentes no estado do Rio Grande do Sul.

Rambo (1966), elaborou uma extensa lista de leguminosas sul-riograndenses e cita para o Estado as seguintes espécies: *L. attenuatus* Gardner, *L. bracteolaris*, *L. hilarianus* Benth., *L. incanus* Grah., *L. lanatus*, *L. linearis* e *L. paraguariensis*.

Barreto & Kappel (1967), citam a ocorrência de *L. bracteolaris*, *L. lanatus* e *L. multiflorus* para o Estado.

Santos (2000) e Pinheiro & Miotto (2001), em recente revisão do gênero *Lupinus* verificaram a existência de 13 espécies para o Rio Grande do Sul: *L. guaraniticus* (Hassl.) C. P. Sm., *L. paraguariensis* Chod. & Hassl., *L. linearis* Desr., *L. gibertianus* C. P. Sm., *L. multiflorus* Desr., *L. albescens* Hook. & Arn., *L. magnistipulatus* Planchuelo & Dunn, *L. lanatus* Benth., *L. paranensis* C. P. Sm., *L. rubriflorus* Planchuelo, *L. uleanus* C. P. Sm., *L. bracteolaris* Desr., *Lupinus* sp. As espécies do gênero distribuem-se em todas as regiões fisiográficas do Rio Grande do Sul, mas nos Campos de Cima da Serra são encontradas 11 das 13 espécies, sendo três com distribuição restrita a esta: *L. rubriflorus*, *L. uleanus* e *L. magnistipulatus*. *L. guaraniticus* é a única espécie unifoliolada que ocorre no Rio Grande do Sul.

Os trabalhos de caracterização e avaliação do potencial forrageiro das espécies nativas de *Lupinus* são demasiadamente pobres. Barreto & Kappel (1967), consideraram *L. bracteolaris*, *L. lanatus* e *L. multiflorus* como sendo de pobre valor forrageiro baseado em dados de frequência, ciclo, produtividade e aceitação pelos animais.

2.2.6 - Descrição sumária das espécies utilizadas no presente trabalho.

2.2.6.1 - Espécies sul-rio-grandenses

As descrições dos caracteres morfológicos dos lupinos do Rio Grande do Sul (Região Atlântica), foram baseadas em Pinheiro & Miotto (2001).

Lupinus bracteolaris Desr.

Ervas anuais, eretas, raro decumbentes, com ou sem ramificação ao longo do caule. Apresenta folhas digitadas 3-7(8) folioladas, estípulas adnatas ao pecíolo. Inflorescências em racemos terminais com flores lilases e estandarte com mancha central branca. Legumes entre 21-35,3 x 4,2-6,4 mm subvelutinos, sementes suborbiculares de 2,7-3,6 x 2,2-2,9 mm.

Ocorre com freqüência no Rio Grande do sul, distribuindo-se em todas as regiões fisiográficas, exceto no Alto Uruguai. Habita locais ensolarados, morros graníticos e areníticos, campos baixos e beira de estradas com solos descobertos.

Floresce de (agosto) setembro a dezembro e frutifica de setembro a janeiro. *L. bracteolaris* é uma espécie muito polimórfica, apresentando grande variabilidade de caracteres vegetativos, principalmente quanto ao número e forma dos folíolos e estípulas.

Lupinus guaraniticus (Hassl.) C. P. Sm.

Ervas a subarbustos, perenes, decumbentes, ramificados com 20 a 70 cm de altura. Folhas unifolioladas, folíolos elípticos a elípticos alongados com a face ventral esparsamente serícea e face dorsal densamente serícea a seríceo-vilosa. Racemos terminais com flores roxas e estandarte com mancha central branca. Legumes densamente seríceo-lanosos com sementes elípticas e subreniformes.

No Rio Grande do Sul distribui-se na metade norte do Estado (Campos de Cima da Serra, Alto Uruguai, Missões, Planalto Médio e Encosta Superior do Nordeste).

Habita locais ensolarados, beiras de estrada, solos alterados, descobertos e pedregosos. Floresce de outubro a janeiro (fevereiro) e frutifica de (outubro) novembro a janeiro (fevereiro). *L. guaraniticus* é a única espécie unifoliolada que ocorre no Rio Grande do Sul, sendo portanto de fácil reconhecimento.

Lupinus lanatus Benth.

Ervas perenes, eretas, ramificadas ao longo do caule lanoso, podendo desenvolver touceiras com mais de 1m de diâmetro. Folhas da base unifolioladas e trifolioladas, visíveis somente nos indivíduos jovens, as demais 5-7(8) folioladas. Racemos terminais com flores azul-celeste, raramente brancas, estandarte com mancha central branca. Legumes densamente lanosos com sementes elípticas.

No Rio Grande do sul distribui-se em todas as regiões fisiográficas, sendo mais freqüente nos Campos de Cima da Serra e Depressão Central. Habita locais ensolarados, beiras de estrada, solos descobertos e pedregosos e campos baixos. Floresce de (julho, setembro) outubro a dezembro (janeiro), frutifica de (julho, setembro) outubro a janeiro (fevereiro).

Lupinus multiflorus Desr.

Ervas perenes, eretas, ramificadas na base e às vezes um pouco no caule, com 12-17 cm de altura. Folhas unifolioladas e trifolioladas na base, visíveis nos indivíduos jovens, demais folhas 5-7 folioladas. Racemos terminais com flores violetas, estandarte com mancha central laranja. Legumes densamente seríceos e subseríceos com sementes suborbiculares

No Rio Grande do Sul ocorre com muita freqüência nos Campos de Cima da serra, mas também no Litoral, Depressão Central, Missões e Campanha. Habita lugares ensolarados, solos alterados, descobertos e pedregosos, solos arenosos, dunas litorâneas e beiras de estrada. Floresce de (julho) setembro a janeiro e frutifica de outubro a janeiro (fevereiro).

Lupinus paraguariensis Chodat & Hassl.

Ervas a subarbustos, perenes, eretos, ramificados ao longo do caule. Folhas da base e a primeira de cada ramo lateral unifolioladas, as demais 3-5 folioladas. Racemos terminais, 10-20 cm de comprimento com 25-50 flores violáceas e estandarte com mancha central laranja. Legumes densamente lanosos, sementes elípticas.

No Rio Grande do Sul distribui-se somente na metade norte, na região dos Campos de Cima da Serra, Alto Uruguai, Missões, Planalto Médio e Encosta Superior do Nordeste. Habita locais ensolarados, solos alterados, descobertos, pedregosos, beiras de estradas e sobre barrancos. Floresce de outubro a janeiro e frutifica de (outubro) novembro a janeiro (fevereiro).

Lupinus paraguariensis é o único táxon conhecido do gênero que possui a combinação de folhas digitadas (3-5) e unifolioladas na base, e a primeira folha de cada ramo lateral) no mesmo indivíduo. Esta característica torna totalmente segura a identificação da espécie.

Lupinus paranensis C. P. Sm.

Subarbustos perenes, muito ramificados, com 60-170 cm de altura. Folhas digitadas 5-9 folioladas, freqüentemente sete folíolos, com estípulas adnatas ao pecíolo. Racemos terminais, 3,5-17 cm de comprimento. Flores lilases ou roxas, estandarte com mancha central branca. Legumes densamente seríceos e subestrigosos.

No estado do RS ocorre freqüentemente na região dos Campos de Cima da Serra e menos freqüentemente no Alto Uruguai, Depressão Central e Encosta do Sudeste. Habita locais ensolarados, campos baixos, beiras de estradas com solos descobertos e barrancos

Floresce de (julho) setembro a dezembro (janeiro), e frutifica de (setembro) outubro a dezembro (janeiro).

L. paranensis é a única espécie subarbutiva, multifoliolada, encontrada no RS, além disso, as estípulas e as brácteas pilosas em ambas as faces, são importantes caracteres para o reconhecimento da espécie.

Lupinus rubriflorus Planchuelo.

Ervas anuais, decumbentes, muito ramificadas com 10-20 cm de altura. Folhas digitadas (3-) 5-7 folioladas com estípulas adnatas ao pecíolo.

Racemos terminais 2,9-11 cm de comprimento com flores vermelhas a vináceas, estandarte com mancha central branca. Legume subestrigoso, pêlos subpatentes com sementes suborbiculares.

No estado do Rio Grande do Sul é restrito aos Campos de Cima da serra, estando seu limite norte em São José dos Ausentes. A espécie é endêmica do Brasil. Habita locais ensolarados, beira de estradas, lugares com solos descobertos, pedregosos e alterados.

Floresce de (setembro) outubro a janeiro, frutifica de novembro a janeiro. No campo, a principal característica para reconhecer *L. rubriflorus* é a cor vermelha ou vinácea de suas flores e o hábito decumbente.

Lupinus sp.

Ervas provavelmente bianuais, eretas, ramificadas ao longo do caule, com (12) 18,5-70 cm de altura. Folhas da base unifolioladas e trifolioladas, visíveis apenas nos indivíduos jovens, as demais 5-7(8) folioladas. Racemos terminais com flores rosa a rosa-purpúrea ou azul-anil, estandarte com mancha central branca. Legumes densamente lanosos com sementes elípticas.

No Rio Grande do Sul encontra-se com muita freqüência nos Campos de Cima da Serra. Para as regiões da Encosta Superior e Inferior do Nordeste, há um único registro de coleta.

Habita locais ensolarados, beiras de estrada, solos descobertos e pedregosos. Esta espécie apresenta polimorfismo bastante acentuado, principalmente no que diz respeito aos caracteres reprodutivos como a forma

do estandarte e das peças da quilha. Floresce de outubro a janeiro e frutifica de (outubro) novembro a janeiro.

As figuras 2–5 demonstram o aspecto geral de algumas espécies de *Lupinus* analisadas, ocorrentes no Rio Grande do Sul.



FIGURAS 2-5. Aspecto geral de algumas espécies de *Lupinus* ocorrentes no Rio Grande do Sul. 2) *L. paranensis*, 3) *L. lanatus*, 4) *L. rubriflorus*, 5) *L. guaraniticus*.

2.2.6.2 – Espécies norte-americanas

As descrições dos lupinos da América do Norte (sudeste dos Estados Unidos), foram baseadas em Dunn (1971).

Lupinus villosus Willd.

Plantas perenes, de folhas simples geralmente lanceoladas, racemos de 10-25 cm de comprimento, densamente verticilados ou subverticilados, bractéolas lanceoladas com 6,6 mm de comprimento, corola glabra, rosavermelha ou azulada, estandarte púrpura-escuro, até mesmo antes das flores abrirem. Legumes com 30,4 cm de comprimento, sementes 4-4,8 mm de comprimento.

Ocorre na Louisiana, Mississippi, norte da Flórida e Carolina do Norte.

Lupinus cumulicula Small.

Plantas eretas, perenes, arbustivas com 1,5 m de altura, estípulas subulado-filiformes 10-15 mm, conadas a pecioladas, racemos com 10-20 cm de comprimento na maturidade com flores subverticiladas. Folhas ovais, bractéolas lanceoladas, livres 1,8-3,4 mm, legumes 2-4 cm de comprimento. O tamanho depende do número de óvulos fertilizados. Sementes 4,3 x 4mm (manchada com marrom-escuro).

Esta espécie é restrita à região central e costa sudeste da Flórida. Habita cordilheiras arenosas da Flórida.

2.2.6.3 – Espécies andinas

As descrições dos caracteres morfológicos para as espécies de lupinos andinos são baseadas nas populações coletadas na Bolívia e no Peru, de acordo com observações pessoais feitas por Colin Hughes (2000-2001). Descrição para *Lupinus* cf. *bandeliera* foi extraída de Species Lupinorum (Smith, 1940), e Colin Hughes (2000-2001, comunicação pessoal).

Lupinus. cf. *bandeliera* C. P.Sm.

Planta ereta, provavelmente perene. Racemos 5-10 cm de comprimento, brácteas 5-7 mm decíduas, pedicelo 2-4 mm, folíolos 5-7 mm, máximo 20 mm, estípulas 8-12 mm, pecíolo 10-20 mm. Flores 11-12 mm ascendentes, cálice denso, bractéolas 2-3 mm, lábio superior bifido 4-5 mm, pétalas púrpuras a violáceas. Legumes 25-30 mm.

Em sua descrição informal das plantas coletadas Hughes (com. pessoal) evidenciou que estas se constituíam de pequenos arbustos, lenhosos na base, com 1-1,2 m de altura, ramificados na base com numerosas ramificações principais e muitos folíolos pequenos, brotos laterais da base para a extremidade da ramificação principal formando uma coroa densamente circular. Flores em inflorescências terminais, eretas, mantidas acima da folhagem. Cálice verde ou azul esverdeado matizado com púrpura e muito densamente envolto com pêlos macios e brancos, estandarte meio azul escuro com uma grande borda branca matizado de amarelo claro no centro, a qual torna-se profundamente azul com a senescência das flores. Legumes vigorosos, pontiagudos e mantidos horizontalmente.

Localmente comum sobre inclinações rochosas áridas acima de lagos com *Salvia* sp. (Lamiaceae), *Baccharis* sp. (Asteraceae) e sob plantações abertas de *Eucalyptus globosus* (Myrtaceae).

Lupinus sp. CEH 1989

Arbusto com 1,3 m de altura, ramificado. Sublenhosos na base, com ramos de 2cm de diâmetro. Folhagem clara, verde-acinzentada, flores em racemos terminais, eretos, 10-15 cm de comprimento acima da folhagem. Cálice esverdeado, matizado de púrpura. Estandarte azul-lavanda com uma faixa central amarelo-brilhante, ou com manchas avermelhadas nas flores velhas/murchas; asas azuis.

Alguns indivíduos com flores lavanda misturadas na população. Legumes jovens verdes, com pouca pubescência branco-velutina, tornando-se amarelo-clara a marron quando maduros.

Muito abundante sobre encostas rochosas áridas com *Calceolaria* (Scrophulariaceae), *Dallea* (Leguminosae).

Lupinus sp. CEH 2001

Pequenas ervas multi-caules, com cerca de 30 cm de altura (incluindo inflorescência). Flores verticiladas, cálice verde, matizado de púrpura e pilosidade branca, densa; estandarte azul-lavanda com uma faixa estreita central matizada de amarelo na base; quilha profundamente tingida de vermelho na extremidade; asas azul-lavanda.

Legumes jovens verdes, densamente hirsutos, tornando-se marrom quando maduros.

Freqüentemente encontrada em campos baldios próximos aos campos de *L. mutabilis*. Esta espécie, aparentemente invasora, é muito abundante em campos e outros lugares ruderais nesta área.

Lupinus sp. CEH 2002

Ervas robustas, ramificadas na base, com 1,2 m de altura (incluindo inflorescência). Folhagem e ramos com densa pilosidade branco-velutina. Flores em inflorescências eretas, terminais, acima da folhagem. Cálice verde, matizado de púrpura, densamente seríceo-canesciente. Estandarte azul-lavanda, com uma faixa basal amarelo-brilhante no centro, a qual torna-se vermelho-escura com o envelhecimento das flores; asas azuis; quilha matizada de vermelho na extremidade.

Legumes verdes, e seríceo-canescientes quando maduros.

Muito comum em bordas de campos de milho com *Agave* sp. (Agavaceae), utilizado como cerca viva, e áreas ruderais.

Lupinus sp. CEH 2012

Arbustos lenhosos, multi-ramificados ou arvoretas, alcançando 4-6 m de altura e 10cm dap (diâmetro na altura do peito). Inflorescência ereta, terminal, acima da folhagem. Cálice púrpura e densamente seríceo-canesciente; estandarte azul-anil, com uma mancha central basal, amarelo-

brilhante, matizado de púrpura na extremidade; quilha branca matizada de vermelho-escuro na extremidade.

Legumes jovens verdes, matizados de verde-escuro e tornando-se marrons quando maduros.

Abundante na pastagem e formando pequenos aglomerados em beiras de estradas.

Lupinus sp. CEH 2037

Ervas com 30 cm de altura, sublenhosos na base, com ramificações ascendendo irregularmente. Inflorescência terminal, ereta, mantida acima da folhagem, com as flores densamente aglomeradas ao longo da inflorescência. Cálice verde, fortemente matizado de púrpura e densamente pubescente, com pêlos sedosos brancos. Estandarte azul-anil e margem com uma mancha central amarelo-brilhante; asas azuis; quilha branca, matizada de vermelho na extremidade.

Legumes jovens verde-brilhantes tornando-se amarelo-castanhos quando maduros.

Comum em beiras de estradas.

Lupinus sp. CEH 2218

Ervas decumbentes, com 40 cm de altura incluindo a inflorescência, com numerosos ramos prostrados ascendentes, fortemente matizados de vermelho; flores em inflorescências terminais acima da folhagem. Flores fortemente verticiladas, cálice verde, matizado de vermelho e coberto com

longos pêlos brancos, macios; estandarte azul-celeste com uma mancha central branca, tornando-se violeta-clara com a senescência das flores; asas profundamente azul-celeste.

Legumes jovens verdes, tingidos de azul, tornando-se marrom-escuros quando maduros.

Abundante sobre inclinações muito erodidas, com vegetação ruderal degradada e com outra espécie de *Lupinus*, *Salvia* sp. (Lamiaceae), *Baccharis* sp. (Asteraceae), *Rubus* sp. (Rosaceae), *Dodoneae* sp. (Sapindaceae), *Hypericum* sp. (Clusiaceae).

Lupinus sp. CEH 2248

Ervas multi-ramificadas, sublenhosas na base. Inflorescência ereta, terminal, acima da folhagem. Brácteas e cálice verdes, matizados de azul e densamente cobertos com pêlos brancos, macios. Estandarte e asas lilás-claro; quilha matizada com vermelho-escuro na extremidade.

Legumes jovens amarelo-esverdeados, matizados de azul, tornando-se cinza-escuros, sem brilho quando maduros e densamente cobertos com pêlos brancos, macios.

Pequenas populações, sobre amplos rochedos, crescendo sobre *Bacharis* sp. (Asteraceae).

Lupinus sp. CEH 2272

Ervas prostradas com 10 cm de diâmetro, surgindo de uma robusta raiz central, alcançando não mais que 5 cm de altura. Inflorescência prostrada

ou pouco elevada. Cálice verde, matizado de azul. Estandarte branco, azul-brilhante nas margens laterais; asas azul-escuras; quilha branca, matizada de vermelho-escuro nas extremidades.

Legumes jovens verdes, matizados de azul.

Comum em locais muito secos e excessivamente pastejados com *Stipa* sp. (Poaceae), *Plantago* sp. (Plantaginaceae), numerosas Asteraceae, *Muhlenbergia* sp. (Poaceae) e outra espécie de *Lupinus*.

Lupinus sp. CEH 2296

Ervas com 50-100 cm de altura incluindo a inflorescência, provavelmente anuais ou bianuais. Numerosos (5-30) ramos surgindo de uma raiz central, às vezes, sublenhosos na base. Flores em inflorescências terminais, eretas, acima da folhagem, muitas vezes (5-20) por planta. Cálice e brácteas verde-claros e densamente cobertos com pêlos brancos, sedosos. Asas azul-claras; quilha branca, matizada de vermelho-escuro nas extremidades.

Legumes jovens verdes e densamente cobertos com pêlos brancos tornando-se marrom-claros quando adultos.

Pouco freqüente ou rara e aparentemente restrita a valas e bordos inacessíveis de penhascos.

Lupinus sp. CEH 2325

Grandes arbustos com 2m de altura, lenhosos na base, caule com 3cm de diâmetro, muito ramificados. Inflorescências terminais, eretas, acima da

folhagem. Cálice e brácteas verdes, matizados de azul e densamente cobertos com pêlos brancos, macios. Estandarte azul com uma mancha central amarelo-brilhante a qual torna-se avermelhada quando as flores murcham; quilha branca na base, matizada de vermelho-escuro na extremidade.

Abundante sobre encostas rochosas, com numerosas Asteraceae.

Lupinus sp. CEH 2332

Ervas possivelmente anuais ou bianuais, com numerosos (5-20), ramos decumbentes surgidos de uma raiz central e formando uma moita de 1m de diâmetro e 3m de altura (incluindo inflorescência). Pequenas inflorescências terminais, eretas, acima da folhagem, muitas vezes (5-20) por planta. Cálice verde, matizado de azul e coberto com pêlos brancos, macios. Estandarte azul-lavanda com mancha central amarelo-brilhante, tornando-se avermelhada nas flores velhas (murchas); quilha pouco matizada de vermelho na extremidade.

Legumes verdes quando jovens, marrons quando maduros.

Comum, especialmente sobre beiras de estradas abertas e inacessíveis para animais herbívoros, mas também dispersa em campos gramíneos, com outra espécie de *Lupinus*.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em sua totalidade no Laboratório de Citogenética Vegetal e Eletroforese do Departamento de Plantas Forrageiras e Agrometeorologia (DPFA), Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

3.1.- Material utilizado

3.1.1 - Para análise meiótica, índice meiótico e viabilidade do pólen.

As inflorescências dos lupinos utilizados neste trabalho foram coletadas em viagem de campo realizada nos dias 02 e 03 de novembro de 2002, na Região dos Campos de Cima da Serra/RS. Esta região foi escolhida por possuir 11 das 13 espécies descritas para o Rio Grande do Sul. *L. bracteolaris* foi coletado em 26 de setembro de 2002, em Porto Alegre/RS.

A relação dos materiais coletados com o número do acesso, local e data das coletas está na tabela 4.

TABELA 4 – Material utilizado para análise meiótica, índice meiótico e viabilidade do pólen.

Espécie	Acessos ^a	Nº individ.	Local coleta ^b
<i>L.bracteolaris</i>	I. Conterato s/n ICN 128464	2	Porto Alegre/RS
<i>L. lanatus</i>	S. T. S. Miotto 2110	3	Tainhas/RS
	S. T. S. Miotto 2119	3	Cambará do Sul/RS
<i>L. multiflorus</i>	S. T. S. Miotto 2122	5	Jaquirana/RS
<i>Lupinus</i> sp.	S. T. S. Miotto 2098	2	São Francisco de Paula/RS
	S. T. S. Miotto 2099	3	Tainhas/RS
	S. T. S. Miotto 2105	3	Tainhas/RS
	S. T. S. Miotto 2113	3	Cambará do Sul/RS
	S. T. S. Miotto 2126	3	Bom Jesus/RS
	S. T. S. Miotto 2131	1	Lageado Grande/RS
<i>L. guaraniticus</i>	S. T. S. Miotto 2107	1	São Francisco de Paula/RS
	S. T. S. Miotto 2109	2	Tainhas/RS
	S. T. S. Miotto 2111	2	Cambará do Sul/RS
	S. T. S. Miotto 2125	3	Jaquirana/RS
<i>L. rubriflorus</i>	S. T. S. Miotto 2117	3	Cambará do Sul/RS
	S. T. S. Miotto 2123	3	Jaquirana/RS
	S. T. S. Miotto 2114	2	Cambará do Sul/RS
	S. T. S. Miotto 2139	3	São Francisco de Paula/RS
	S. T. S. Miotto 2104	1	Tainhas/RS
	S. T. S. Miotto 2136	2	São Francisco de Paula/RS
	S. T. S. Miotto 2108	2	São Francisco de Paula/RS
	S. T. S. Miotto 2102	1	São Francisco de Paula/RS
	<i>L. paranensis</i>	I. Conterato s/n ICN 129986	1

^a I. Conterato = Ionara Fátima Conterato – UFRGS – Porto Alegre/RS

S. T. S. Miotto – Silvia Terezinha. S. Miotto – UFRGS – Porto Alegre/RS

^b RS – Estado do Rio Grande do Sul

3.1.2 – Para determinação cromossômica

As sementes de lupinos ocorrentes no Rio Grande do Sul, utilizados no presente trabalho, foram coletadas nos dias 15, 16 e 17 de janeiro de 2002 em viagem realizada para os Campos de Cima da Serra e Litoral Norte. Sementes de algumas espécies de *Lupinus* foram também enviadas pelo CENARGEN, através do professor José Francisco Montenegro Valls. Sementes do híbrido *Lupinus Russel* foram adquiridas na França e fornecidas pelo professor Miguel Dall' Agnol do DPFA. Sementes de *L. bracteolaris* foram coletadas dia 13 de dezembro de 2002, em Porto Alegre.

Acessos dos lupinos multifoliolados andinos, ocorrentes no oeste da América do Sul (Peru e Bolívia) e dos lupinos unifoliolados da América do Norte (Flórida) foram coletados nos anos de 2000 e 2001 e fornecidas pelo Dr. Colin Hughes.

As sementes dos lupinos analisados foram coletadas de uma planta-mãe, colocadas em sacos pequenos de papel e identificadas com o número do coletor, data e local de coleta. Vouchers das espécies sul-rio-grandenses e andinas estão depositados no Herbário do Departamento de Botânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (Herbário ICN) e no Herbário da Universidade de Oxford, respectivamente. As identificações taxonômicas das espécies do Rio Grande do Sul foram realizadas pela professora Silvia Terezinha S. Miotto e pela doutoranda Mardiore Pinheiro, do Departamento de Botânica da UFRGS.

No presente trabalho cada semente da planta-mãe de todos os lupinos analisados, representa um indivíduo.

A relação completa dos materiais utilizados para determinação cromossômica no presente trabalho estão na tabela 5.

3.2 - Métodos

3.2.1 - Coleta, fixação e estocagem das inflorescências.

Para análise da meiose e viabilidade do pólen, as inflorescências foram coletadas a campo, nos locais de ocorrência das espécies, no ano de 2002. As coletas foram realizadas por população, preferencialmente pela manhã e início da tarde.

TABELA 5 – Material utilizado (espécies, acessos, local de coleta) para determinação cromossômica.

Espécie	Identificação ^a	Local de Coleta
<i>Lupinus rubriflorus</i>	I. Conterato s/n-ICN 129995	Cambará do Sul/RS – Brasil
<i>Lupinus lanatus</i>	Valls et. al. 9525 –BRA 000710	Bagé/RS – Brasil
<i>Lupinus bracteolaris</i>	I. Conterato s/n-ICN 130222-	Porto Alegre/RS – Brasil
<i>Lupinus guaraniticus</i>	I. Conterato s/n-ICN 130223 I. Conterato s/n-ICN 129985	Cambará do Sul/RS – Brasil Jaquirana/RS – Brasil
<i>Lupinus paraguariensis</i>	Valls et al., 10688–BRA 002861	Cruz Alta/RS – Brasil
<i>Lupinus cumulicula</i>	CEH 1984 CEH 1985	Sebing/Flórida – Estados Unidos Polk/Flórida – Estados Unidos
<i>Lupinus villosus</i>	CEH 1986	Leon/Flórida – Estados Unidos
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 1989	Rio Blanco/ Lima – Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 1997	San Juan/Cajamarca - Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2001	Llacanova/Cajamarca – Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2002	Namora/Cajamarca – Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2012	Porcon Bajo/Cajamarca – Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2037	Porculla/Piura – Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2241	Huarapasca – Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2218	Calendin – Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2248	Pasco – Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2272	Independência – Bolívia
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2296	Cordilheira Tunari - Bolívia
<i>Lupinus</i> cf. <i>bandelierae</i>	CEH 2301 CEH 2321	Juntatuyo – Bolívia Copacabana – Bolívia
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2325	Isla Asa/Titicaca – Peru
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2332	Charazani – Bolívia
<i>Lupinus</i> Russel	-	França

^a CEH= Colin Hughes – Institut Plant Science – Oxford/Inglaterra
Valls et. al. = José Francisco Montenegro Valls – EMBRAPA – CENARGEN – Brasília/DF
I. Conterato = Ionara Fátima Conterato – UFRGS – Porto Alegre/RS.

Logo após, as inflorescências foram fixadas ainda no campo em solução 3:1 (etanol; ácido acético) e deixadas por 24 horas a temperatura ambiente, em seguida transferidas para álcool 70% e armazenadas em congelador para preparação posterior das lâminas.

3.2.2 - Preparação das lâminas

As lâminas foram preparadas com as flores retiradas das inflorescências. De cada flor eram retiradas as anteras sobre as quais era colocada o corante carmim propiônico 2%. Logo após, as anteras eram esmagadas na lâmina, cobertas com lamínula, pressionadas e batidas na extremidade com uma agulha histológica para tentar obter melhor espalhamento das células e dos cromossomos. Após confeccionadas, as lâminas eram seladas com luto (breu e cera na proporção 3:1), identificadas e imediatamente observadas ao microscópio, ou guardadas na geladeira em caixas especiais para análise no dia seguinte.

As lâminas preparadas para análise dos grãos de pólen e das tétrades eram analisadas preferencialmente no mesmo dia ou guardadas em caixas especiais na geladeira para serem analisadas no máximo em dois dias.

3.2.3 - Análise do comportamento meiótico

Os estudos de comportamento meiótico foram realizados em células mães de pólen. Em cada lâmina, todas as células em divisão foram observadas, com especial atenção para as associações cromossômicas em diacinese e metáfase I. A presença eventual de cromossomos em associações

quadrivalentes (IV), associações múltiplas e aderência cromossômica também foi registrada.

As células foram consideradas normais ou com comportamento regular quando apresentavam todos os cromossomos em associações bivalentes (II). Nas fases anáfase I, II e telófase I e II, observou-se sempre que possível a disjunção dos cromossomos e suas migrações para os pólos, registrando-se quaisquer irregularidades.

As análises foram realizadas diretamente em microscópio óptico, acoplado com câmera digital e com auxílio de um programa de captação de imagens (SDI – sistema digital de imagens), que ampliava consideravelmente as células. As células com melhor espalhamento dos cromossomos foram também observadas em fotomicroscópio Nikon e fotografadas com filme PX 125 ASA 100 em aumento de 10x40 ou 10x100 vezes.

3.2.4 - Análise das tétrades

Löve (1949) sugeriu a utilização do índice meiótico, como indicador da regularidade meiótica. No presente trabalho, o índice meiótico foi calculado de acordo com este autor, dividindo-se o número de tétrades normais pelo número total de tétrades observadas multiplicado por 100. As tétrades foram consideradas normais quando apresentavam os quatro micrósporos iguais, e anormais quando apresentavam número diferente de quatro ou então micrósporos de tamanhos diferentes. Foram analisadas 400 tétrades aleatoriamente a partir da análise de dois ou mais botões florais de diferentes racemos, e de acordo com o número de indivíduos do acesso.

3.2.5 - Estudo dos grãos de pólen

A viabilidade do pólen foi estimada de acordo com a capacidade de coloração com o corante carmim propiônico 2%. Os grãos foram considerados viáveis quando se apresentavam corados e com a exina bem destacada.

Foram contados 800 grãos aleatoriamente a partir da análise de três botões florais de diferentes racemos e de acordo com o número de indivíduos do acesso. Foram registrados os grãos viáveis (corados) e inviáveis (parcialmente viáveis ou totalmente vazios e incolores).

A estimativa da viabilidade do pólen foi obtida dividindo-se o número de grãos corados pelo total de grãos observados, multiplicados por 100.

3.2.6 - Análise dos dados

A análise do comportamento meiótico das espécies de *Lupinus* foi realizada através de comparações entre as configurações e disjunção cromossômicas observadas entre os diferentes acessos.

3.2.7 - Germinação das sementes

As sementes de *Lupinus* foram escarificadas manualmente com pinça e ou lixa e postas para germinar em placas de petri com papel filtro umedecidos com água destilada. As placas foram identificadas com o nome do acesso e do indivíduo, postas em BOD (demanda biológica de oxigênio) a 20-23 °C por dois ou três dias, ou, à temperatura ambiente nos dias mais quentes.

3.2.8 - Fixação

Quando as radículas atingiam em torno de 0,9-1,1 cm de comprimento eram transferidas para solução saturada de PDB (paradiclorobenzeno) por 18-20 horas a 4°C. Posteriormente, esta solução era substituída por fixador etanol-ácido acético (3:1), por 18-24 horas à temperatura ambiente e então transferidas para uma solução estoque (álcool 70%) e armazenadas em freezer para uso imediato ou posterior.

3.2.9 - Preparação das lâminas

As radículas eram retiradas do álcool 70%, lavadas em água destilada, hidrolisadas a 60°C por 20 minutos em HCL 1N , em seguida lavadas em água destilada e postas no Feulgen por 3-4 horas para coloração. Posteriormente, as radículas eram transferidas para as lâminas, esmagadas sobre carmim propiônico e as lamínulas seladas com luto (breu e cera de abelha na proporção 3:1) e analisadas.

3.2.10 - Análise do material

As lâminas foram analisadas diretamente em microscópio óptico acoplado com câmera digital e com auxílio do SDI (programa de captação de imagem) que ampliava consideravelmente as células e cromossomos. No mínimo 10 células, com bom espalhamento dos cromossomos, foram analisadas para cada indivíduo.

Algumas lâminas foram analisadas em fotomicroscópio Nikon, com aumento de 10x40 e 10x100. As melhores células foram fotografadas com filme PX 125 – ASA 100 em aumento de 10x40 e 10x100.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos a partir dos estudos citogenéticos básicos realizados com espécies de *Lupinus* são apresentados nos seguintes tópicos: análise do comportamento meiótico, índice meiótico, viabilidade do pólen e número cromossômico. Nos apêndices um, dois e três encontram-se as análises detalhadas.

4.1 - Análise do comportamento meiótico

A análise do comportamento meiótico em *Lupinus* foi dificultada em certo grau pelo pequeno tamanho e freqüente sobreposição dos cromossomos e pela rapidez com que o processo meiótico ocorre nestas espécies (Atkins et al., 1998). Cabe salientar ainda que a viagem de coleta foi realizada no início de novembro de 2002. Nesta data, o estágio de desenvolvimento das inflorescências (em sua maioria) não era adequado para análise meiótica, e apenas os botões florais próximos ao ápice dos racemos apresentavam-se adequados para o estudo, como consequência, em um número relativamente reduzido de células foi possível a visualização e análise cromossômica.

As análises de pareamento dos cromossomos foram realizadas em diacinese e metáfase I pela maior facilidade de visualização dos cromossomos e das associações por estes apresentados. Devido ao bom espalhamento dos

cromossomos em algumas células da anáfase I foi possível a sua contagem, bem como a verificação da disjunção cromossômica. Outras fases da meiose como metáfase II e anáfase II foram registradas somente para melhor documentar toda a divisão meiótica (tabela 6).

Em algumas células, na diacinese ou metáfase I de *L. guaraniticus* 2125, era evidente a presença de associações múltiplas, mas tornava-se difícil identificar quantos cromossomos estavam associados e qual a configuração apresentada por eles.

TABELA 6 – Análise do comportamento meiótico em espécies e acessos de *Lupinus*.

Espécie	Acesso	2n	Numero indivíduos	Meiose I	Segregação Anáfase I	Outras		Total células
				Associação Diacinese e Metafase I		Metáfase II	Anafase II	
<i>L. bracteolaris</i>	128464	34	2	17 II (32)	17-17 (23)	Normal (4)	Normal (5)	64
<i>L. lanatus</i>	2110	36	3	18 II (45)	-	-	-	45
	2119	36	3	18 II (38)	-	-	-	38
<i>L. multiflorus</i>	2122	36	5	18 II (49)	18-18 (4)	Normal (8)	-	61
<i>Lupinus</i> sp.	2098	36	2	18 II (26) + 1 IV (2)	18-18 (1)	-	-	29
	2099	36	3	18 II (4)	-	-	-	4
	2105	36	3	18 II (20)	18-18 (6)	Normal (6)	-	32
	2113	36	3	18 II (8)	18-18 (10)	Normal (6)	-	24
	2126	36	3	18 II (20)	18-18 (2)	-	-	22
	2131	36	1	18 II (9)	18-18 (12)	Normal (6)	-	21
<i>L. guaraniticus</i>	2107	36	1	18 II (15)	-	-	-	15
	2125	36	3	18 II (55) + 1-2 IV (8) + M (7) + A (4)	18-18 (10)	Normal (7)	-	74
<i>L. rubriflorus</i>	2114	36	2	18 II (7)	18-18 (17)	Normal (4)	Normal (3)	31
	2104	36	2	18 II (18)	-	-	-	18
	2139	36	3	18 II (13)	18-18 (24)	Normal (6)	-	43
	2117	36	3	18 II (14)	18-18 (7)	Normal (7)	Normal (1)	29
	2123	36	3	18 II (32)	18-18 (8)	Normal (7)	-	47
<i>L. paranensis</i>	129986	36	1	18 II (5)	18-18 (5)	Normal (2)	-	12

Associações cromossômicas em Diacinese e Metafase I: II Bivalentes, IV Quadivalentes, M Associações múltiplas não identificadas, A aderências. Número de células entre parênteses

Lupinus bracteolaris, acesso 128464, apresentou comportamento meiótico altamente regular com a formação exclusiva de 17 bivalentes (II) em diacinese ou metáfase I e disjunção normal dos cromossomos em anáfase I.

Análises realizadas em dois acessos de *L. lanatus* (2110 e 2119) e em um acesso de *L. multiflorus* (2122) indicam que estas espécies apresentam comportamento meiótico regular com a formação exclusiva de 18 bivalentes em diacinese ou metáfase I.

Para *Lupinus* sp. acessos 2098, 2099, 2105, 2113, 2126 e 2131, verificou-se a preferencial formação de 18 bivalentes, conforme observado nas figuras 9 e 10, mas uma pequena presença de associações secundárias do tipo quadrivalentes (IV) foi observada em 7,15% das células em diacinese ou metáfase I no acesso 2098.

O comportamento meiótico em *L. rubriflorus* foi estudado nos acessos 2104, 2114, 2117, 2123 e 2139. As análises revelaram a presença exclusiva de 18 bivalentes em todas as células em diacinese ou metáfase I.

Embora poucas células de *L. paranensis*, acesso 129986, estivessem em fases adequadas para análise do comportamento meiótico, foi evidenciada a presença de 18 bivalentes em cinco células da metáfase I e segregação normal dos cromossomos em anáfase I, sugerindo regularidade meiótica para a espécie.

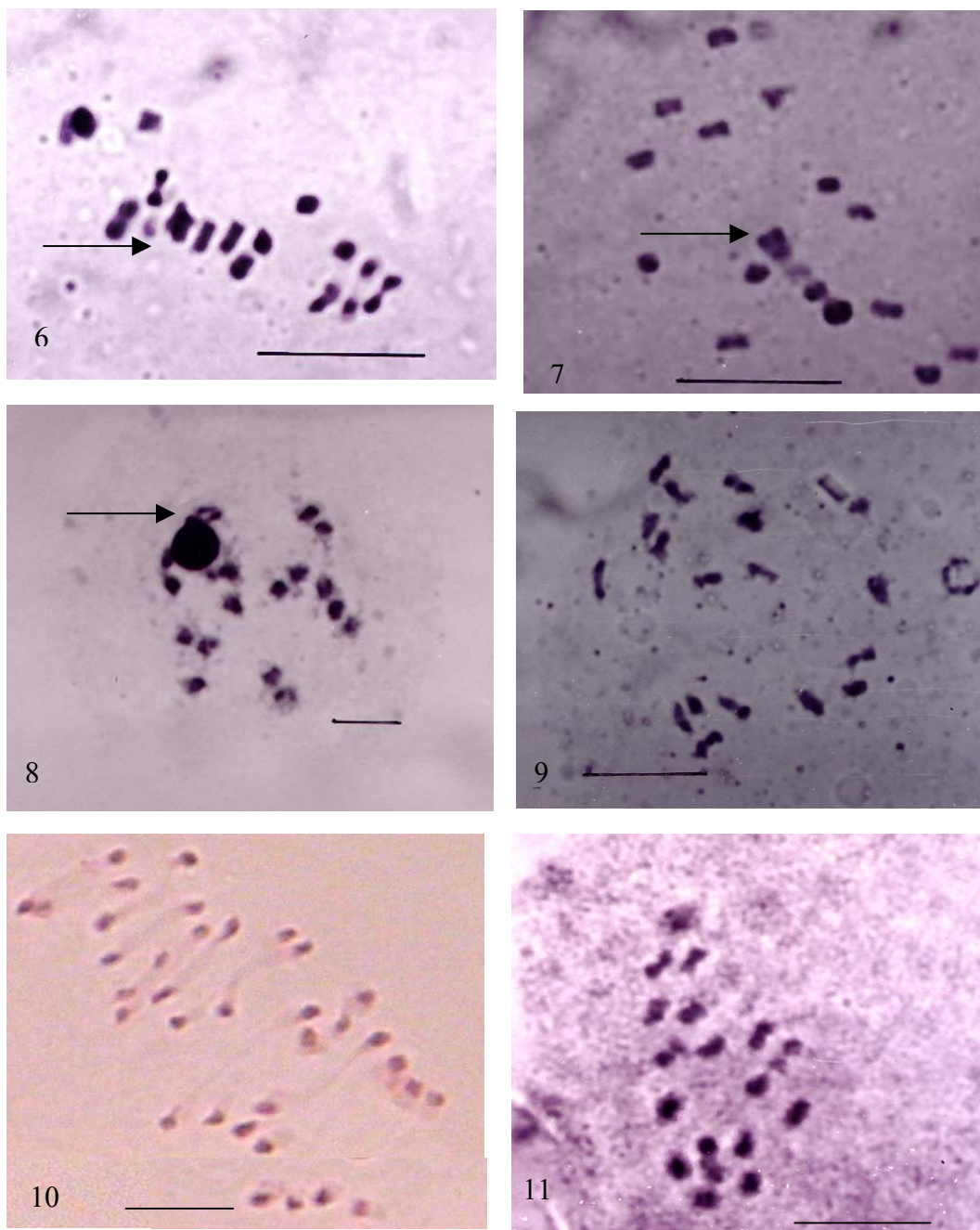
Os acessos 2107 e 2125 de *Lupinus guaraniticus* foram estudados. No primeiro acesso, a meiose pode ser considerada normal pois em todas as 15 células analisadas foi verificada a formação de 18 bivalentes. O acesso 2125 também apresentou preferencial formação de 18 bivalentes em 84,61%

das células, mas a presença de um ou dois quadrivalentes foi observada em 15,38% das células em diacinese ou metáfase I. A presença de associações múltiplas não identificadas e aderência cromossômica também foi verificada em algumas células deste acesso.

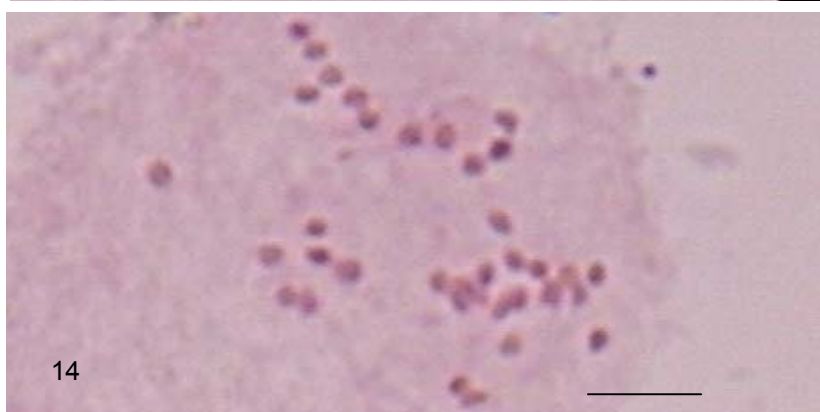
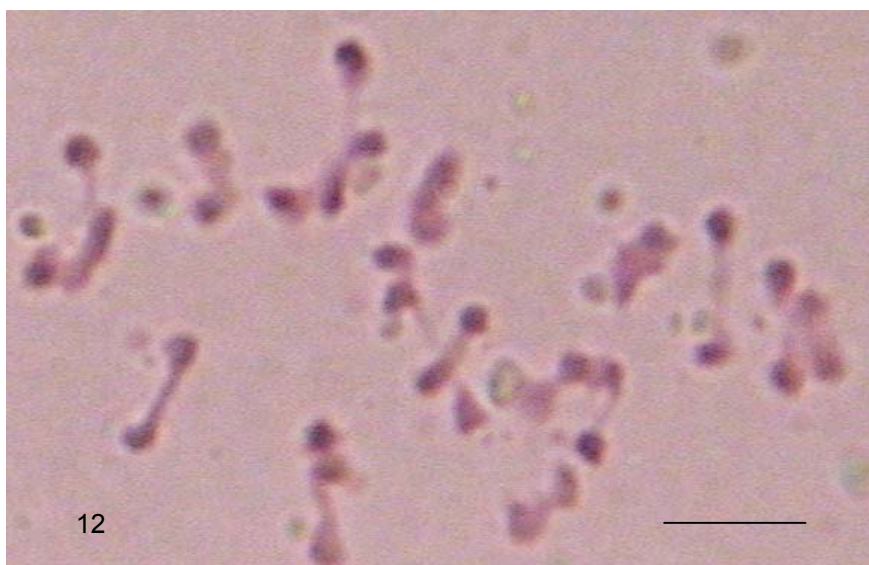
As figuras 6 a 14 evidenciam o comportamento meiótico apresentado por espécies de *Lupinus* do Rio Grande do Sul.

Segundo Stebbins (1971), a ocorrência de quadrivalentes na meiose pode ser explicada pela heterozigotidade devido às translocações cromossômicas ou pode refletir homologia entre os cromossomos devido à origem poliplóide. Por exemplo, a frequência maior que a esperada de quadrivalentes observada por Boff & Schifino-Wittmann (2003) em espécies de *Leucaena* permitiu às autoras sugerir uma origem paleopoliplóide para as espécies diplóides e nas espécies tetraplóides a presença de quadrivalentes reflete homologia cromossômica devido à origem poliplóide.

Em *Lupinus*, o caráter de poliploidia antiga é manifestado pelo bem estabelecido comportamento genético diplóide (“diploidização cromossômica”), especialmente para as espécies ocorrentes no Velho Mundo (Wolko & Weeden, 1989; Gupta et al., 1996). Como postulado por alguns autores (Soltis & Soltis, 1999; Comai 2000; Wendel, 2000; Widén & Widén, 2000; Rieseberg, 2001), há um acúmulo de evidências sugerindo que após o evento de poliploidização, várias alterações ocorram no genoma induzindo à diploidização gênica (herança dissômica é total ou parcialmente restaurada) e cromossômica



FIGURAS 6-11 – Células meiótica de *Lupinus*: 6) Metáfase I em *L. guaraniticus* 2125 com quadrivalente (seta), 7) Metáfase I em *L. guaraniticus* 2125 com quadrivalente (seta), 8) Metáfase I de *Lupinus* sp. 2098 com quadrivalente (seta), 9) Metáfase em vista polar em *Lupinus* sp. 2131 (n=18), 10) Anáfase em *L. lanatus* 2119, 11) Diacinese em *L. bracteolaris* 128464 (n=17). Escala 10 μ m.



FIGURAS 12–14 - Células meióticas em *Lupinus*: 12) Metáfase I em *L. paranensis* 129986 (n=18), 13) Diacinese em *L. rubriflorus* 2123 (n=18), 14) Anáfase em *L. rubriflorus* 2139. Escala 10 μm .

(regularização do pareamento em bivalentes), incluindo ação de transposons, silenciamento gênico, deleção de seqüências de DNA, facilitando a evolução dos poliplóides.

A baixa freqüência de quadrivalentes observada nos acessos e espécies de lupinos do Rio Grande do Sul, aliadas ao tamanho do gênero e à escassez de dados citológicos para as espécies multifolioladas andinas e unifolioladas brasileiras impede uma discussão mais conclusiva sobre o papel da poliploidia na evolução dos *Lupinus* sul-americanos.

Estudos visando análise do comportamento meiótico em *Lupinus* foram conduzidos em algumas espécies de interesse econômico. Pazy et al. (1977), analisaram o comportamento meiótico de espécies de *Lupinus* ocorrentes no Velho Mundo e verificaram a regularidade meiótica em *L. albus*, *L. angustifolius*, *L. luteus*, *L. micranthus*, porém em três populações de *L. palestinus* foi verificada a presença de associações secundárias do tipo quadrivalentes, contudo, fases posteriores mostraram-se normais.

Carstairs et al. (1992), verificaram a formação de 19 bivalentes durante a metáfase I da meiose em todas as plantas analisadas de *L. princei* e *L. atlanticus* e 18 bivalentes na metáfase I de todas as quatro plantas examinadas de *L. digitatus*. Nestas espécies, nenhum multivalente foi observado dentre todas as células analisadas e a anáfase I mostrou-se regular.

A regularidade do comportamento meiótico tem sido também evidenciada em trabalhos com outras leguminosas nativas. Coelho & Battistin (1998), analisaram o comportamento meiótico em sete espécies de *Adesmia* DC. e verificaram que a meiose foi regular, com a formação de dez bivalentes

nas espécies diplóides e 20 bivalentes nas tetraplóides em diacinese e metáfase I e disjunção normal na anáfase I e telófase II. Schifino-Wittmann et al. (1994), verificaram que a meiose foi essencialmente regular em espécies de *Vicia* L. e *Lathyrus* L. com a formação exclusiva de sete bivalentes e disjunção cromossômica regular na anáfase.

Tedesco et al. (2002), verificaram comportamento meiótico essencialmente regular na maioria dos acessos das 17 espécies de *Adesmia* DC. analisadas, com dez bivalentes na diacinese e metáfase I e segregação cromossômica normal na anáfase e telófase I e II. Em *Dahlstedtia pinnata* (Benth.) Malme e *D. pentaphylla* (Taubt.) Burk. a análise das fases meióticas revelou não haver problemas de disjunção cromossômica e ambas apresentaram 11 bivalentes na metáfase I (Teixeira et al., 2002).

Os estudos sobre comportamento meiótico em espécies de *Lupinus* do Rio Grande do Sul, demonstraram meiose regular com preferencial formação de bivalentes e segregação normal dos cromossomos em todas as espécies analisadas, permitindo sugerir que estas estejam bem adaptadas em seus ambientes.

4.2 - Índice meiótico

Na tabela 7 são apresentados os resultados obtidos em 22 acessos de seis espécies de *Lupinus* do Rio Grande do Sul, para o estudo das tétrades.

Todos os acessos analisados apresentaram índice meiótico acima de 90%, apresentando tétrades com quatro micrósporos normais, conforme figuras 15 e 16. A presença de díades e tríades foi observada em baixa

freqüência, entre 0,40 e 4,48 % nos acessos analisados. A presença de díades entre os quartetos normais é um bom indicativo da formação de gametas não reduzidos quando a meiose mostra-se regular (Bretagnolle & Thompson, 1995).

Em *L. guaraniticus*, acessos 2107 e 2125, foram evidenciadas algumas políades e os menores índices meióticos dentre todas as espécies analisadas, 95,25 e 96,70% respectivamente.

TABELA 7 – Índice meiótico em espécies e acessos de *Lupinus*

Espécie	Acesso	Número indivíduos	Tétrades	Triades + Díades	Políades	Índice Meiótico
<i>L. bracteolaris</i>	128464	2	839	10	-	98,80
<i>L. lanatus</i>	2110	3	1246	11	-	99,12
	2119	3	1261	16	-	99,13
<i>L. multiflorus</i>	2122	5	2153	15	-	99,30
<i>Lupinus</i> sp.	2098	2	997	8	-	99,20
	2099	3	1207	15	-	98,93
	2105	3	1201	10	-	99,17
	2113	3	1199	10	-	99,17
	2126	3	1257	9	-	99,28
	2131	1	865	7	-	99,03
<i>L. guaraniticus</i>	2107	1	401	18	-	95,52
	2109	2	800	14	-	98,25
	2111	2	790	11	-	97,41
	2125	3	1175	38	2	96,70
<i>L. rubriflorus</i>	2117	3	1214	9	-	99,60
	2123	3	1212	11	-	99,10
	2114	2	801	4	-	99,60
	2139	3	1206	6	-	99,50
	2104	2	802	10	-	98,76
	2136	2	810	13	-	98,42
	2108	2	844	4	-	99,52
	2102	1	-	-	-	-
<i>L. paranensis</i>	129986	1	400	7	-	98,28

Valores de índice meiótico acima de 90% em *Lupinus* são semelhantes aos encontrados em outras leguminosas: em torno de 97% em *Vigna* L., 100% em *Arachis pintoii* Krap. & W. C. Gragory, próximo a 99% em *Desmodium* Desv. (Senf et al., 1995), acima de 90% em *Adesmia* DC. (Tedesco et al., 2002) e próximo a 90% em *Dahlstedtia pentaphylla* (Taubt.) Burk. (Teixeira et al., 2002). Estes índices meióticos elevados são indicativo de que estas plantas são meioticamente estáveis e seu uso em cruzamentos provavelmente não apresentará problemas (Löve, 1949).

4.3 - Viabilidade do pólen

O estudo dos grãos de pólen traz subsídios para avaliar o potencial de fertilidade masculina de indivíduos e populações, podendo ainda contribuir para estudos taxonômicos e de melhoramento de plantas.

Na tabela 8 são apresentados os resultados obtidos em seis espécies e 22 acessos de *Lupinus* do Rio Grande do Sul quanto à viabilidade dos grãos de pólen.

Nesta análise, os grãos foram classificados em viáveis, quando estavam completamente corados, e inviáveis, quando estavam parcialmente corados ou vazios conforme apresentado nas figuras 17, 18, 19, 20.

TABELA 8 - Estimativa da viabilidade do pólen em espécies e acessos de *Lupinus*.

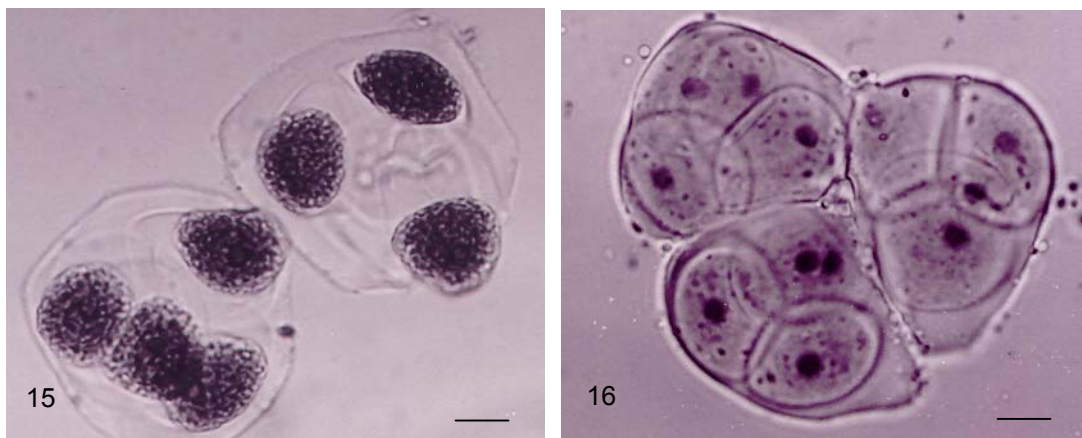
Espécie	Acesso	Nº indivíduos	Pólen viáveis	%	Pólen inviáveis	%	Total de grãos de pólen
<i>L. bracteolaris</i>	128464	2	1607	97,34	45	3,64	1650
<i>L. lanatus</i>	2110	3	2423	96,22	95	3,78	2518
	2119	3	2388	95,10	123	4,90	2511
<i>L. multiflorus</i>	2122	5	4016	97,25	115	2,79	4131
<i>Lupinus</i> sp.	2098	2	2449	97,30	68	2,70	2517
	2099	3	2407	97,84	53	2,16	2460
	2105	3	2602	98,29	45	1,71	2647
	2113	3	2411	97,51	63	2,49	2474
	2126	3	2416	97,77	55	2,33	2471
	2131	1	796	98,72	11	1,28	807
<i>L. guaraniticus</i>	2107	1	790	94,95	42	5,45	832
	2109	2	1153	94,63	88	3,37	1641
	2111	2	1519	94,70	85	5,30	1604
	2125	3	2302	95,13	118	4,87	2920
<i>L. rubriflorus</i>	2117	3	2360	97,30	64	2,70	2424
	2123	3	2476	97,27	70	2,73	2546
	2114	2	1606	97,08	48	2,92	1654
	2139	3	2400	97,36	65	2,64	2465
	2104	1	796	99,00	8	1,00	804
	2136	2	1562	96,48	57	3,52	1619
	2108	2	1590	97,46	42	2,54	1632
	2102	1	794	98,51	12	1,49	806
<i>L. paranensis</i>	129986	1	788	98,25	14	1,75	802

A elevada frequência de grãos de pólen viáveis, acima de 90% foi a regra para todos os acessos analisados, sendo que *L. rubriflorus* 2104 apresentou a maior porcentagem de grãos viáveis (99,1%). Estes valores são semelhantes àqueles encontrados por Pazy et al. (1977), para *L. palestinus* (96%), *L. pilosus* (93,6%) e por Carstairs et al. (1992), para *L. princeii* (98,6%),

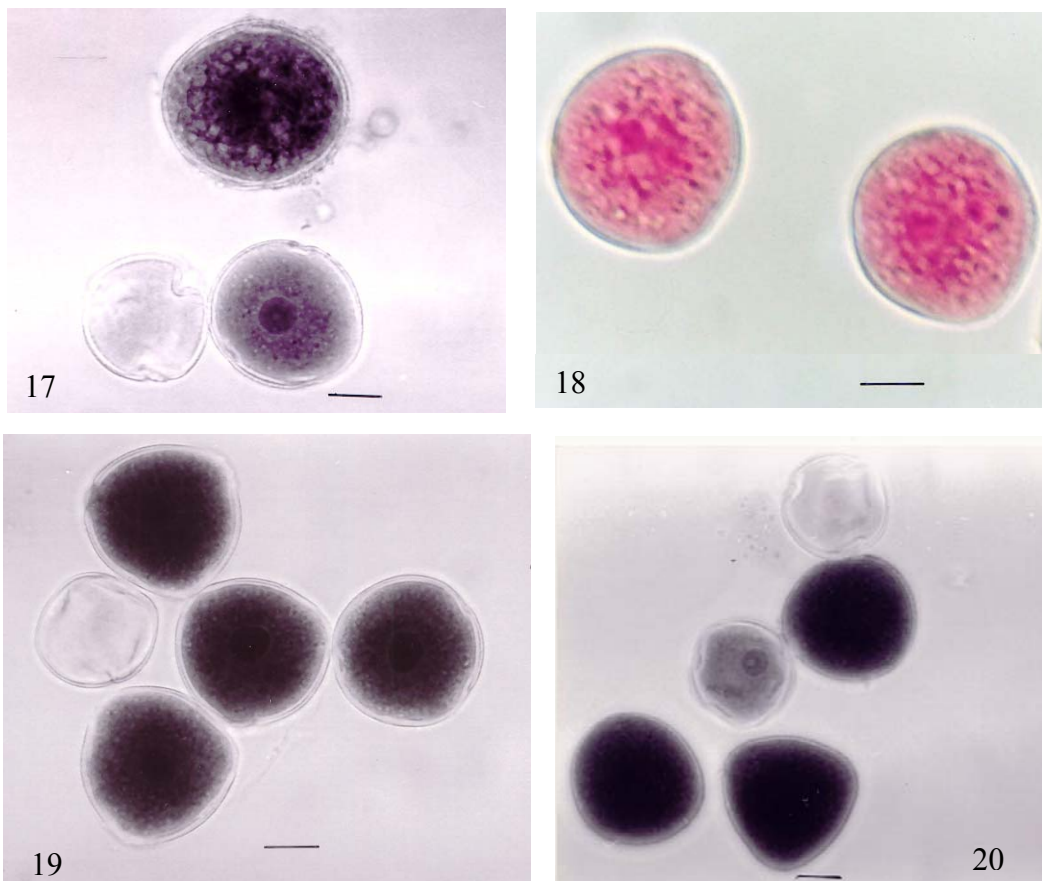
L. atlanticus (98%) e *L. digitatus* (92,4%) para algumas das espécies do Velho Mundo.

Embora *L. guaraniticus* 2125 tenha apresentado algumas irregularidades meióticas como a formação de quadrivalentes e associações múltiplas não identificadas, os grãos de pólen apresentaram-se 95 % viáveis, demonstrando que estas irregularidades tiveram pouca influência na fertilidade final masculina. Na análise do comportamento meiótico, fases posteriores à diacinese e metáfase I mostraram-se também normais.

O alto percentual de grãos de pólen viáveis encontrados nas populações naturais de *Lupinus* é compatível com os estudos prévios que mostram meiose regular e índice meiótico acima de 90% nestas mesmas populações, garantindo desta forma a manutenção das sucessivas gerações através da produção de sementes.



FIGURAS 15–16 - Tétrades em *Lupinus*: 15) Tétrade e tríade em *L. rubriflorus* 2139, 16) Tétrades em *L. lanatus* 2119. Escala 10 μ m.



FIGURAS 17-20 - Grãos de pólen em espécies de *Lupinus*: 17) *L. lanatus* 2110 (viável e inviável), 18) *L. rubriflorus* 2114 (viável), 19) *L. guaraniticus* 2109 (viável e inviável), 20) *L. bracteolaris* 128464 (viável e inviável). Escala 10 μ m.

4.4 - Número cromossômico

Os números cromossômicos obtidos em seis espécies e 13 acessos de *Lupinus* sp., ocorrentes na América do Sul, e em duas espécies e um híbrido da América do Norte, totalizando 77 indivíduos e 1138 células estão apresentados na tabela 9. No apêndice um encontra-se o número de células observadas em cada indivíduo.

O número cromossômico observado nas espécies de *Lupinus* será apresentado e discutido separadamente para as espécies sul-americanas e norte-americanas.

Tabela 9- Espécies e acessos de *Lupinus* analisados para determinação cromossômica.

Espécies	Acesso ^a	Nº indivíd.	Nº células	2n
Sul-americanas				
<i>L. rubriflorus</i>	I. Conterato-s/n ICN 129995	3	32	36
<i>L. bracteolaris</i>	I. Conterato-s/n ICN 130222	4	58	34
<i>L. guaraniticus</i>	I. Conterato-s/n ICN 130223	4	101	36
<i>L. guaraniticus</i>	I. Conterato-s/n ICN 129985	8	82	36
<i>L. lanatus</i>	Valls et al., 9525 – BRA 000710	3	36	36
<i>Lupinus paraguariensis</i>	Valls et al., 002861 – BRA 10689	2	22	36
<i>Lupinus</i> cf. <i>bandelierae</i>	CEH 2301	3	80	36
<i>Lupinus</i> cf. <i>bandelierae</i>	CEH 2321	3	20	36
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 1997	1	12	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 1989	2	70	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2001	5	48	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2002	2	18	48

TABELA 9 – Continuação

Espécies	Acesso	Nº individ.	Nº células	2n
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2012	3	35	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2037	3	56	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2241	3	28	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2218	2	43	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2248	1	21	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2272	1	8	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2296	1	10	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2325	4	51	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2332	3	42	48
<hr/> Norte-americanas <hr/>				
<i>L. cumulicula</i>	CEH 1984	4	63	52
<i>L. cumulicula</i>	CEH 1985	1	3	52
<i>L. villosus</i>	CEH 1986	3	19	52
<hr/> Cultivada <hr/>				
Lupinus Russel	-	8	180	48

^a CEH= Colin Hughes – Institut Plant Science – Oxford/Inglaterra
Valls et al., = José Francisco Montenegro Valls – EMBRAPA – CENARGEN – Brasília/DF
I. Conterato = Ionara Fátima Conterato – UFRGS – Porto Alegre/RS.

4.4.1 - Número cromossômico para espécies sul-americanas de

Lupinus

O número cromossômico encontrado para as espécies de lupinos multifoliolados ocorrentes no Rio Grande do Sul foram: 2n = 36 para *L. lanatus*,

L. paraguariensis, *L. rubriflorus* (figuras 21, 22, 23) e $2n = 34$ em *L. bracteolaris*. O número cromossômico encontrado pela primeira vez aqui para *Lupinus paraguariensis* coincide com os resultados apresentados por Maciel & Schifino-Wittmann (2002), para outras espécies de lupinos ocorrentes no Rio Grande do Sul.

Planchuelo-Ravello (1984), cita *L. paraguariensis* como sendo o único táxon conhecido dentro do gênero que possui a combinação de folhas digitadas e simples na base e também a primeira folha de cada ramo lateral no mesmo indivíduo, apresentando uma condição intermediária para as espécies multifolioladas do nordeste da Argentina e vinculado ao grupo de folhas simples, por Planchuelo & Dunn (1984). Na revisão taxonômica dos lupinos unifoliolados brasileiros, Monteiro & Gibbs (1986), reconheceram 13 espécies, porém *L. paraguariensis* não é citado como pertencente a este grupo.

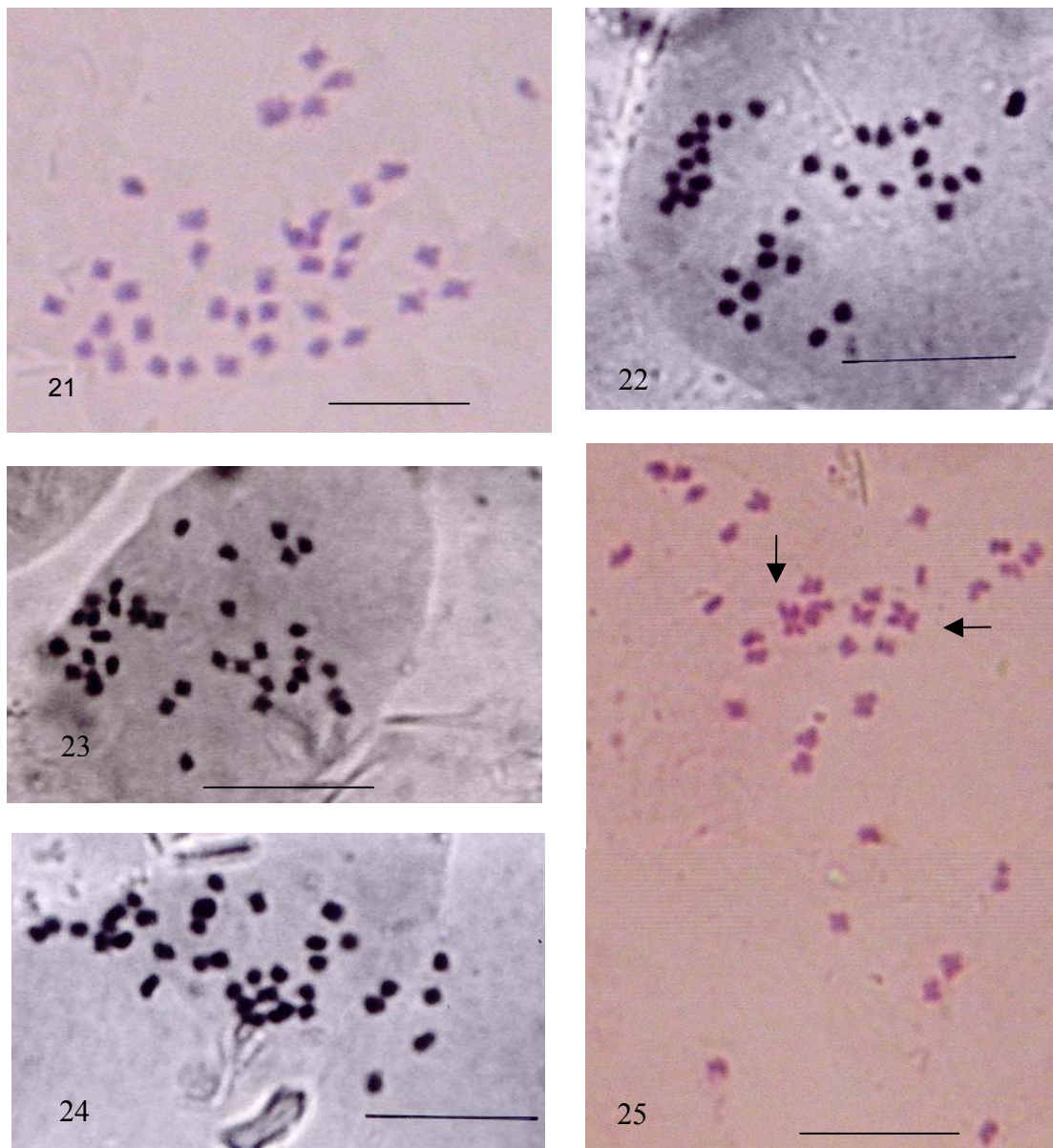
Em dados moleculares de Aïnouche & Bayer (1999), *L. paraguariensis*, *L. multiflorus*, *L. bracteolaris* da América do Sul e *L. texensis* da América do Norte estão inseridos no mesmo clado, permitindo aos autores sugerirem que estes táxons, além de *L. subcarnosus* e o complexo *L. gibertianus-L. bracteolaris* poderiam ser parte da mesma linhagem.

Para *L. lanatus* e *L. rubriflorus* foi confirmado o número cromossômico $2n = 36$. Para *L. bracteolaris* todos os indivíduos analisados apresentaram $2n = 34$ cromossomos. Estes resultados coincidem com os apresentados por Maciel & Schifino-Wittmann (2002), que verificaram também variabilidade intraespecífica de $2n = 32$ ou $2n = 34$ cromossomos. para esta espécie.

Número cromossômico básico $x = 6$ é proposto por Dunn (1984) e Gladstones (1998), para os lupinos americanos e, $2n = 32$ e $2n = 34$ são possivelmente derivados de $2n = 6x = 36$ por disploidia, visto ocorrer apenas nas populações anuais as quais são normalmente consideradas como sendo mais avançadas em um dado gênero (Maciel & Schifino-Wittmann, 2002). Uma provável explicação para esta disploidia em *Lupinus* poderia ser através da eliminação de cromossomos sem genes importantes, como foi proposto por Mercado-Ruaro & Delgado-Salinas (1998) para algumas espécies de *Phaseolus*.

Para *L. guaraniticus*, única espécie unifoliolada ocorrente no Rio Grande do Sul, não há determinação cromossômica disponível na literatura, de modo que $2n = 36$ cromossomos obtido nos acessos 129985 e 130223 (figuras 24 e 25) é inédito para este táxon, e corresponde ao número apresentado para outros táxons de *Lupinus* do Estado. Nesta espécie, foi verificada a presença de um par de cromossomos que se destacava dos demais pelo tamanho apresentado (figura 25) e que, talvez, poderia ser utilizado como “marcador” para a espécie.

Os cromossomos de *L. lanatus*, *L. bracteolaris*, *Lupinus paraguariensis*, *L. rubriflorus* e *L. guaraniticus* variaram em média de 0,9 - 1,36 μm ; 1,25 μm ; 0,83 - 1,0 μm ; 1,25 - 1,45 μm ; 0,90 - 1,80 μm , respectivamente. Devido ao pequeno tamanho dos cromossomos, o comprimento dos braços e a identificação do centrômero, nestas espécies, foi dificultada.



FIGURAS 21-25 – Metáfases mitóticas em *Lupinus* do Rio Grande do Sul: 21) *L. lanatus* 9525 ($2n = 36$), 22) *L. paraguariensis* 002861 ($2n = 36$), 23) *L. rubriflorus* 129995 ($2n = 36$), 24) *L. guaraniticus* 129985 ($2n = 36$), 25) *L. guaraniticus* 130223 ($2n = 36$), (setas indicam cromossomos maiores). Escala 10 μm

Estas observações estão de acordo com as de Carstairs et al. (1992), que verificaram não ser possível distinguir o comprimento dos braços cromossômicos em espécies de *Lupinus* do Velho Mundo, exceto no caso de *L. cosentinii*, *L. digitatus* e *L. atlanticus*.

Os cromossomos de *L. princei* são os maiores entre as espécies estudadas do Velho Mundo variando entre 1,77-4,4 μ m, e sendo, portanto, 1,5 a 1,65 vezes maiores que os de *L. atlanticus* (0,97-3,02 μ m) e *L. digitatus* (1,16-2,9 μ m). Nestas espécies os centrômeros estão localizados na região mediana e submediana dos cromossomos mitóticos e um grande par em cada espécie contém uma proeminente constrição secundária (região organizadora nucleolar).

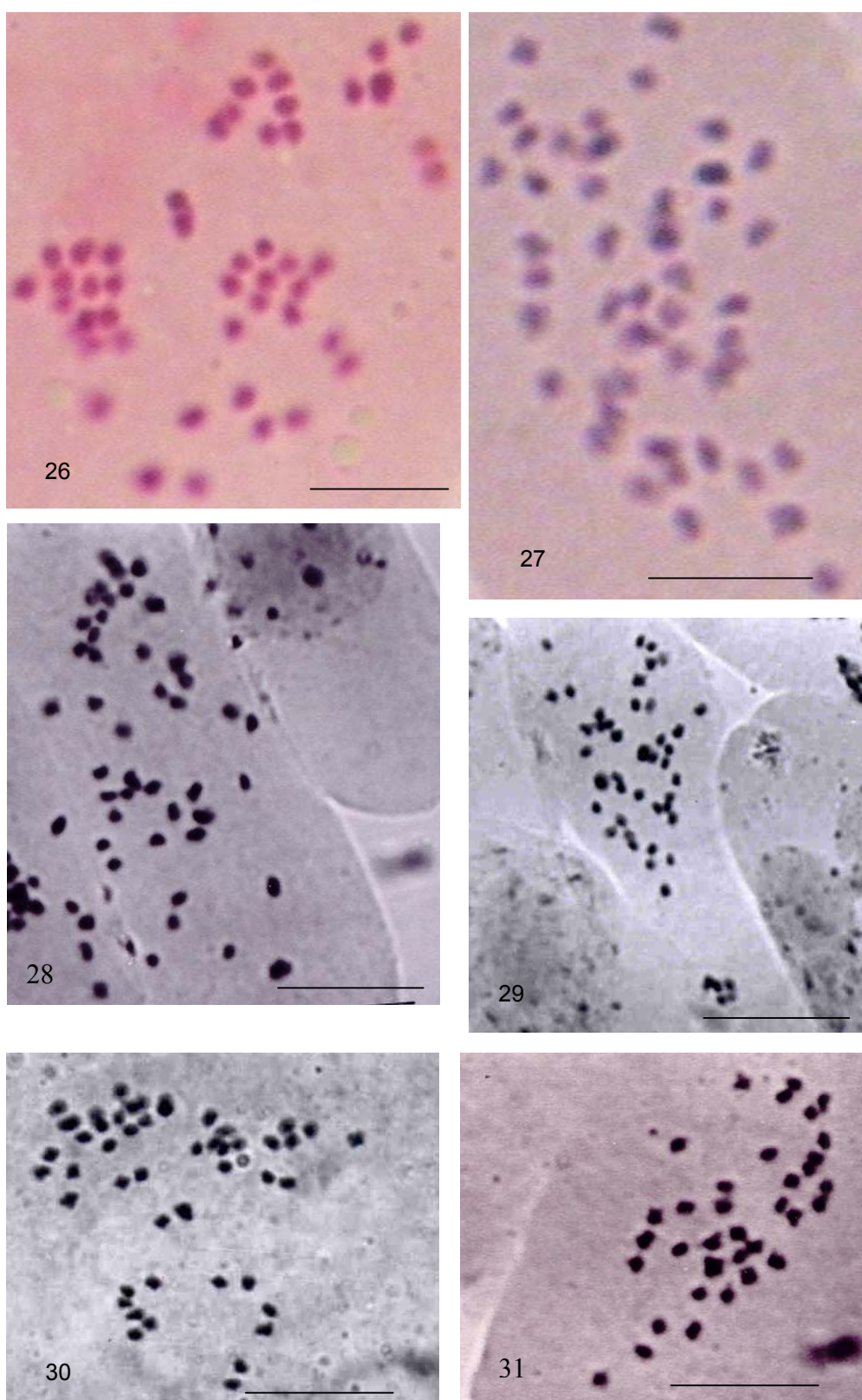
Pazy et al. (1977), determinaram 3 μ m para o comprimento dos cromossomos de *L. cosentinii*, podendo ser comparáveis àqueles de *L. atlanticus* e *L. digitatus* (Carstairs et al., 1992).

Reunindo os dados da literatura com os obtidos neste estudo, dispõe-se de relatos de número cromossômico para 12 das 13 espécies de *Lupinus* ocorrentes no Rio Grande do Sul, exceto para *L. albescens* e verifica-se uma relativa uniformidade cromossômica de $2n = 36$ em dez espécies, exceto $2n = 32$ e $2n = 34$ para *L. linearis* e *L. bracteolaris*, respectivamente, reforçando a sugestão de Käss & Wink (1997), Aïnouche & Bayer (1999) e Maciel & Schifino-Wittmann (2002), de que os lupinos do leste da América do Sul também formam um grupo citologicamente diferenciado. No entanto, mais análises citológicas nesta subunidade geográfica, principalmente para os lupinos unifoliolados brasileiros são necessárias para solidificar esta sugestão.

Com relação aos lupinos multifoliolados andinos (oeste da América do Sul), está em desenvolvimento um amplo projeto de revisão taxonômica para estes táxons coordenado por Colin Hughes, da Universidade de Oxford. As sementes enviadas ao Laboratório de Citogenética para determinação cromossômica, embora pertencentes a espécimes descritos como morfologicamente diferentes pelo coletor, a categoria taxonômica permanece indefinida, de modo que neste trabalho, todos os acessos andinos analisados serão tratados como *Lupinus* sp., exceto para *Lupinus* cf. *bandelierae*.

Números cromossômicos apresentados aqui para 13 acessos de *Lupinus* sp multifoliolados andinos são provavelmente inéditos, visto que com base em dados de literatura disponível, não há determinações cromossômicas para as espécies ocorrentes nesta subunidade geográfica, exceto $2n=48$ para a espécie cultivada *L. mutabilis*.

Em todos os acessos examinados de *Lupinus* sp. do Peru: CEH 1997, 2241, 2248, 2002, 2325, 2218, 2037, 2012, 1989 e 2001 e em três oriundos da Bolívia: CEH 2296, 2272 e 2332 foi verificado número cromossômico constante $2n = 48$ (figuras 26-30). Dois acessos oriundos da Bolívia, CEH 2301 e 2321, ambos pertencentes à espécie *Lupinus* cf. *bandelierae*, apresentaram um notável resultado de $2n = 36$, diferindo dos demais acessos analisados (figura 31).



FIGURAS 26–31 – Metáfases mitóticas em lupinos andinos: 26) CEH 2001 ($2n = 48$), 27) CEH 2218 ($2n = 48$), 28) CEH 2272 ($2n = 48$), 29) CEH 2037 ($2n = 48$), 30) CEH 2002 ($2n = 48$), 31) *Lupinus* cf. *bandelierae* CEH 2301 ($2n = 36$). Escala 10µm.

Uma explicação do ponto de vista do número cromossômico para a ocorrência de *Lupinus* cf. *bandelierae* ($2n = 36$) na região andina onde predomina $2n = 48$ é meramente especulativa. No entanto, se forem feitas novas revisões para a ocorrência deste táxon e verificada sua presença no norte da Argentina e Paraguai, poder-se-ia sugerir que este pertença ao grupo de espécies do leste da América do Sul (maioria com $2n = 36$) e por via antrópica poderia ter chegado até a Bolívia.

De acordo com Dunn (1984), o complexo *L. gibertianus* representa um grupo de lupinos anuais, que ocorre do norte da Argentina ao sudeste do Brasil e parece ser derivado do complexo perene-bienal da Bolívia e leste do Brasil, dos quais *L. bandelierae* e *L. paranensis* são representantes, sendo também relacionados à *L. texensis* e *L. subcarnosus* da América do Norte. Contudo não havia, até meados dos anos 80, determinação cromossômica para estas espécies, exceto para as duas últimas ($2n = 36$). Recentemente, Maciel & Schifino-Wittmann (2002), encontraram $2n = 36$ em *L. gibertianus* e a presente autora encontrou $n = 18$ em *L. paranensis* e $2n = 36$ em *Lupinus* cf. *bandelierae* da Bolívia. Esta homogeneidade cromossômica agora conhecida está de acordo com a similaridade morfológica apresentada por estes táxons (Dunn, 1984).

A relativa uniformidade do número cromossômico $2n = 48$, presente em 13 dos 15 acessos de lupinos andinos não, é compartilhada por espécies do Velho Mundo e do leste da América do Sul, e não é um bom caráter para resolução taxonômica ao nível de espécie. Embora poucos registros em anos recentes foram publicados sobre número cromossômico por outros autores, e

os registros no presente estudo são ainda limitados em número, evidencia-se um forte indicativo de que os lupinos andinos formam citotaxonomicamente um distinto grupo de espécies dentro do gênero, semelhante aos norte-americanos.

Dados moleculares de Aïnouche & Bayer (1999), baseados em ITS de DNA nuclear ribossomal, corroboram com a formação deste grupo diferenciado, mas com poucas exceções, não provêm suficiente informação para resolver as relações entre os lupinos perenes e anuais do oeste do Novo Mundo, mostrando-se congruentes com a comum intergradação morfológica, estabilidade do número cromossômico e ausência de barreiras para intercruzamentos.

Contrastando com a relativa uniformidade morfológica, hábito de crescimento (Plitmann, 1981) e grande diversidade citológica $2n = 32, 36, 38, 40, 42, 50, 52$ (Malheiros, 1942; Pazy et al., 1977; Plitmann, 1981; Carstairs et al., 1992) apresentada pelos lupinos do Velho Mundo, os lupinos andinos são abundantes, citologicamente uniformes com $2n = 48$ (raro $2n = 36$), morfológicamente variados, ocupando diversos habitats e apresentando várias formas de crescimento, o que pode ser um indicativo de uma recente radiação adaptativa que não foi ainda acompanhada por grandes alterações citológicas como disploidias e aneuploidias, como sugerido por Weiss et al., (2003) para *Hypochaeris* (Asteraceae) da América do Sul.

4.4.2 – Número cromossômico para espécies norte-americanas de *Lupinus*

Em todos os indivíduos analisados do híbrido ornamental *Lupinus Russel* foi verificado $2n = 48$ cromossomos (figura 32). Este dado cromossômico concorda com os apresentados para a maioria das espécies norte-americanas citologicamente estudadas (tabela 3). Os prováveis progenitores citados para este híbrido são *L. polyphyllus* e *L. arboreus* da América do Norte, contudo George Russel não efetuou um rígido controle sobre a polinização e *L. nootkatensis* e outra espécie americana podem estar envolvidas (Hill, 1995).

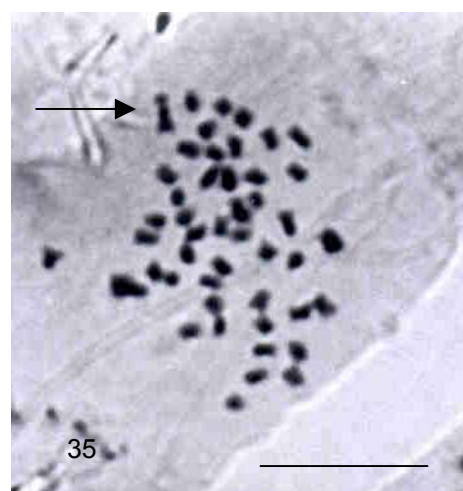
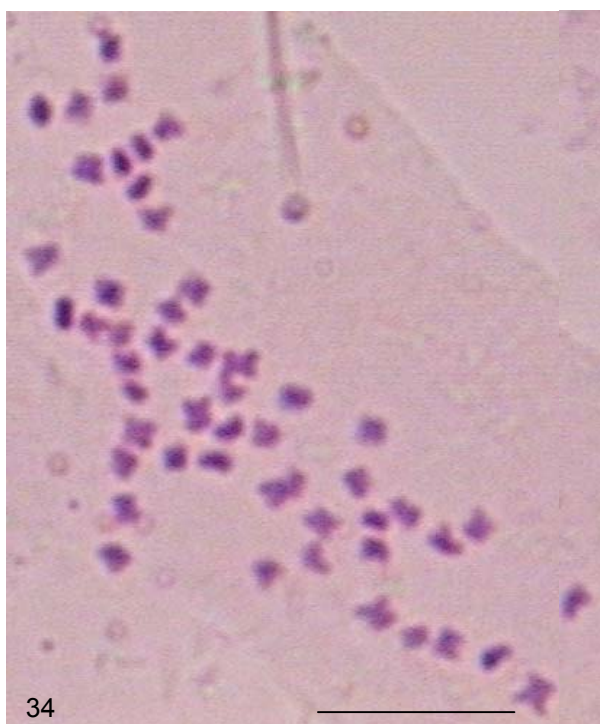
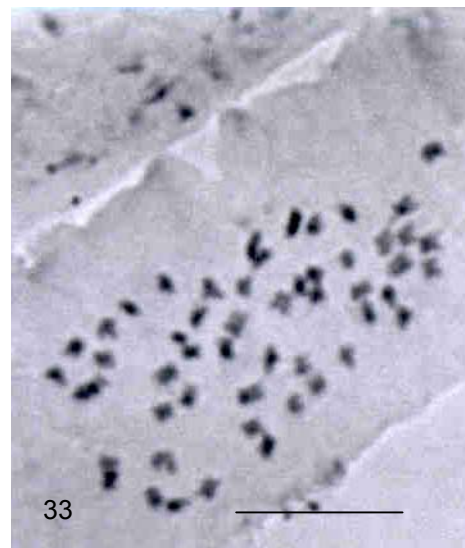
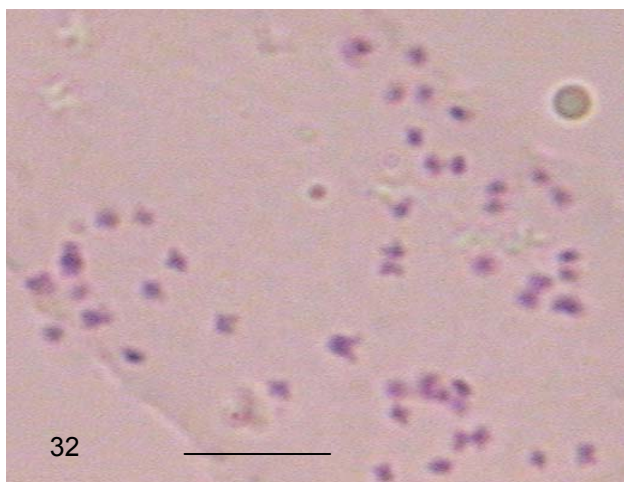
No sudeste da América do Norte, abrangendo a Flórida e áreas adjacentes (Dunn, 1984), ocorrem quatro espécies unifolioladas de *Lupinus* a saber: *L. cumulicula* Small., *L. villosus* Wild., *L. westianus* Small. e *L. diffusus* Nutt. Segundo Dunn, (1971), eles são uma anomalia entre os lupinos norte-americanos, com o restante das espécies apresentando folhas compostas.

A análise citológica em duas destas espécies, *L. cumulicula* CEH 1984, 1985 e *L. villosus* CEH 1986 revelou para ambas um inesperado número cromossômico de $2n = 52$ (figuras 33 e 34). Este número não foi evidenciado em outras espécies americanas estudadas citologicamente, sendo todavia compartilhado por *L. luteus*, *L. hispanicus* e *L. micranthus* pertencentes aos lupinos de sementes lisas do Velho Mundo .

O número cromossômico básico para estas espécies unifolioladas norte-americanas poderia ser $x = 13$ como proposto para *L. luteus*, *L.*

hispanicus e *L. micranthus* do Velho Mundo, diferindo de $x = 6$ para os lupinos do Novo Mundo.

O tamanho dos cromossomos dos lupinos unifoliolados norte-americanos variou aproximadamente de 1,04 - 2,20 μm em *L. cumulicula* e de 0,83 - 1,4 μm em *L. villosus*, podendo ser considerados pequenos quando comparados a outras espécies (Klamt & Schifino-Wittmann, 2000). Em algumas células de *L. cumulicula* CEH 1984, com bom espalhamento dos cromossomos foi observada a presença de um cromossomo relativamente maior, que portava um satélite (figura 35).



Figuras 32–35 - Metáfases mitóticas em lupinos norte-americanos: 32) *Lupinus Russel* ($2n = 48$), 33) *L. villosus* CEH 1986 ($2n = 52$), 34) *L. cumulicula* CEH 1984 ($2n = 52$), 35) *L. cumulicula* CEH 1984 ($2n = 52$), (seta indica cromossomos com satélite). Escala 10 μm .

Dunn (1971), com base em caracteres morfológicos, interpreta que os táxons de folhas simples norte-americanos representam uma especiação recente e de origem única, contrastando com os múltiplos tamanhos, hábitats e morfologia dos lupinos de folhas simples brasileiros. Nesta base, sugeriu que os primeiros derivam dos últimos via dispersão de sementes à longa distância, provavelmente por pássaros, com subsequente adaptação e especiação. Por apresentar hábito arbustivo, alcançando geralmente 1,5m, ser adaptado a cordilheiras arenosas, geralmente sem competição e por ser restrito ao interior das terras altas da Flórida, *L. cumulicula* foi o primeiro táxon segregado desta dispersão.

O número cromossômico obtido neste estudo, para duas das espécies de lupinos unifoliolados da América do Norte, *L. cumulicula* e *L. villosus* ambas com $2n = 52$ e em uma espécie ocorrente no Brasil, *L. guaraniticus* com $2n = 36$ cromossomos, poderia ser uma evidência indireta para não apoiar a hipótese de Dunn (1971), mas apoiar Gladstones (1998), que sugere que estas espécies poderiam ter resultado diretamente de introduções independentes.

No entanto, devido à ausência de dados citológicos para o restante das espécies unifolioladas norte-americanas e para 12 unifolioladas brasileiras, uma discussão mais ampla e conclusiva sobre as hipóteses acima propostas são momentaneamente especulativas.

5. CONCLUSÕES

1. As populações naturais de *Lupinus* estudadas apresentaram comportamento meiótico regular, com formação quase exclusiva de bivalentes, índice meiótico e viabilidade do pólen acima de 90%, indicando serem plantas meioticamente estáveis e potencialmente macho-férteis.
2. Foram determinados $2n = 36$ cromossomos para *Lupinus paraguariensis* e *L. guaraniticus* e confirmados $2n = 36$ para *L. lanatus* e *L. rubriflorus* e $2n = 34$ para *L. bracteolaris*. Todas estas espécies são sul-americanas.
3. Acessos de *Lupinus* sp. andinos, em sua maioria, apresentaram $2n = 48$ cromossomos, exceto *Lupinus* cf. *bandeliera* que exibiu $2n = 36$.
4. Os lupinos unifoliolados ocorrentes no sudeste da América do Norte, poderiam não ser derivados dos lupinos unifoliolados brasileiros, com base no número cromossômico encontrado ($2n=52$), mas representariam introduções independentes.

5. Embora os dados cromossômicos obtidos corroborem a hipótese de que os lupinos andinos formem um grupo diferenciado dentro do gênero, mais espécies, acessos e locais de coleta como o Chile e sul da Argentina são necessários.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AÏNOUCHE, A. K.; BAYER, R. J. Phylogenetic relationships among and within the old and New World Lupin species (Fabaceae) based on internal transcribed spacer sequences of nuclear ribosomal DNA. In: INTERNACIONAL LUPIN CONFERENCE, 8, California, 1996. **Proceedings...**California: [s. n.], 1996. p. 236-244.

AÏNOUCHE, A.; GREINWALD, R.; WITTES, L.; HUON, A. Seed alkaloid composition of *Lupinus tassilicus* Maire (Fabaceae: Genisteae) and comparison with its related rough seeded lupin species. **Biochemical Systematics and Ecology**, Oxford, v. 24, n. 5, p. 405-414, 1996.

AÏNOUCHE, A. K.; BAYER, R. Phylogenetic relationships in *Lupinus* (Fabaceae, Papilionoideae) based on internal transcribe spacer sequences (ITS) of nuclear ribosomal DNA. **American Journal of Botany**, Columbus, v. 86, n. 4, p. 590-607, 1999.

ATKINS, C. A.; SMITH, P. M. C.; GUPTA, S.; JONES, M. G. K.; CALIGARI, P. D. S. Genetics, cytology and biotechnology. In: GLADSTONES, J. S.; ATKINS, C. A.; HAMBLIN, J. (Eds.). **Lupins as crop plants**: biology, production and utilization. Cambridge: CAB International, 1998. p. 1-40.

BARRETO, I.; KAPPEL, A. Principais espécies de gramíneas e leguminosas das pastagens naturais do Rio Grande do Sul. In: CONGRESSO NACIONAL DA SOCIEDADE BOTÂNICA DO BRASIL, 15., 1967, Porto Alegre. **Anais...**Porto Alegre: Globo, 1967. p.281-294.

BENNET, M. M. Plant genome values: How much do we know? **Proceedings of the National Academy Science**, Washington, v. 95, p. 2011-2016, 1998.

BENNET, M. D. O development and use old genomic in situ hybridization (GISH) as a new tool in plant biosystematics. In: KEW CHROMOSOME CONFERENCE, 4, Kew, 1995. **Proceedings...**Kew: Royal Botanic Gardens, 1995. p. 167-183.

BENTHAM, G. Leguminosae: *Lupinus*. In: MARTIUS, C. F. P.; ENDLICHER, A. C.; URBAN, J. (Eds.). **Flora Brasiliensis**. Monachii: Frid. Fleicher, 1859. v. 15, n.1, p. 10-16.

BISBY, F. A. Genisteeae (Adans.) Benth. In: POLHILL, R. M.; RAVEN, P. H. (Eds.). **Advances in Legume Systematics**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. Parte 1, p. 409-425.

BOFF, T.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Segmental allopolyploidy and paleopolyploidy in species of *Leucaena* Benth: evidence from meiotic behaviour analysis. **Hereditas**, Lund, v. 138, p. 27-35, 2003.

BRETAGNOLLE, F.; THOMPSON, J. D. Gametes with the somatic chromosome number: mechanisms of their formation and role in the evolution of autopolyploid plants. **New Phytologist**, Oxford, v. 129, n.1, p. 1-22, 1995.

BURKART, A. *Lupinus* L. In: BURKART, N. S. T.; BACIGALUPO, N. M. (Eds.). **Flora ilustrada de Entre Rios**. Buenos Aires: Instituto Nacional de Pesquisa Agropecuária, 1987. pt. 3, p. 628-638.

CARSTAIRS, S. A.; BUIRCHELL, B. J.; COWLING, W. A. Chromosome number, size and interspecific crossing ability of three Old World lupins, *Lupinus princei* Harms, *L. atlanticus* Gladstones and *L. digitatus* Forsk I, and implications for cyto-systematic relationships among the rough-seeded lupins. **Journal of the Royal Society of Western Australia**, Australia, v.75, p. 83-88, 1992.

COELHO, L. G. M.; BATTISTIN, A. Meiotic behavior of *Adesmia* DC. (Leguminosae-Faboideae) species native to Rio Grande do Sul, Brazil. **Genetic and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 21, n. 3, p. 403-406, 1998.

COMAI, L. Genetic and epigenetic interactions in allopolyploid plants. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 43, p. 387-399, 2000.

COWLING, W. A.; HUYGHE, C.; SWIECICKI, W. Lupin breeding. In: GLADSTONES, J. S.; ATKINS, C. A.; HAMBLIN, J. (Eds.). **Lupins as crop plants: biology, production and utilization**. Cambridge: CAB International, 1998. p. 93-120.

COX, B. J. IOPB chromosome number report. **Taxon**, Utrecht, v. 21, n. 38, p. 680-681, 1972.

CRISTOFOLINI, G. A serological contribution to the systematics of the genus *Lupinus* (Fabaceae). **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 166, p. 265-278, 1989.

DARLINGTON, C. D. **Chromosome atlas of flowering plants**. London: George Allen-Unvin, 1955. 519p.

DUNN, D. B. Cytotaxonomy and distribution of New World lupin species. In: INTERNATIONAL LUPINE CONFERENCE, 3, La Rochelle, 1984. **Proceedings**...La Rochelle: [s. n], 1984. p.67-85.

DUNN, D. B. A case of long range dispersal and "rapid speciation" in *Lupinus*. **Transactions, Missouri Academy of Science**, Columbia, v. 5, p. 26-38, 1971.

FEDEROV, A. A. **Chromosome numbers of flowering plants**. Leningrad: Russian Academy of sciences, 1969. 478p.

GAMMAR, Z. G.; PUECH, S.; ZOUAGHI, M. Flow cytometry DNA assay of Mediterranean lupins. **Candollea**, Geneve, v. 54, p. 45-56, 1999.

GLADSTONES, J. S. *Lupinus* as crop plants. I. A. B. **Field Crop Abstracts**, Farmhan Royal, v. 23, p. 123-148, 1970.

GLADSTONES, J. S. Distribution, origin, taxonomy, history and importance. In: GLADSTONES, J. S.; ATKINS, C. A.; HAMBLIM, J. (Eds.). **Lupins as crop plants: biology, production and utilization**. Cambridge: CAB International, 1998. p. 1-40.

GOLDBLATT, P. **Index to plant chromosome numbers 1975-78**. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 1981. 553p. (Monographs in Systematic Botany, 5).

GOLDBLATT, P. **Index to plant chromosome numbers 1979-81**. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 1984. 427p. (Monographs in Systematic Botany, 8).

GOLDBLATT, P. **Index to plant chromosome numbers 1982-83**. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 1985. 224p. (Monographs in Systematic Botany, 13).

GOLDBLATT, P. **Index to plant chromosome numbers 1984-85**. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 1988. 264p. (Monographs in Systematic Botany, 23).

GOLDBLATT, P.; JOHNSON, D. E. **Index to plant chromosome numbers 1986-87**. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 1990. 243p. (Monographs in Systematic Botany, 30).

GOLDBLATT, P.; JOHNSON, D. E. **Index to plant chromosome numbers 1992-93**. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 1996. 276p. (Monographs in Systematic Botany, 58).

GOLDBLATT, P.; JOHNSON, D. E. **Index to plant chromosome numbers 1994-95**. Saint Louis: Missouri Botanical Garden, 1998. 208p. (Monographs in Systematic Botany, 69).

GROSS, R. Lupins in the Old and New World – a biological cultural coevolution. In: **INTERNATIONAL LUPINE CONFERENCE, 4**, Geraldton, 1986. **Proceedings**...Geraldton: [s. n], 1986. p. 244-277.

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

GUPTA, S.; BUIRCHELL, B. J.; COWLING, W. A. Interespecific reproductive barriers and genomic similarity among the rough-seeded *Lupinus* species. **Plant Breeding**, Berlin, v. 115, n. 2, p. 123-127, 1996. Resumo

HARDY, A.; HUGGHE, C.; PAPINEAU, J. Dry matter accumulation and partitioning, and seed yield in indeterminate Andean lupin (*Lupinus mutabilis* Sweet). **Australian Journal Agricultural Research**, Australia, v. 48, p. 91-101, 1997.

HILL, G. D. Lupins. In: SMARTT, J.; SIMMONDS, N.W. (Eds.). **Evolution of Crop Plants**. Harlow: Longmann, 1995. p.277-282.

HOVELAND, C. S.; TOWNSEND, C. E. Other legumes. In: HEATH, M.E.; BARNES, R. F.; METCALFE, D. S. (Eds.) **Forages**. Ames: Iowa State University Press, 1985. p.146-153.

JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F. **Plant Systematics**: a phylogenetic approach. Massachusetts: Sinauer Associates, 1999. 464p.

KÄSS, E.; WINK., M. Molecular phylogeny and phylogeography of *Lupinus* (*Leguminosae*) inferred from nucleotide sequences of the *rbcl* gene and ITS 1+2 regions of rDNA. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 208, p. 139-167, 1997.

KLAMT, A.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Karyotype morphology and evolution in some *Lathyrus* (Fabaceae) species of southern Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 23, n.2, p. 463-467, 2000.

LEWIS, W. H. Biosystematics and Medicine. In: GRANT, W. F. **Plant Biosystematics**. Canada: Academic Press, 1983. p.560-578.

LI, H.; WYLIE, S. J.; JONES, M. G. K. Transgenic yellow lupin (*Lupinus luteus*). **Plant Cell Reports**, Berlin, v.19, p. 634-637, 2000.

LÖVE, R. M. **Estudos citológicos preliminares de trigos Rio-Grandenses**. Porto Alegre: Secretaria de Estado dos Negócios da Agricultura, Indústria e Comércio, 1949. 23p. (Circular, 74).

MACIEL, H. S.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. First chromosome number determinations, in south-eastern South American species of *Lupinus* L. (Leguminosae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 139, p. 395-400, 2002.

MALHEIROS, N. Elementos para o estudo citológico do gênero *Lupinus*. **Agronomia Lusitana**, Oeiras, v. 4, p. 231-236, 1942.

MERCADO-RUARO, P.; DELGADO-SALINAS, A. Karyotypic studies on species *Phaseolus* (Fabaceae: Phaseolinae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 85, n.1, p. 1-9, 1998.

MOLVIG, L.; TABE, L. M.; EGGUM, B. O.; MOORE, A. E.; CRAIG, S.; SPENCER, D.; HIGGINS, T. J. V. Enhanced methionine levels and increased nutritive value of seeds of transgenic lupinus (*Lupinus angustifolius* L.) expressing a sunflower seed albumin gene. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, Washington, v. 94, p. 8393-8398, 1997.

MONTEIRO, R. Distribuição e aspectos evolutivos do gênero *Lupinus* L. (Leguminosae, Papilionoideae). **Napea**, Porto Alegre, v. 2, p. 11-18, 1987.

MONTEIRO, R.; GIBBS, P. E. A taxonomic revision of the unifoliolate species of *Lupinus* L. (Leguminosae) in Brazil. **Notes of the Royal Botanic Gardens of Edinburgh**, Edinburgh, v. 44, n. 1, p. 71-104, 1986.

NEFTA, V. G. S.; FERNANDEZ, A. Karyotypic studies in *Turnera sidoides* complex (Turneraceae, Leiocarpaceae). **American Journal of Botany**, Columbus, v. 89, n. 4, p. 551-558, 2002.

NAGANOWSKA, B.; LADON, D. Chromosomes of *Lupinus hispanicus* subsp. *hispanicus* Boiss. et Reut., *L. luteus* L. and their hybrids. **Journal Applied Genetics**, Poznan, v. 41, n. 3, p. 167-170, 2000.

NAGANOWSKA, B.; ZIELINSKA, A. Physical mapping of 18S-25S rDNA and rRNA in *Lupinus* via fluorescent *in situ* hybridization. **Cellular & Molecular Biology Letters**, Poland, v. 7, p. 665-670, 2002.

NAGANOWSKA, B.; WOLKO, B.; SLIWINSKA, E.; KACZMAREK, Z. Nuclear DNA content variation and species relationships in the genus *Lupinus* (Fabaceae). **Annals of Botany**, London, v. 92, p. 349-355, 2003.

NAGANOWSKA, B.; DOLOZEL, J.; SWIECICKI, W. K. Development of molecular cytogenetics and physical mapping of ribosomal RNA genes in *Lupinus*. **Biologia Plantarum**, Praha, v. 46, n.2, p. 211-215, 2003a.

OBERMAYER, R.; SWIECICKI, W. K.; GREILHUBER, J. Flow cytometric determination of genome size in some Old World *Lupinus* species (Fabaceae). **Plant Biology**, Stuttgart, v. 1, p. 403-407, 1999.

PAZY, B.; HEYN, C. C.; HERRNSTADT, I.; PLITMANN, U. Studies in populations of the Old World *Lupinus* species. I. Chromosomes of the east-mediterranean lupines. **Israel Journal of Botany**, Jerusalem, v. 26, p. 115-127, 1977.

PETTERSON, D. S. Composition and food uses of lupins. In: GLADSTONES, J. S.; ATKINS, C. A.; HAMBLIM, J. (Eds.). **Lupins as crop plants: biology, production and utilization**. Cambridge: CAB International, 1998. p. 353-384.

PINHEIRO, M.; MIOTTO, S. T. S. Flora ilustrada do Rio Grande do Sul. Fasc. 27. Leguminosae-Faboideae – Gênero *Lupinus* L. **Boletim do Instituto de Biociências**, Porto Alegre, n. 60, 2001, p.1-100.

PLANCHUELO, A. M. Relationship between south american and european species of *Lupinus*. In: PICKERSGILL, B.; LOCK, J. M. (Eds.). **Advances in Legume Systematics: Legumes of economic importance**. Edinburgh, Kew: Royal Botanic Gardens, 1996. v.7, p. 109-117.

PLANCHUELLO, A. M.; DUNN, D. B. The simple leaved lupines and their relatives in Argentina. **Annals of the Missouri Botanic Garden**, St. Louis, v. 71, p. 92-103, 1984.

PLANCHUELO-RAVELLO, A. M. Taxonomic studies of *Lupinus* in South America. In: INTERNATIONAL LUPINE CONFERENCE, 3., La Rochelle, 1984. **Proceedings**...La Rochelle: [s. n], 1984. p. 39-54.

PLANCHUELO-RAVELLO, A.; WITTE, L.; WINK, M. Quinolizidine alkaloid profiles of south american lupins: *Lupinus linearis* and the *Lupinus gibertianus* complex. **Zeitschrift für Naturforschung**, Tübingen, v. 48, p. 702-706, 1993.

PLANCHUELO, A. A. Biodiversity of lupins in South America. In: INTERNATIONAL LUPINE CONFERENCE 8, New Zealand, 1999. **Proceeding**...New Zealand: Lincoln University, 1999. p. 394-400.

PLITTMANN, U. Evolutionary history of the Old World lupines. **Taxon**, Utrecht, v. 30, p. 430-437, 1981.

POEHLMAN, J. M.; SLEPER, D. A. **Breeding field crops**. Ames: Iowa State University Press, 1995. 494p. Capítulo 1: Plant breeders and theirs work.

PRZYBYLSKA, J.; ZIMNIAK-PRZYBYLSKA, Z. Electrophoretic patterns of seed globulins in the Old-World *Lupinus* species. **Genetics Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 42, p. 69-75, 1995.

RAMBO, B. Estudo comparativo das leguminosas riograndenses. **Anais Botânicos do Herbário Barbosa Rodrigues**, Itajaí, v. 5, p. 107-184, 1953.

RAMBO, B. Leguminosas Riograndenses. **Pesquisas**, São Leopoldo, v. 23, p. 1-166, 1966.

READER, M. A; DRACUP, M.; ATKINS, C. A. Transient high temperatures during seed growth in narrow-leaved lupin (*Lupinus agustifolius* L.) I. High temperatures reduce seed weight. **Australian Journal Agricultural Research**, Australia, v. 48,p. 1169-1178, 1997.

RIESEBERG, L. H. Polyploid evolution: Keeping the peace at genomic reunions. **Current Biology**, London, v. 11, p. 925-928, 2001.

SALMANOWICZ, B. P.; PRZYBYLSKA, J. Electrophoretic patterns of seed albumins in the Old World *Lupinus* species (Fabaceae): variation in the 2S albumin class. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 192, p. 67-78, 1994.

SANTOS, M. T. P. **O gênero *Lupinus* L. (Leguminosae-Faboideae) no Rio Grande do Sul, Brasil**. 2000. 120 f. Dissertação (Mestrado).- Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto de Biociências, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; ZANELLA, C. C.; GUS, R. Chromosome number instability in *Phalaris* L. **Cytologia**, Tóquio, v. 40, p. 89-99, 1985.

SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; LAU, A. H.; SIMIONE, C. The genera *Vicia* and *Lathyrus* (Leguminosae) in the Rio Grande do Sul (Southern Brazil): Cytogenetics of native, naturalized and exotic species. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 17, n.3, p. 313-319, 1994.

SCHIFINO-WITTMANN, M. T. The cytogenetics and evolution of forage legumes from Rio Grande do Sul: a review. **Genetics and molecular biology**, Ribeirão Preto, v.23, n.4, p.989-995, 2000.

SENF, M. I.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; PAIM, N. R. Cytogenetic studies of populations of *Arachis*, *Desmodium* and *Vigna* species. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 18, p. 629-631, 1995.

SMITH, C. P. The digitate-lived lupines of middle-eastern South America. **Species Lupinorum**, paper 16, p. 202-224, 1940.

SOLTIS, D. E.; SOLTIS, P. S. Polyploidy: recurrent formation and genome evolution. Reviews. **Tree**, Barkeley, v. 14, n. 9, p. 348-352, 1999.

STACE, C. A. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20 th and 21 st centuries. **Taxon**, Utrecht, v. 49, p. 451-477, 2000.

STEBBINS, G. L. **Chromosomal evolution in higher plant**. London: Addison-Wesley, 1971. 216p.

SYBENGA, J. Forty years of cytogenetics in plant breeding : a personal view. In: LELLEY, T. (Ed.). CURRENT topics in plant cytogenetics related to plant improvment. Tullen: [s.n.], 1998. p. 22-32.

TALHINHAS, P.; NEVES-MARTINS, J.; LEITÃO, J. AFLP, ISSR and RAPD markers reveal high levels of genetic diversity among *Lupinus* spp. **Plant Breeding**, Berlin, v. 122, p. 507-510, 2003.

TEDESCO, S. B.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; DAL'AGNOLL, M. Meiotic behaviour in the seventeen Brazilian species of *Adesmia* DC. (Leguminosae). **Caryologia**, Firenze, v. 55, n.4, p. 341-347, 2002.

TEIXEIRA, S. P.; FORNI-MARTINS, E. R.; RANGA, N. T. Development and cytology of pollen in *Dahlstedtia* Malme (Leguminosae: Papilionoideae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 138, p. 461-471, 2002.

WEISS, H.; STUESSY, T. F.; GRAU, J.; BAEZA, C. M. Chromosome reports from South American *Hypochaeris* (Asteraceae). **Annals of the Missouri Botanic Garden**, Saint Louis, v. 90, p. 56-63, 2003.

WENDEL, J. F. Genome evolution in polyploids. **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 42, p. 225-249, 2000.

WIDÉN, B.; WIDÉN, M. Enzyme variation and inheritance in *Glechoma hederacea* (Lamiaceae), a diploidized tetraploid. **Hereditas**, Lund, v. 132, p. 229-241, 2000.

WINK, M.; MEIBNER, C.; WITTE, L. Patterns of quinolizidine alkaloids in 56 species of the genus *Lupinus*. **Phytochemistry**, New York, v. 38, n. 1, p. 139-153, 1995.

WOLKO, W.; WEEDEN, N. F. Estimation of *Lupinus* genome polyploidy on the basis of isozymic loci number. **Genetica Polonica**, Poznan, v. 30, n. 3-4, p. 165-171, 1989.

WOLKO, B.; WEEDEN, N. F. Isozyme number as an indicator of phylogeny in *Lupinus*. **Genetica Polonica**, Poznan, v. 31, n. 3-4, p. 179-187, 1990.

WOLKO, B.; WEEDEN, N. F. Relationships among lupin species as reflected by isozyme phenotype. **Genetica Polonica**, Poznan, v. 31, n. 3-4, pg. 189-197, 1990a.

ZIMNIAK-PRZYBYLSKA, Z.; PRIZYBYLSKA, J. Electrophoretic seed globulin patterns in some New World *Lupinus* species. **Genetics Resources and Crop Evolution**, Dordrecht, v. 44, p. 57-62, 1997.

ZOHARY, D.; HOPF, M. **Domestication of Plants in the Old World**. Oxford: Clarendon, 1993. 278p.

7. APÉNDICES

APÊNDICE 1 – Comportamento meiótico em espécies e acessos de *Lupinus*.

Espécie	Acesso	Nº Ind.	NºLam.	Diacinese	Nº Cels	Metafase	NºCels.	Anáfase	NºCels.	Outras	Total
<i>L. bracteolaris</i>	128464	2	1	17 II	5	-	-	17-17	4	-	9
			2	17 II	7	-	-	17-17	3	-	10
			3	17 II	7	-	-	17-17	5	-	12
			4	17 II	6	17 II	1	17-17	6	4	17
			5	17 II	4	17 II	2	17-17	5	5	16
<i>L. lanatus</i>	2110	3	1	18 II	7	18 II	3	-	-	-	10
			2	18 II	21	18 II	4	-	-	-	25
			3	18 II	3	-	-	-	-	-	3
			4	18 II	4	18 II	3	-	-	-	7
<i>L. lanatus</i>	2119	3	1	18 II	4	18 II	1	-	-	-	5
			2	18 II	7	18 II	26	-	-	-	33
<i>L. multiflorus</i>	2122	5	1	18 II	2	-	-	-	-	-	4
			2	18 II	4	-	-	-	-	-	4

APÊNDICE 1 – Continuação.

Espécie	Acesso	N.ºInd.	Nº Lam.	Diacinese	Nº Cels.	Metafase	NºCels.	Anafase	NºCels.	Outras	Total
			5	18 II	1	-	-	18-18	1	-	2
			6	-	-	-	-	-	-	2	2
			7	18 II	4	-	-	-	-	-	4
			8	18 II	14	-	-	18-18	1	-	15
<i>Lupinus sp.</i>	2098	2	1	18 II	2	18 II	6	18-18	1	-	9
			2	18 II	6	18 II	1	-	-	-	7
			3	18 II	11	18 II	-	-	-	-	13
				1 IV	2	-	-	-	-	-	2
<i>Lupinus sp.</i>	2099	3	1	18 II	4	--	-	-	-	-	4
<i>Lupinus sp.</i>	2105	3	1	18 II	4	-	-	-	-	-	4
			2	18 II	2	18 II	2	-	-	6	10
			3	18 II	5	-	-	-	-	-	5
			4	-	-	18 II	3	18-18	3	-	6

APÊNDICE 1 – Continuação

Espécie	Acesso	NºInd.	Nº Lam.	Diacinese	Nº Cels.	Metafase	Nº Cels.	Anafase	Nº Cels.	Outras	Total
			5	-	-	18 II	4	-	-	-	4
			6	-	-	18 II	-	18-18	3	-	3
<i>Lupinus sp.</i>	2113	3	1	18 II	3	-	-	18-18	4	-	7
			2	-	-	-	-	18-18	6	2	8
			3	18 II	5	18 II	-	-	-	4	10
<i>Lupinus sp.</i>	2126	3	1	18 II	5	18 II	7	-	-	-	12
			2	18 II	5	-	-	-	-	-	5
			3	18 II	3	-	-	18-18	2	-	5
<i>Lupinus sp.</i>	2131	1	1	18 II	1	-	-	18-18	2	2	5
			2	18 II	5	18 II	3	18-18	10	4	22
<i>L. guaraniticus</i>	2107	1	1	18 II	2	-	-	-	-	-	2
			2	18 II	11	-	-	-	-	-	11
			3	18 II	2	-	-	-	-	-	2
<i>L. guaraniticus</i>	2125	3	1	18 II	4	M	2	-	-	-	6
			2	18 II	7	IV	1	-	-	-	8

APÊNDICE 1 – Continuação

Espécie	Acesso	NºInd.	Nº Lam.	Diacinese	Nº Cels.	Metafase	Nº Cels.	Anafase	Nº Cels.	Outras	Total
			3	18II	7	IV	1	-	-	-	10
						M	2				
			4	18 II	1	IV	2	-	-	-	6
						M	3				
			5	-	-	18 II	8	-	-	-	9
						AD	1				
			6	18 II	3	18 II	4	-	-	-	9
						1 IV	2	-	-	-	2
			7	18 II	1	18 II	5	18-18	5	3	14
			8	18 II	1	-	-	18-18	3	4	8
			9	18 II	5	1 AD	1	-	-	-	8
						1-2 IV	2				
			10	18 II	5	18 II	1	18-18	2	-	8
						1 AD					
			11	18 II	3	1AD		18-18-	-	-	3

APÊNDICE 1 – Continuação.

Espécie	Acesso	NºInd.	Nº Lam.	Diacinese	Nº Cels.	Metafase	Nº Cels.	Anafase	Nº Cels.	Outras	Total
<i>L. rubriflorus</i>	2114	2	1	18 II	1	-	-	18-18	2	4	7
			2	18 II	1	-	-	18-18	7	-	8
			3	18 II	2	-	-	18-18	1	-	3
			4	18 II	3	-	-	18-18	4	-	7
			5	-	-	-	-	18-18	3	3	6
<i>L. rubriflorus</i>	2104	2	1	18 II	1	-	-	-	-	-	1
			2	18 II	9	-	-	-	-	-	9
			3	18 II	8	-	-	-	-	-	8
<i>L. rubriflorus</i>	2139	3	1	18	3	-	-	-	-	-	3
			2	-	-	-	-	18-18	13	-	13
			3	18 II	1	-	-	18-18	2	-	3
			4	18 II	2	18 II	1	18-18	2	4	9
			5	18 II	2	18 II	2	18-18	7	2	13
			6	18 II	1	18 II	1	-	-	-	-

APÊNDICE 1 – Continuação

Espécie	Acesso	NºInd.	Nº Lam.	Diacinese	Nº Cels.	Metafase	Nº Cels.	Anafase	Nº Cels.	Outras	Total
<i>L. rubriflorus</i>	2117	3	1	18 II	2	-	-	18-18	5	-	7
			2	18 II	2	-	-	18-18	2	-	4
			3	18 II	1	-	-	-	-	4	5
			4	18 II	1	18 II	5	-	-	2	8
			5	18 II	1	18 II	2	-	-	2	5
<i>L. rubriflorus</i>	2123	3	1	18 II	2	-	-	18-18	1	-	3
			2	18 II	13	18 II	1	18-18	1	-	15
			3	18 II	9	-	-	-	-	5	14
			4	18 II	7	-	-	18-18	6	2	15
<i>L. paranensis</i>	129986	1	1	-	-	18 II	5	18-18	1	-	6
			2	-	-	-	-	18-18	4	2	6

APÊNDICE 2 - Índice meiótico em espécies e acessos de *Lupinus*

Espécie	Acesso	NºIndivív.	NºLâmina	Tétrades	Tríades	Díades	Políades
<i>L. bracteolaris</i>	128464	2	1	200	3	-	-
			2	113	-	-	-
			3	100	-	-	-
			4	226	-	-	-
			5	200	4	-	-
<i>L. lanatus</i>	2110	3	1	142	-	-	-
			2	212	3	-	-
			3	280	2	-	-
			4	174	-	-	-
			5	190	3	-	-
			6	248	3	-	-
<i>L. lanatus</i>	2119	3	1	163	4	-	-
			2	207	2	-	-
			3	236	3	-	-
			4	166	2	-	-
			5	260	3	-	-
			6	229	2	-	-
<i>L. multiflorus</i>	2122	5	1	226	2	-	-
			2	184	2	-	-
			3	200	-	-	-
			4	212	3	1	-
			5	219	1	-	-
			6	217	1	-	-
			7	229	2	-	-

APÊNDICE 2 – Continuação.

Espécie	Acesso	NºIndivív.	NºLâmina	Tétrades	Tríades	Diades	Políades
<i>L. multiflorus</i>	2122	5	8	232	1	-	-
			9	207	1	-	-
			10	227	1	-	-
<i>Lupinus sp.</i>	2098	2	1	250	2	-	-
			2	230	1	-	-
			3	288	3	-	-
			4	229	2	-	-
<i>Lupinus sp.</i>	2099	3	1	259	2	-	-
			2	249	3	-	-
			3	190	3	-	-
			4	166	2	-	-
			5	204	2	-	-
			6	139	3	-	-
<i>Lupinus sp.</i>	2105	3	1	219	2	-	-
			2	190	1	-	-
			3	168	1	-	-
			4	221	2	-	-
			5	202	1	-	-
			6	201	3	-	-
<i>Lupinus sp.</i>	2131	1	1	209		-	-
			2	203		-	-
<i>Lupinus sp.</i>	2113	3	1	208	2	-	-
			2	200	-	-	-
			3	202	4	-	-
			4	200	1	-	-

APÊNDICE 2 – Continuação

Espécie	Acesso	NºIndivív.	NºLâmina	Tétrades	Tríades	Diades	Políades
<i>Lupinus</i> sp.	2113		5	185	1	-	-
			6	204	2	-	-
<i>Lupinus</i> sp.	2126	3	1	230	1	-	-
			2	204	2	-	-
			3	207	3	-	-
			4	223	1	-	-
			5	200	1	-	-
			6	193	1	-	-
<i>L. guaraniticus</i>	2107	1	1	159	6	-	-
			2	181	7	2	-
			3	81	3	-	-
<i>L. guaraniticus</i>	2109	2	1	181	2	-	-
			2	114	2	-	-
			3	151	3	-	-
			4	148	3	-	-
			5	206	4	-	-
<i>L. guaraniticus</i>	2111	2	1	200	2	-	-
			2	204	2	-	-
			3	195	5	-	-
			4	191	2	-	-
<i>L. guaraniticus</i>	2125	3	1	207	6	-	-
			2	200	5	-	-
			3	197	5	-	-
			4	215	6	-	2

APÊNDICE 2 – Continuação

Espécie	Acesso	NºIndivív.	NºLâmina	Tétrades	Tríades	Diades	Políades
<i>L. guaraniticus</i>	2125		5	190	8	2	-
			6	166	6	-	-
<i>L. rubriflorus</i>	2117	3	1	203	2	-	-
			2	133	1	-	-
			3	164	1	-	-
			4	200	2	-	-
			5	200	2	-	-
			6	114	1	-	-
<i>L. rubriflorus</i>	2123	3	1	189	2	-	-
			2	186	2	-	-
			3	212	2	-	-
			4	216	1	-	-
			5	187	2	-	-
			6	222	2	-	-
<i>L. rubriflorus</i>	2114	2	1	207	1	-	-
			2	192	-	-	-
			3	208	2	-	-
			4	194	1	-	-
<i>L. rubriflorus</i>	2139	3	1	206	1	-	-
			2	207	2	-	-
			3	197	-	-	-
			4	207	3	-	-
			5	200	-	-	-
			6	189	-	-	-

APÊNDICE 2 – Continuação

Espécie	Acesso	NºIndivív.	NºLâmina	Tétrades	Tríades	Diades	Políades
<i>L. rubriflorus</i>	2104	1	1	200	1	-	-
			2	202	4	-	-
<i>L. rubriflorus</i>	2136	2	1	209	4	-	-
			2	199	3	-	-
			3	202	3	-	-
			4	200	3	-	-
<i>L. rubriflorus</i>	2108	2	1	216	-	-	-
			2	205	-	-	-
			3	204	3	-	-
			4	219	1	-	-
<i>L. rubriflorus</i>	2102	1	-	-	-	-	-
<i>L. paranensis</i>	129986	1	1	202	5	-	-
			2	198	2	-	-

APÊNDICE 3 - Estimativa da viabilidade dos grãos (GP) de pólen em espécies e acessos de *Lupinus*.

Espécie	Acesso	NºIndivíduos	NºLâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>L. bracteolaris</i>	128464	2	1	270	7
			2	268	6
			3	267	10
			4	266	6
			5	269	8
			6	267	8
<i>L. lanatus</i>	2110	3	1	270	10
			2	275	10
			3	269	9
			4	265	12
			5	275	16
			6	269	7
			7	264	10
			8	266	11
			9	270	10
<i>L. lanatus</i>	2119	3	1	274	18
			2	262	13
			3	252	13
			4	262	10
			5	266	15
			6	265	11
			7	269	14
			8	268	13

APÊNDICE 3 – Continuação

Espécie	Acesso	NºIndivíduos	NºLâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>L. lanatus</i>	2119		9	270	16
<i>L. multiflorus</i>	2122	5	1	265	6
			2	270	9
			3	268	9
			4	272	8
			5	268	9
			6	266	9
			7	265	8
			8	263	7
			9	270	8
			10	269	7
			11	266	7
			12	268	6
			13	265	7
			14	262	7
			15	279	8
<i>Lupinus sp.</i>	2098	2	1	250	7
			2	265	7
			3	263	8
			4	266	7
			5	264	8
			6	258	6
<i>Lupinus sp.</i>	2099	3	1	264	6
			2	267	4
			3	263	5

APÊNDICE 3 – Continuação

Espécie	Acesso	NºIndivíduos	NºLâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>Lupinus sp.</i>	2099		4	269	7
			5	263	6
			6	270	5
			7	269	6
			8	270	6
			9	272	8
<i>Lupinus sp.</i>	2105	3	1	269	4
			2	266	7
			3	264	4
			4	265	5
			5	268	4
			6	270	5
			7	268	7
			8	265	3
			9	266	3
<i>Lupinus sp.</i>	2113	3	1	270	8
			2	269	8
			3	266	7
			4	273	6
			5	264	7
			6	265	8
			7	263	6
			8	271	8
			9	270	5

APÊNDICE 3 – Continuação

Espécie	Acesso	NºIndivíduos	NºLâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>Lupinus</i> sp.	2126	3	1	270	7
			2	270	6
			3	268	7
			4	265	7
			5	264	4
			6	272	6
			7	267	6
			8	269	7
			9	271	5
<i>Lupinus</i> sp.	2131	1	1	264	3
			2	267	4
			3	265	4
<i>L. guaraniticus</i>	2107	1	1	267	16
			2	264	14
			3	259	12
<i>L. guaraniticus</i>	2109	2	1	265	16
			2	264	10
			3	260	16
			4	260	17
			5	259	14
			6	245	15
<i>L. guaraniticus</i>	2111	2	1	260	14
			2	254	14
			3	252	15
			4	260	16

APÊNDICE 3 – Continuação

Espécie	Acesso	NºIndivíduos	NºLâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>L. guaraniticus</i>	2111		5	253	14
			6	242	12
<i>L. guaraniticus</i>	2125	3	1	260	13
			2	256	15
			3	254	13
			4	251	15
			5	263	12
			6	260	13
			7	252	10
			8	250	14
			9	256	13
<i>L. rubriflorus</i>	2117	3	1	264	7
			2	263	5
			3	261	7
			4	269	8
			5	265	6
			6	262	6
			7	261	8
			8	258	9
			9	257	8
<i>L. rubriflorus</i>	2123	3	1	270	8
			2	270	7
			3	273	7
			4	277	9
			5	281	8

APÊNDICE 3 – Continuação

Espécie	Acesso	NºIndivíduos	NºLâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>L. rubriflorus</i>	2123		6	269	7
			7	280	8
			8	280	9
			9	276	7
<i>L. rubriflorus</i>	2114	2	1	271	9
			2	269	7
			3	264	6
			4	266	8
			5	266	8
			6	270	10
<i>L. rubriflorus</i>	2139	3	1	266	7
			2	266	7
			3	265	6
			4	267	7
			5	265	8
			6	266	6
			7	270	7
			8	269	9
			9	266	8
<i>L. rubriflorus</i>	2104	1	1	266	3
			2	266	3
			3	264	2
<i>L. rubriflorus</i>	2136	2	1	260	10
			2	262	10
			3	261	9

APÊNDICE 3 – Continuação

Espécie	Acesso	NºIndivíduos	NºLâmina	GP Viáveis	GP Inviáveis
<i>L. rubriflorus</i>	2136		4	259	8
			5	260	11
			6	260	9
<i>L. rubriflorus</i>	2108	2	1	264	8
			2	266	9
			3	265	6
			4	264	7
			5	266	7
			6	265	5
<i>L. rubriflorus</i>	2102	1	1	264	3
			2	266	5
			3	264	4
<i>L. paranensis</i>	129986	1	1	260	6
			2	264	4
			3	264	4

APÊNDICE 4 – Número de células, indivíduos e número cromossômico em espécies de *Lupinus*

Espécie	Acesso/Indivíduo	Nº Células	2n
<i>L. rubriflorus</i>	I. Conterato s/n – ICN 129995 / 1	15	36
	I. Conterato s/n – ICN 129995 / 2	11	36
	I. Conterato s/n – ICN 129995 / 3	6	36
<i>L. bracteolaris</i>	I. Conterato s/n – ICN 130222 / 1	1	34
	I. Conterato s/n – ICN 130222 / 2	22	34
	I. Conterato s/n – ICN 130222 / 3	21	34
	I. Conterato s/n – ICN 130222 / 4	14	34
<i>L. guaraniticus</i>	I. Conterato s/n – ICN 130223 / 1	62	36
	I. Conterato s/n – ICN 130223 / 2	10	36
	I. Conterato s/n – ICN 130223 / 3	15	36
	I. Conterato s/n – ICN 130223 / 4	13	36
<i>L. guaraniticus</i>	I. Conterato s/n – ICN 129985 / 1	13	36
	I. Conterato s/n – ICN 129985 / 2	6	36
	I. Conterato s/n – ICN 129985 / 3	10	36
	I. Conterato s/n – ICN 129985 / 4	11	36
	I. Conterato s/n – ICN 129985 / 5	14	36
	I. Conterato s/n – ICN 129985 / 6	8	36
	I. Conterato s/n – ICN 129985 / 7	11	36
<i>L. guaraniticus</i>	I. Conterato s/n – ICN 129985 / 8	9	36
<i>L. lanatus</i>	Valls 9525 / 1	17	36
	Valls 9525 / 2	7	36
	Valls 9525 / 3	12	36

APÊNDICE 4 – Continuação

Espécie	Acesso/Indivíduo	Nº Células	2n
<i>L. paraguariensis</i>	Valls 10689 / 1	12	36
	Valls 10689 / 2	10	36
<i>L. cf. bandelierae</i>	CEH 2310 / 1	17	36
	CEH 2301 / 2	13	36
	CEH 2301 / 3	50	36
<i>L. cf. bandelierae</i>	CEH 2321 / 1	3	36
	CEH 2321 / 2	4	36
	CEH 2321 / 3	13	36
<i>Lupinus sp.</i>	CEH 1997 / 1	12	48
<i>Lupinus sp.</i>	CEH 1989 / 1	46	48
	CEH 1989 / 2	24	48
<i>Lupinus sp.</i>	CEH 2001 / 1	13	48
	CEH 2001 / 2	20	48
	CEH 2001 / 3	10	48
	CEH 2001 / 4	6	48
	CEH 2001 / 5	9	48
<i>Lupinus sp.</i>	CEH 2002 / 1	3	48
	CEH 2002 / 2	15	48
<i>Lupinus sp.</i>	CEH 2012 / 1	17	48
	CEH 2012 / 2	10	48
	CEH 2012 / 3	8	48
<i>Lupinus sp.</i>	CEH 2037 / 1	11	48
	CEH 2037 / 2	15	48
	CEH 2037 / 3	30	48
<i>Lupinus sp.</i>	CEH 2241 / 1	10	48

APÊNDICE 4 – Continuação

Espécie	Acesso/Indivíduo	Nº Células	2n
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2241 / 2	5	48
	CEH 2241 / 3	13	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2218 / 1	33	48
	CEH 2218 / 2	10	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2248 / 1	21	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2272 / 1	8	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2296 / 1	10	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2325 / 1	18	48
	CEH 2325 / 2	10	48
	CEH 2325 / 3	12	48
	CEH 2325 / 4	11	48
<i>Lupinus</i> sp.	CEH 2332 / 1	14	48
	CEH 2332 / 2	10	48
	CEH 2332 / 3	18	48
<i>L. cumulicula</i>	CEH 1984 / 1	23	52
	CEH 1984 / 2	2	52
	CEH 1984 / 3	15	52
	CEH 1984 / 4	23	52
<i>L. cumulicula</i>	CEH 1985 / 1	3	52
<i>L. villosus</i>	CEH 1986 / 1	14	52
	CEH 1986 / 2	2	52
	CEH 1986 / 3	3	52
Lupinus Russel	1	9	48
	2	68	48
	3	20	48

APÊNDICE 4 - Continuação

Espécie	Acesso/Indivíduo	N° células	2n
Lupinus Russel	4	15	48
	5	10	48
	6	13	48
	7	33	48
	8	12	48

8. VITA

Ionara Fatima Conterato, filha de Roque Conterato e Isolda Maraschin Conterato nasceu em 9 de abril de 1973. Estudou da primeira a quarta série na Escola estadual de 1ºGrau Incompleto Menino Jesus e da quinta a oitava série na Escola estadual de 1ºGrau Floriano Peixoto, ambas de Engenho Velho. Em 1990 concluiu o 2ºGrau na Escola Estadual de 1º e 2ºGraus São José no município de Constantina.

Em 1998 ingressou na Faculdade de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Maria, graduando-se como bióloga licenciada em janeiro de 2002. Neste período participou de atividades relacionadas a pesquisa no Laboratório de Citogenética Vegetal e Biotecnologia nos anos de 1999-2001 e no Setor de Climatologia Agrícola do Departamento de Fitotecnia no ano de 2001.

Em março de 2002 iniciou seu Mestrado no curso de Zootecnia, Área de Concentração Plantas Forrageiras no Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Agronomia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.