



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA**

SARA RAFAELA SOUZA RIBEIRO

**DETERMINAÇÃO DO NÚMERO CROMOSSÔMICO E DA HETEROCROMATINA
EM ESPÉCIES DE LEGUMINOSAE**

**AREIA
2025**

SARA RAFAELA SOUZA RIBEIRO

**DETERMINAÇÃO DO NÚMERO CROMOSSÔMICO E DA HETEROCROMATINA
EM ESPÉCIES DE LEGUMINOSAE**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Coordenação do Curso de Agronomia, do
Centro de Ciências Agrárias, da Universidade
Federal da Paraíba, em cumprimento às
exigências para obtenção do título de
Engenheiro Agrônomo.

Orientador: Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix

Coorientador: Dra. Angeline Maria da Silva
Santos

**AREIA
2025**

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

R484d Ribeiro, Sara Rafaela Souza.

Determinação do número cromossômico e da heterocromatina em espécies de Leguminosae / Sara Rafaela Souza Ribeiro. - Areia:UFPB/CCA, 2025.
22 f. : il.

Orientação: Leonardo Pessoa Felix.

Coorientação: Angeline Maria da Silva Santos.
TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Agronomia. 2. CMA/DAPI. 3. Fabaceae. 4. Heterocromatina. 5. Número cromossômico. I. Felix, Leonardo Pessoa. II. Santos, Angeline Maria da Silva. III. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 631/635(02)



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE AGRONOMIA
CAMPUS II – AREIA -PB**

DEFESA DO TRABALHO DE GRADUAÇÃO

Aprovado em: 19/09/2025.

**“DETERMINAÇÃO DO NÚMERO CROMOSSÔMICO E DA
HETEROCROMATINA EM ESPÉCIES DE LEGUMINOSAE”**

Autor: **SARA RAFAELA SOUZA RIBEIRO**

Banca Examinadora:

Assinatura manuscrita de Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix em azul.

Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix (Orientador)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Assinatura manuscrita de Dra. Amanda de Souza Santos em azul.

Dra. Amanda de Souza Santos
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

Assinatura manuscrita de Me. Naédja Kaliére Marques de Luna em azul.

Me. Naédja Kaliére Marques de Luna
Universidade Federal de Pernambuco (UFPE)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ser minha fortaleza e proteção. Aos meus pais, Maria do Rosário e Angelo Ribeiro por todo amor e dedicação, sou grata por terem contribuído para a formação da pessoa que sou hoje. Meus irmãos Geovanny Ribeiro, Rafael, Andressa e Igor que são inspiração e significado de um refúgio seguro em minha vida. Minhas tias Fátima Souto e Fátima Ribeiro, no qual sempre estive em suas orações. Meus primos Marcos Vinicius Souto e Paulo Gabriel pelo amor de irmãos que construímos. Minhas amigas/irmãs Vívica Vieira, Letícia Carielo, Izabele Freitas e Josiele Teixeira que moram em meu coração há mais de 10 anos. A Lucas Medeiros, por todo afeto e lembranças construídas e que estão guardadas em um lugar especial no meu coração. Por todas as vezes que no final do dia ele é meu abraço casa e meu sorriso com saudade. A família Freitas que sempre me recebeu com todo carinho e amparo.

Jackeline Germano, minha confidente que ocupa lugar de família e se faz presente apesar da distância. Maria Luiza, que se fez especial em diversos momentos. Compartilhamos risos e lágrimas que sempre serão lembrados. À Mariana Tamires por todo apoio e por sempre me lembrar que eu sou capaz de alcançar meus objetivos. Edmilson Gomes, Anne Alicia e Ewerton Barbosa, por todas as dicas acadêmicas, diversões e parceria. João Henrique Melo e Luiz Fernando que sempre estiveram dispostos a me ajudar com empatia e carinho. Aos meninos, Marcos André, Bruno Santana, Tiago Leandro, Antenor Neto, João Vitor Sanges, Eduardo Fernandes e Evilásio Vieira que são meninos de bom coração e que tenho um vínculo muito especial.

Ao professor Bruno Malaquias, Joelson Sousa e Erisvaldo Buriti pelos momentos de aprendizado no campo. A Gustavo Neves e Lionézia Alves pela parceria e trabalho em equipe. Ao meu orientador Leonardo Pessoa Felix pela oportunidade de desenvolver dois Projetos de Iniciação Científica contribuindo para minha formação acadêmica. À José Lourivaldo pelos primeiros ensinamentos em laboratório. Angeline Maria da Silva Santos, minha coorientadora por sempre ser presente, paciente e compreensiva. Agradeço por ter contribuído para minha formação e por me apresentar as belezas da citogenética vegetal. À Rosemere Silva por sempre estar disposta a ajudar e a tirar dúvidas com toda sua simpatia e educação.

Por fim, à Universidade Federal da Paraíba, em especial ao Centro de Ciências Agrárias, Campus II, pelo acolhimento e aos colaboradores e professores da instituição, por todas as oportunidades de aprendizados ao longo da graduação.

RESUMO

A família Leguminosae é composta por 20.000 espécies e dividida em 807 gêneros, ocorrendo em todos os ecossistemas. Ocupa o lugar entre as três famílias com maior diversidade em todos os domínios fitogeográficos do Brasil, com mais da metade das espécies sendo endêmicas. Atualmente, está dividida em seis subfamílias, Cercidoideae, Detarioideae, Duparquetioideae, Dialioideae, Caesalpinioideae e Papilionoideae. Dentre as subfamílias, Caesalpinioideae se destaca por apresentar números cromossômicos com $2n = 24, 26, 28$, com registros na literatura de $2n = 14, 16, 52, 54, 56$. Para grupos taxonômicos numericamente estáveis, como a maioria das leguminosas, simples contagens cromossômicas geralmente fornecem poucas informações, exceto em espécies que apresentam variabilidade no tamanho e na morfologia dos cromossomos. Diante disso, o estudo teve como objetivo determinar o número cromossômico e identificar a composição da heterocromatina em espécies pertencentes à subfamília Caesalpinioideae (Leguminosae). Para as análises mitóticas, as pontas de raízes foram pré-tratadas com 8Hq, depois fixadas em Carnoy. As lâminas foram preparadas pelo método do esmagamento em ácido acético (60%) e coradas com os fluorocromos CMA/DAPI. As melhores lâminas foram coradas e fotografadas em fotomicroscópio de epifluorescência. Foram analisadas sete espécies pertencentes aos gêneros: *Albizia*, *Enterolobium*, *Inga*, *Pithecellobium* (registro inédito para *Pithecellobium diversifolium* $2n = 26$), *Pityrocarpa* e *Prosopis*, com número cromossômico variando em $2n = 26$ e $2n = 28$. Quanto à composição das bandas heterocromáticas, todas as espécies analisadas apresentaram bandas CMA⁺, ricas em GC. A localização das bandas heterocromáticas observadas foi pericentroméricas e terminais. O número cromossômico e a composição da heterocromatina constituem fatores determinantes nos processos de especiação em Leguminosae, uma vez que a localização e distribuição de heterocromatina entre táxons correlatos podem representar adaptações evolutivas a nichos ecológicos distintos.

Palavras-chave: CMA/DAPI; Fabaceae; heterocromatina; número cromossômico.

ABSTRACT

The Leguminosae family comprises 20,000 species divided into 807 genera and occurs in all ecosystems. It ranks among the three families with the greatest diversity across all phytogeographic domains of Brazil, with more than half of its species being endemic. Currently, it is divided into six subfamilies: Cercidoideae, Detarioideae, Duparquetioideae, Dialioideae, Caesalpinioideae, and Papilionoideae. Among these subfamilies, Caesalpinioideae stands out for exhibiting chromosome numbers of $2n = 24$, 26 , and 28 , with literature records of $2n = 14$, 16 , 52 , 54 , and 56 . For taxonomically stable groups, such as most legumes, simple chromosome counts generally provide limited information, except in species that exhibit variability in chromosome size and morphology. Given this, the study aimed to determine the chromosome number and identify the heterochromatin composition in species belonging to subfamily Caesalpinioideae (Leguminosae). For mitotic analyses, root tips were pretreated with 8-hydroxyquinoline (8Hq) and then fixed in Carnoy's solution. Slides were prepared using the acetic acid (60%) squash method and stained with the fluorochromes CMA/DAPI. The best slides were stained with CMA/DAPI and photographed using an epifluorescence photomicroscope. Seven species belonging to the genera *Albizia*, *Enterolobium*, *Inga*, *Pithecellobium* (new record to *Pithecellobium diversifolium* $2n = 26$), *Pityrocarpa*, and *Prosopis* were analyzed, with chromosome numbers varying between $2n = 26$ and $2n = 28$. Regarding heterochromatin composition, all analyzed species exhibited CMA⁺ bands, indicating GC-rich regions. The observed heterochromatin bands were located in pericentromeric and terminal regions. Chromosome number and heterochromatin composition are determining factors in the speciation processes of Leguminosae, as the location and distribution of heterochromatin among related taxa may represent evolutionary adaptations to distinct ecological niches.

Keywords: chromosome number; CMA/DAPI; Fabaceae; heterochromatin.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	7
2 REFERENCIAL TEÓRICO	9
2.1 DISTRIBUIÇÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA	9
2.2 TAXONOMIA E FILOGENIA.....	9
2.3 CITOGENÉTICA, NÚMERO CROMOSSÔMICO E HETEROCROMATINA	10
2.4 EVOLUÇÃO CROMOSSÔMICA EM LEGUMINOSAE.....	12
3 MATERIAL E MÉTODOS	13
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	14
5 CONCLUSÃO	17
REFERÊNCIAS	18

1 INTRODUÇÃO

Leguminosae é uma família composta por 20.000 espécies e dividida em 807 gêneros (POWO, 2025). É uma das Angiospermas com maior número de espécies e distribuição em regiões do mundo, ocorrendo em todos os ecossistemas (Lavin *et al.*, 2005; Dryflor, 2016). Deste modo, elas desempenham um papel ecologicamente importante e contribuem para a formação de diversos biomas, especialmente em regiões tropicais (Schrire *et al.*, 2005; Yahara *et al.*, 2013).

No Brasil, Leguminosae é representada por 3.129 espécies e 267 gêneros, e ocupa lugar entre as três famílias com maior diversidade em todos os domínios fitogeográficos do país, com mais da metade das espécies sendo endêmicas (Flora e Funga do Brasil, 2025). Muitas espécies dessa família possuem um alto valor econômico, servindo como fonte de proteínas e óleos comestíveis, além de fornecerem diversas substâncias utilizadas na indústria farmacêutica (LPWG, 2017).

Citogeneticamente, dentre as seis subfamílias, a Caesalpinioideae se destaca por apresenta números cromossômicos com $2n = 24, 26, 28$, com registros na literatura de $2n = 14, 16, 52, 54, 56$ (LPWG, 2017). Para esclarecer os limites taxonômicos de plantas que com relações filogenéticas difíceis de ser interpretadas à luz de análises de sequências de DNA muitas vezes necessitam da utilização de outras abordagens como anatomia e, citogenética. Análises cariotípicas frequentemente são utilizadas para esclarecer relações filogenéticas (Oliveira *et al.*, 2015) e são importantes para a delimitação de espécies crípticas como em *Libidibia ferrea* Mart. Ex Tul. (Borges *et al.*, 2012).

O gênero *Inga* Mill. possui o número cromossômico básico $x = 13$. As primeiras contagens de cromossomos para o gênero foram relatadas por Shibata (1962), que observou $2n = 26$ em *I. spuria* Humb. & Bonpl. ex Willd. (= *I. vera*) e em *I. edulis*. Mart, Hanson (1995) examinou um total de 17 espécies, das quais 15 eram diploides (com $2n = 26$) e duas tetraploides ($2n = 4x = 52$). Figueiredo *et al.* (2014) analisaram o número cromossômico de *Inga*, observando que nove das espécies apresentaram $2n = 26$ (*I. thibaudiana* DC, *I. cayennensis* Sagot ex Benth., *I. ingoides* (Rich.) Willd., *I. edulis*, *I. vera* Kunth, *I. subnuda* Salzm. Ex Benth., *I. striata* Benth, *I. bollandii* Sprague e Sandwith e *Inga* sp.), enquanto $2n = 4x = 52$ foi observado em uma população de *I. cylindrica* (Vell.) Mart. e de *I. capitata* Desv, e em cinco populações de *I. laurina* (Sw.) Willd. Além disso, $2n = 8x = 104$ foi observado em uma população de *I. cayennensis*.

A realização de análises citogenéticas com dupla coloração por fluorocromos CMA/DAPI em Leguminosae é fundamental para avançar na compreensão da organização genômica e dos processos evolutivos deste grupo taxonômico tão diverso. Como destacado por Guerra (2000), a técnica de bandeamento permite a caracterização precisa da heterocromatina constitutiva, identificando regiões ricas em pares GC (CMA⁺) e AT (DAPI⁺).

Em Leguminosae, a aplicação desta técnica auxilia não apenas na distinção citogenética entre espécies proximamente relacionadas, mas também na identificação de regiões organizadoras de nucleolo (RONS) e na detecção de padrões de evolução cromossômica. Dessa forma, tais análises constituem uma ferramenta indispensável para integrar dados citogenéticos a estudos filogenéticos e evolutivos, além da diversificação e adaptação das leguminosas. Diante disso, o estudo teve como objetivo determinar o número cromossômico e identificar a composição da heterocromatina em espécies pertencentes a subfamília Caesalpinioideae (Leguminosae).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 DISTRIBUIÇÃO E IMPORTÂNCIA ECONÔMICA

Leguminosae é a terceira maior família de angiospermas, é um grupo monofilético e compreende cerca de 807 gêneros e 20.000 espécies amplamente distribuídas mundialmente (LPWG 2017, Zhao *et al.*, 2021). No Brasil, sua relevância é ainda mais acentuada, sendo representada por 3.129 espécies e 267 gêneros. A família ocupa um lugar entre as três com maior diversidade em todos os domínios fitogeográficos do país, com mais da metade de suas espécies sendo endêmicas (Flora e Funga Brasil, 2025).

Segundo Flora e Funga do Brasil (2025), Leguminosae é uma família com maior diversidade na Amazônia com 1.171 espécies seguindo do Cerrado com 1.306, Mata Atlântica 1.010 espécies, Caatinga com 65, Pampa 255 e Pantanal 193 espécies. As leguminosas têm destacado potencial econômico, incluindo espécies alimentícias, medicinais, madeireiras, ornamentais, produtoras de fibras e óleos, além de contribuir com a agricultura através da fixação de nitrogênio no solo. É considerada a segunda maior família botânica em importância econômica, superada apenas pelas Gramíneas (Wojciechowski *et al.*, 2004). Segundo Corby *et al.* (2011), as plantas da família se destacam diante a capacidade de associações simbióticas com bactérias fixadoras de nitrogênio, resultando na contribuição para a ciclagem de nutrientes no sistema de interação solo-planta. Entretanto, essa característica é pouco observada em espécies da subfamília Caesalpinioideae, sendo mais observada em espécies do clado Mimosoideae e da subfamília Papilionoideae.

2.2 TAXONOMIA E FILOGENIA

As espécies pertencentes a esta família exibem diversidade genética e morfológica, variando de espécies diploides autógamas comum a complexos poliploides de polinização cruzada (Choi *et al.*, 2004), com fruto do tipo legume e suas variações. Dessa forma, essa amplitude genética reflete nas variações de formas de vida e hábitos de crescimento, que abrangem formas herbáceas, arbustivas e arbóreas, bem como ciclos de vida perenes ou anuais (Doyle & Luckow, 2003). Além disso, essas espécies estão representadas principalmente em ambientes tropicais, embora muitas delas também sejam encontradas em planícies temperadas, florestas e desertos (Aguilar, 2021).

Tradicionalmente, a classificação taxonômica da família Leguminosae estruturava-se em três subfamílias principais: Mimosoideae, Caesalpinioideae e Papilionoideae. Contudo,

avanços nos estudos filogenéticos, fundamentados em análises moleculares, demandaram uma substancial revisão taxonômica. A hipótese classificatória atualmente mais consensual entre a comunidade científica propõe uma nova circunscrição, reconhecendo seis subfamílias monofiléticas: Cercidoideae, Detarioideae, Dialioideae, Duparquetioideae, Caesalpinioideae (a qual incorpora o clado anteriormente tratado como Mimosoideae) e Papilionoideae (LPWG, 2017; Da Cruz Silva *et al.*, 2024). Essa reorganização reflete melhor a história evolutiva da família e destaca a necessidade de integração entre caracteres morfológicos e moleculares para uma compreensão robusta de sua diversificação.

Apesar dos avanços, a filogenia de Leguminosae ainda apresenta desafios, particularmente em relação à resolução de relações em níveis taxonômicos inferiores e à compreensão de eventos de hibridização e poliploidia que influenciaram sua evolução. Estudos como os de Zhao *et al.* (2021) e Doyle & Luckow (2003) destacam a diversidade genética e morfológica da família, que varia desde linhagens diploides até complexos poliploides, com implicações para sua adaptação em diferentes biomas. A subfamília Papilionoideae, por exemplo, é a mais diversa e possui um histórico evolutivo marcado por radiações associadas a simbioses com bactérias fixadoras de nitrogênio, como discutido por Corby *et al.* (2011). Esses avanços filogenéticos não apenas elucidam padrões macroevolutivos, mas também fornecem bases para investigações sobre biogeografia, ecologia e conservação desse grupo economicamente vital e ecologicamente diversificado.

2.3 CITOGENÉTICA, NÚMERO CROMOSSÔMICO E HETEROCROMATINA

A diversidade cromossômica na família Leguminosae é notavelmente ampla, constituindo-se em um reflexo direto de sua história evolutiva. Neste contexto, a citogenética fornece contribui desde simples contagem cromossômica até análises mais complexas, como a classificação e a identificação taxonômica, aprofundando a compreensão da evolução dos grupos (Stace, 2000). Assim, as leguminosas é uma família bem conhecida em termos de números cromossômicos, com registro para 477 gêneros e 5.676 espécies (Rice *et al.*, 2015). São consideradas paleopoliploides, com eventos de duplicação genômica total entre cinco e 13 milhões de anos (Cannon *et al.*, 2014; Rice *et al.*, 2015).

Em análises citogenéticas, o número cromossômico é uma característica crucial, sendo que a subfamília Caesalpinioideae se destaca por apresentar significativa variabilidade nesse aspecto (Bortoluzzi *et al.*, 2007). O número cromossômico é uma característica crucial, e a subfamília Caesalpinioideae se destaca por apresentar grande variabilidade (Bortoluzzi *et al.*, 2007). A subfamília Cercidoideae exibe cariótipo com $2n = 14, 24, 26, 28, 42$ e 56 ; Detarioideae

apresenta principalmente $2n = 24$, mas também $2n = 16, 20, 22$ e 68 ; Dialioideae tem $2n = 28$; Duparquetioideae não possui registros. Caesalpinioideae mostra números variados, predominando $2n = 24, 26$ e 28 , além de $2n = 14, 16, 52, 54$ e 56 . Papilionoideae apresenta maior amplitude, com $2n = 16, 18, 20, 22$, e registros de $2n = 12, 14, 24, 26, 28, 30, 32, 38, 40, 48, 64$ e 84 (LPWG, 2017).

Em Caesalpinioideae predominam $x_1 = 6, 7$ como números básicos para a maioria dos gêneros, sendo a maior parte tetraploide (Bandel, 1974; Goldblatt, 1981), com $n = 12$ e 14 para gêneros arbóreos. Há registros de disploidias intergenéricas, como redução para $n = 13$ em *Senna macranthera* (Collad.) H. S. Irwin & Barne e $n = 12$ em *S. multijuga* (Rich.) H. S. Irwin & Barneby (Biondo *et al.*, 2005). Apesar da estabilidade numérica em muitos gêneros, variantes resultam de poliploidia, geralmente intraespecífica (Santos *et al.*, 2012; Figueiredo *et al.*, 2014). Algumas disploidias derivam de contagens antigas, sem documentação fotográfica (Sharma & Raju, 1968).

A ocorrência de poliploidia no contexto filogenético das angiospermas permite correlacionar duplicações genômicas com processos de diversificação (Soltis & Soltis, 2009). Trata-se de fenômeno recorrente em leguminosas (Doyle, 2012; Cannon *et al.*, 2015; Doyle & Sherman-Broyles, 2017), sendo a diferenciação frequentemente mediada por hibridização interespecífica e intraespecífica (Soltis & Soltis, 2009). Para grupos numericamente estáveis, simples contagens são pouco informativas, exceto em espécies com variação no tamanho e morfologia (Guerra, 2012). Nesse caso, técnicas de bandejamento com fluorocromos CMA (Chromomycin A₃) e DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole) mapeiam regiões cromossômicas ricas em GC e AT, produzindo bandas heterocromáticas que servem como marcadores eficazes para a identificação cromossômica e padrões genômicos (She *et al.*, 2015; Tang *et al.*, 2019).

O uso de técnicas de coloração diferencial tem sido útil na caracterização de espécies relacionadas, como no gênero *Nothoscordum* Kunth pertencente a família Amaryllidaceae (Souza *et al.*, 2012), *Arachis* L. (Custódio *et al.*, 2013), *Phaseolus* L. (Bonifácio *et al.*, 2012) e *Vigna* Savi (Shamurailatpam *et al.*, 2015). Contudo, em leguminosas, tais técnicas têm se concentrado em gêneros e espécies de importância econômica (Seijo *et al.*, 2004; Pedrosa-Harand *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2017). Foram eficientes para elucidar a evolução cariotípica, mas em demais grupos o uso ainda é restrito à coloração convencional, com poucas abordagens em espécies pouco estudadas.

2.4 EVOLUÇÃO CROMOSSÔMICA EM LEGUMINOSAE

As informações cariológicas constituem dados fundamentais, que fornecem caracteres de grande relevância para a sistemática vegetal e análises filogenéticas (Stace, 2000; Crawford *et al.*, 2005). As características do cariótipo desempenham um papel significativo nos processos de especiação em plantas, uma vez que disparidades cromossômicas podem estabelecer barreiras reprodutivas pós-zigóticas imediatas (Rieseberg, 1997). Nesse contexto, espera-se que a evolução cariotípica seja congruente com a delimitação e a diferenciação de clados em filogenias de gêneros de angiospermas (Blösch *et al.*, 2009).

A poliploidia e a disploidia representam os principais mecanismos na evolução e diferenciação dos cariótipos. A poliploidia, multiplicação integral do genoma (Guerra, 2008), está presente em cerca de 80% das angiospermas e é reconhecida como força evolutiva de grande impacto, propiciando eventos de especiação e diversificação (Otto & Whitton, 2000). A disploidia, por sua vez, refere-se a alterações no número de cromossomos que modificam a simetria do cariótipo e promovem variação numérica (Guerra, 2008).

Contagens cromossômicas mostram que eventos recentes de poliploidia ocorrem em aproximadamente um quarto dos gêneros de leguminosas com dados disponíveis. Na maioria dos casos, a poliploidia restringe-se a gêneros ou espécies específicas (Doyle, 2012). Uma exceção é o clado genistóide de Papilionoideae, que inclui *Lupinus* L., provavelmente fundamentalmente poliploide e com tendência a aneuploidia em muitos de seus gêneros. A frequência da poliploidia varia entre clados da família, sendo comum na Hologalegina, grupo temperado e herbáceo (ervilha e trevo), e baixa em grupos tropicais lenhosos, como as Caesalpinioideae.

Em *Senna* Mill., evidências citogenéticas, como os números cromossômicos $2n = 42$, 56 e 112 em *Senna rugosa* (G.Don) H.S.Irwin & Barneby (Resende *et al.*, 2014), $2n = 56$ em *S. aversiflora* (Herb.) H.S.Irwin & Barneby e $2n = 52$ e 104 em *S. gardneri* (Benth.) H.S.Irwin & Barneby (Matos *et al.*, 2011), corroboram a ocorrência de poliploidia no gênero. A prevalência do número cromossômico $2n = 28$ na maioria das espécies sugere um número básico $x = 14$, sendo os demais números ($x = 11$, 12 e 13) provavelmente são derivados de eventos de disploidia (Goldblatt, 1981). Em estudos realizados por Sousa *et al.* (2012), analisaram o número cromossômico em diferentes populações de *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. identificando $2n = 26$, corroborando com registros prévios realizados por Alves e Custodio (1989) e Dahmer *et al.* (2011). No entanto, em três de oito populações, também observaram indivíduos com número cromossômico $2n = 52$, com variabilidade intraespecífica no número cromossômico já tendo sido reportada para o gênero *Mimosa* L.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas plantas jovens e/ou sementes coletadas no campo. Para as análises mitóticas, foram utilizadas pontas de raízes jovens, que foram pré-tratadas com 8Hq por 24h e posteriormente fixadas em Carnoy 3:1 (etanol: ácido acético). Em seguida, as raízes foram lavadas e colocadas por 2 horas em solução contendo 2% de celulase (Onozuka) e 20% de pectinase (Sigma, Saint Louis, MO) (w/v) por 1h. As lâminas foram preparadas pelo método de esmagamento em ácido acético 60%, secas ao ar e envelhecidas por três dias a temperatura ambiente (Guerra & Souza, 2002).

Para a coloração com fluorocromos foi utilizado o protocolo conforme descrito Vaio *et al.* (2018). As lâminas foram coradas com CMA (Cromomicina A3 – 0,1 mg. mL⁻¹) por 1 hora em câmara escura e posteriormente com DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol - 1µg.mL⁻¹) com meio de montagem tampão McIlvaine (pH 7,0) e envelhecidas novamente por três dias em câmara escura. As melhores metáfases foram fotografadas em fotomicroscópio de epifluorescência AxioCam MRm Zeiss equipado com câmera de vídeo, utilizando um programa para captura de imagens.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram analisadas sete espécies pertencentes aos gêneros de Caesalpinioideae: *Albizia* Durazz, *Enterolobium* Mart, *Inga*, *Pithecellobium* Mart, *Pityrocarpa* (Benth.) Britton & Rose e *Prosopis* L. (Tabela 1). O número cromossômico nas espécies variou de $2n = 26$ a $2n = 28$. Nas espécies *Albizia inundata* Mart.) Barneby & J.W.Grimes (Figura 1A) e *Albizia polycephala* (Benth.) Killip ex Record (Figura 1B) o número cromossômico observado foi $2n = 26$, corroborando com registros prévios da literatura (Rice *et al.*, 2015).

Em *Enterolobium* sp. (Figura 1C) e *Inga cylindrica* (Figura 1D), o número cromossômico encontrado também foi $2n = 26$. O número básico $x = 13$ sugerido para *Inga* foi confirmado, assim como os relatos anteriores de número cromossômico $2n = 26$ (Shibata, 1962; Hanson, 1995). Além disso, Figueiredo *et al.* (2014), observaram que outras variações numéricas intraespecíficas observadas em *I. cylindrica* ($2n = 26, 52$) sugerem que a poliploidia é o principal mecanismo de evolução cariotípica no gênero *Inga*.

O número cromossômico observado neste estudo em *Pithecellobium diversifolium* Benth., foi $2n = 26$ que é um registro inédito para a espécie (Figura 1E). Em *Pityrocarpa moniliformis* (Benth.) Luckow & R.W.Jobson (Figura 1F), o número cromossômico observado foi $2n = 26$, corroborando com contagens prévias realizadas por Felix *et al.* (2019). O número cromossômico encontrado em *Prosopis juliflora* (Sw.) DC. foi $2n = 28$ (Figura 1G). A literatura relata os números cromossômicos $2n = 26, 28, 52$ e 56 para *Prosopis*, sugerindo a ocorrência simultânea de disploidia e poliploidia. No entanto, o número $2n = 28$ provavelmente representa melhor o cariótipo da espécie, pois foi encontrado na maioria das espécies que compõem o gênero, além de estar presente em híbridos interespecíficos (Naranjo *et al.*, 1984).

Estudos citogenéticos clássicos, como o de Goldblatt (1981), observaram variações significativas entre as subfamílias, com Papilionoideae exibindo predominância de números baseados em $x = 7, 8$ ou 9 , enquanto Caesalpinioideae incluindo o clado Mimosoideae apresentam maior variação, incluindo espécies com $x = 11, 12$ ou 13 . Essa variabilidade cariotípica reflete a evolução do grupo quanto a ocorrência de rearranjos cromossômicos, que contribuíram para a ampla adaptação das leguminosas em diferentes ecossistemas.

Quanto a composição das bandas heterocromáticas, todas as espécies analisadas apresentaram bandas CMA⁺. A localização das bandas heterocromáticas observadas foi pericentroméricas e terminais. A ocorrência de bandas heterocromáticas positivas para fluorocromo CMA⁺ tem sido relatada em várias espécies de Fabaceae, geralmente associadas a regiões organizadoras de nucleolo (RONs) e regiões teloméricas. Estudos realizados por

Moraes *et al.* (2020) demonstraram que bandas CMA⁺ são altamente conservadas em certos clados, servindo como marcador citogenético útil para estudos de evolução cariotípica. Esses padrões citogenéticos fornecem insights valiosos sobre a dinâmica evolutiva das leguminosas.

Tabela 1: Números cromossômicos e bandas heterocromáticas em espécies de Leguminales. Sumarizadas por gênero e espécie, coletor, local de coleta, números cromossômicos determinados neste trabalho (2n) e tipos de bandas CMA/DAPI.

Táxon	Coletor	Local de coleta [†]	2n	Bandas heterocromáticas CMA ⁺ /DAPI ⁻	Fig.
<i>Albizia</i> Durazz					
<i>Albizia inundata</i> (Mart.) Barneby & J.W.Grimes	LPF 17295	São João do Tigre - PB	26	4t, 2p	1A
<i>Albizia polycephala</i> (Benth.) Killip ex Record	LPF 17311	Campina Grande- PB	26	2t	1B
<i>Enterolobium</i> Mart					
<i>Enterolobium</i> sp.	LPF 17275	Milagres - CE	26	2t	1C
<i>Inga</i> Mill.					
<i>Inga cylindrica</i> (Vell.) Mart.	LPF 17305	Taguatinga do Norte - CE	26	2t	1D
<i>Pithecellobium</i> Mart					
<i>Pithecellobium diversifolium</i> Benth.	LPF 17315	Campina Grande- PB	26*	2t, 2p	1E
<i>Pityrocarpa</i> (Benth.) Britton & Rose					
<i>P. moniliformis</i> (Benth.) Luckow & R.W.Jobson	LPF 18930	Lençóis - BA	26	2t	1F
<i>Prosopis</i> L.					
<i>P. juliflora</i> (Sw.) DC.	LPF 17313	Santa Cruz do Capibaribe - PE	28	6t	1G

[†]Estados Brasileiros referentes aos locais de coleta: BA, Bahia; CE, Ceará; PB, Paraíba; PE, Pernambuco. *Contagem inédita para a espécie. As posições das bandas nos cromossomos estão abreviadas como segue: P = pericentroméricas; T = terminais.

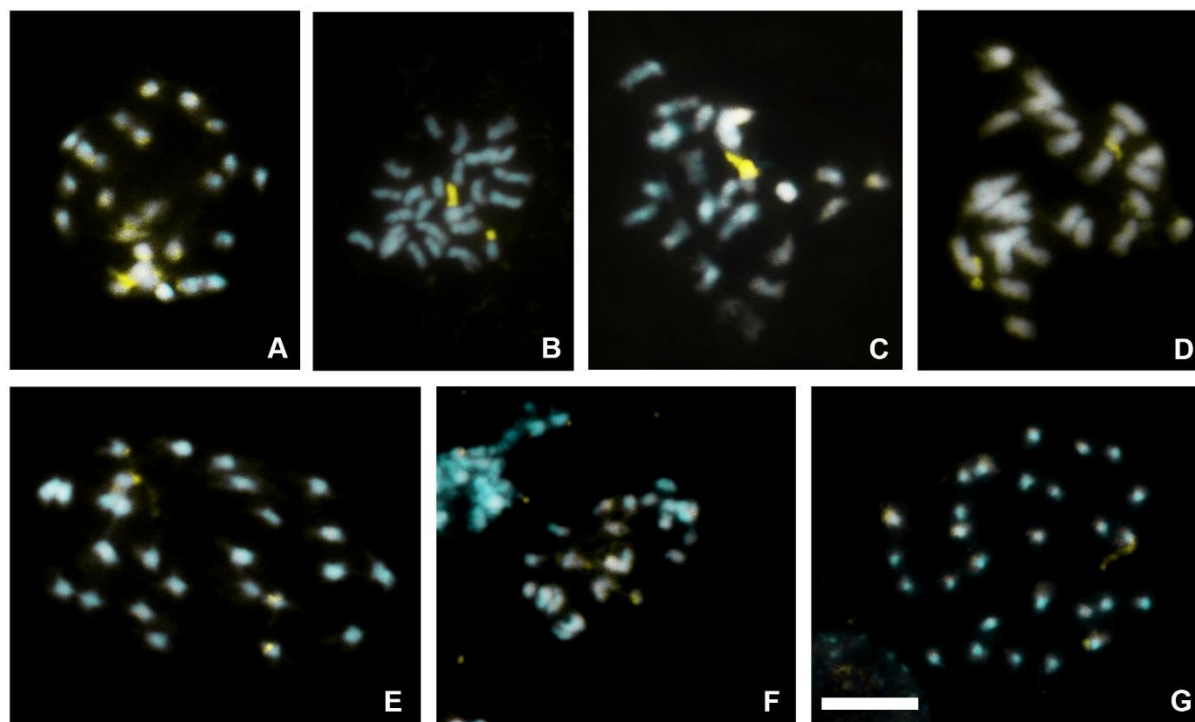


Figura 1. Metáfases mitóticas de espécies da família Leguminosae coradas com os fluorocromos CMA/DAPI pertencentes a subfamília Caesalpinioideae: **A** – *Albizia inundata* ($2n = 26$), **B** – *Albizia polycephala* ($2n = 26$), **C** - *Enterolobium* sp. ($2n = 26$), **D** – *Inga cylindrica* ($2n = 26$), **E** – *Pithecellobium diversifolium* ($2n = 26$), **F** - *Pityrocarpa moniliformis* ($2n = 26$), **G** – *Prosopis juliflora* ($2n = 28$). Barra em G corresponde a $10\mu\text{m}$.

5 CONCLUSÃO

O número cromossômico nas espécies analisadas neste estudo foi $2n = 26$ e $2n = 28$, apresentando uma relativa estabilidade cromossômica. Foi identificado um tipo de banda heterocromática CMA⁺ nas regiões terminais e pericentroméricas dos cromossomos, com predominância de regiões ricas em GC. Destaca-se o registro inédito de *Pithecellobium diversifolium* com $2n = 26$, ampliando o conhecimento citogenético do gênero. Dessa forma, o número cromossômico e a composição da heterocromatina constituem fatores determinantes nos processos de especiação em Leguminosae, uma vez que a localização e distribuição de heterocromatina entre táxons correlatos podem representar adaptações evolutivas a nichos ecológicos distintos.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, M.; LEÓN, G.; MEJÍA, F. **Botánica Aplicada: Fabaceae**; Universidad Nacional Autónoma de México: Mexico City, Mexico, 2021.
- ALVES, M. A. O.; CUSTÓDIO, A. V. C. Citogenética de leguminosas coletadas no estado do Ceará. **Revista Brasileira de Genética**, v. 12, p. 81–92, 1989.
- BANDEL, G. Chromosome numbers and evolution in the Leguminosae. **Caryologia**, v. 27, p. 17-32, 1974.
- BIONDO, E.; MIOTTO, S. T. S.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; DE CASTRO, B. Cytogenetics and cytotaxonomy of Brazilian species of *Senna* Mill. (Cassieae--Caesalpinioideae--Leguminosae). **Caryologia**, v. 58, n. 2, p. 152–163, 2005.
- BLÖCH, C.; WEISS-SCHNEEWEISS, H.; SCHNEEWEISS, G. M.; BARFUSS, M. H. J.; REBERNIG, C. A.; VILLASENOR, J. L.; STUESSY, T. F. Molecular phylogenetic analyses of nuclear and plastid DNA sequences support dysploid and polyploid chromosome number changes and reticulate evolution in the diversification of *Melampodium* (Millerieae Asteraceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 53, p. 220–233, 2009.
- BONIFÁCIO, E. M.; FONSÊCA, A.; ALMEIDA, C.; SANTOS, K. G. B. dos; PEDROSA-HARAND, A. Comparative cytogenetic mapping between the lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and the common bean (*P. vulgaris* L.). **Theoretical Applied Genetics**, v. 124, p. 1513–1520, 2012.
- BORGES, L. A.; SOUZA, L. G. R.; GUERRA, M.; MACHADO, I. C.; LEWIS, G. P.; LOPES, A. V. Reproductive isolation between diploid and tetraploid cytotypes of *Libidibia ferrea* (= *Caesalpinia ferrea*) (Leguminosae): ecological and taxonomic implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 298, n. 7, p. 1371–1381, 2012.
- BORTOLUZZI, R. L. C.; BIONDO, E.; MIOTTO, S. T. S.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Abordagens taxonômicas e citogenéticas em Leguminosae-Caesalpinioideae na Região Sul do Brasil. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. 2, p. 339-341, 2007.
- CANNON, S. B.; MCKAIN, M. R.; HARKESS, A.; NELSON, M. N.; DASH, S.; DEYHOLOS, M. K.; PENG, Y.; JOYCE, B.; STEWART JR, C. N.; ROLF, M.; KUTCHAN, T.; TAN, X.; CHEN, C.; ZHANG, Y.; CARPENTER, E.; WONG, G. K.-S.; DOYLE, J. J.; LEEBENS-MACK, J. Multiple Polyploidy Events in the Early Radiation of Nodulating and Nonnodulating Legumes. **Molecular Biology and Evolution**, v. 32, n. 1, p. 193–210, 2014.
- CHOI, H. et al. Estimating genome conservation between crop and model legume species. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 101, n. 43, p. 15289-15294, 2004.
- CORBY, H.D.L.; SMITH, D.L.; SPRENT, J.I. Size, structure and nitrogen content of seeds of **Fabaceae** in relation to nodulation. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.167, p.51-280, 2011.
- CRAWFORD, D. J.; MORT, M. E.; ARCHIBALD, J. K. Biosystematics, chromosomes and molecular data: melding the old and the new. **Taxon**, v. 54, p. 285–289, 2005.

CUSTÓDIO, A. R.; SEIJO, G.; VALLS, J. F. M. Characterization of Brazilian accessions of wild *Arachis* species of section *Arachis* (Fabaceae) using heterochromatin detection and fluorescence in situ hybridization (FISH). **Genetics and Molecular Biology**, v. 36, n. 3, p. 364-370, 2013.

DA CRUZ SILVA, Eduardo; SILVA, Guilherme Sousa da; QUEIROZ, Rubens Texeira de; CONCEIÇÃO, Gonçalo Mendes da; OLIVEIRA, Regigláucia Rodrigues de. Fabaceae Lindl. de um fragmento vegetacional da Amazônia maranhense, Brasil. **Revista Brasileira de Geografia Física**. v. 17, n. 4, p. 2850-2863, 2024.

DAHMER, N.; SIMON, M. F.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; HUGHES, C. E.; MIOTTO, S. T. S.; GIULIANI, J. C. Chromosome numbers in the genus *Mimosa* L.: cytotaxonomic and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**.v. 291, p. 211–220, 2011.

DOYLE, J. J. **Polyploidy in Legumes**. In: SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E. (eds). Polyploidy and genome evolution. Springer, Berlin, 2012. 415p.

DOYLE, J. J.; LUCKOW, M. A. The rest of the iceberg: Legume diversity and evolution in a phylogenetic context. **Plant Physiology**, v. 131, p. 900-910, 2003.

DOYLE, J. J.; SHERMAN-BROYLES, S. Double trouble: taxonomy and definitions of polyploidy. **New Phytologist**, v. 213, p. 487-493, 2017.

DRYFLOR, K. B-R *et al.* Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. **Science**, v. 353, n. 6306, p. 1383-1387, 2016.

FELIX, C. M. P.; NEVES, J. A. L.; SILVA, R.; NASCIMENTO, R. G. S.; SILVA, R. T.; NOLLET, F.; CORDEIRO, J. M. P.; LUCENA, R. F. P.; FELIX, L. P. IAPT chromosome data 31/7. **Taxon**, v. 68, n. 6, p. 1374–1380, 2019.

FIGUEIREDO, M. F.; BRUNO, R. L. A.; BARROS E SILVA, A. E.; NASCIMENTO, S.; OLIVEIRA, I. G.; FELIX, L. P. Intraspecific and interspecific polyploidy of Brazilian species of the genus *Inga* (Leguminosae: Mimosoideae). **Genetics and Molecular Research**, v. 13, n. 2, p. 3395-3403, 2014.

FLORA DO BRASIL. Lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2025. Fabaceae in **Flora e Funga do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB115>>. Acesso em: 17 set. 2025

GOLDBLATT, P. **Cytology and the phylogeny of Leguminosae**. In Advances in Legume Systematics (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.). Royal Botanical Gardens, Kew, part 2, p.427-463, 1981.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, p. 339-350, 2008.

GUERRA, M. Cytotaxonomy: The end of childhood. **Plant Biosystems**, v. 146, n. 3, p. 703–710., 2012.

GUERRA, M. Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes. **Genetics and Molecular Biology**, v. 23, n. 4, p. 1029-1041, 2000.

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

LAVIN, M.; HERENDEEN, P. S.; WOJCIECHOWSKI, M. F. Evolutionary rates analysis of Leguminosae implicates a rapid diversification of lineages during the Tertiary. **Systematic Biology**, v. 54, p. 575-594, 2005.

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

LPWG. Legume Phylogeny Working Group. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. **Taxon**, v. 66, p. 44-77, 2017.

MATOS, L.P.; BARRETO, K. L.; CONCEIÇÃO, A. S.; QUEIROZ, L. P.; ANDRADE, M. J. G. Análise citogenética em 16 espécies dos gêneros *Senna* Mill. e *Cassia* L. (Leguminosae), com ênfase nas espécies ocorrentes na Bahia. **Anais...In: XV Semic - Seminário de Iniciação Científica**. Feira de Santana, Universidade Estadual de Feira de Santana. p. 114-117, 2011.

MORAES, A.P.; VATANPARAST, M.; POLIDO, C.A.; Marques, A.; SOUZA, L. G. R.; FORTUNA-PEREZ, A. P.; FORNI-MARTINS, E. Chromosome number evolution in dalbergioid legumes (Papilionoideae, Leguminosae). **Brazilian Journal of Botany**, v. 43, p. 575-587, 2020.

NARANJO, C. A.; POGGIO, L.; ZEIGER, S. E. Phenol chromatography morphology and cytogenetics in three species and natural hybrids of *Prosopis* (Leguminosae - Mimosoideae). **Plant Systematics and Evolution** v. 144, p. 255-276, 1984.

OLIVEIRA, I. G.; MORAES, A. P.; ALMEIDA, E. M.; ASSIS, F. N. M.; CABRAL, J. S.; BARROS, F.; FELIX, L. P. Chromosomal evolution in Pleurothallidinae (Orchidaceae: Epidendroideae) with an emphasis on the genus *Acianthera*: chromosome numbers and heterochromatin. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 178, p. 102-120, 2015.

OTTO, S. P.; WHITTON, J. Polyploid incidence and evolution. **Annual Review of Genetics**, v. 34, p. 401-437, 2000.

PEDROSA-HARAND, A; KAMI, J.; GEPTS, P.; GEFFROY, V.; SCHWEIZER, D. Cytogenetic mapping of common bean chromosomes reveals a less compartmentalized small-genome plant species. **Chromosome Research**, v. 17, p. 405-417, 2009.

POWO. *Plants of the World Online*. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. 2025. Disponível em: <https://powo.science.kew.org/>. Acesso em: 17 set. 2025.

QUEIROZ, L. P. **Leguminosas da Caatinga**. Feira de Santana: Universidade Estadual de Feira de Santana; Royal Botanic Gardens, Kew; Associação Plantas do Nordeste, 2009. 443p.

RESENDE, K. F. M.; PRADO, C.; DAVIDE, L.; TORRES, G. Polyploidy and apomixis in accessions of *Senna rugosa* (G.Don) H.S.Irwin & Barneby. **Turkish Journal of Biology**, v. 38, p. 510-515, 2014.

RIBEIRO, T.; SANTOS, K. G. B.; RICHARD, M. M. S.; SÉVIGNAC, M.; THAREAU, V.; GEFFROY, V.; PEDROSA-HARAND, A. Evolutionary dynamics of satellite DNA repeats from *Phaseolus* beans. **Protoplasma**, v. 254, n. 2, p. 791-801, 2017.

RICE, A.; GLICK, L.; ABADI, S.; EINHORN, M.; KOPELMAN, N. M.; SALMAN-MINKOV, A.; MAYZEL, J.; CHAY, O.; MAYROSE, I. The Chromosome Counts Database (CCDB) – a community resource of plant chromosome numbers. **New Phytologist**, v. 206, p. 19–26, 2015.

RIESEBERG, L. H. Hybrid origin of plant species. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 28, p. 359–389, 1997.

SANTOS, E. C. X. R.; CARVALHO, R.; ALMEIDA, E. M.; FELIX, L. P. Chromosome number variation and evolution in Neotropical Leguminosae (Mimosoideae) from northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 11, n. 3, p. 2451-2475, 2012.

SCHRIRE, B. D; LAVIN, M; LAWIS, G. P. Global distribution patterns of the Leguminosae: Insights from recent phylogenies. **Biol. Srk**, v. 55, p. 37422, 2005.

SEIJO, G. J.; LAVIA, G. I.; FERNANDEZ, A.; KRAPOVICKAS, A.; DUCASSE, D.; MOSCONE, E. A. Physical mapping of the 5S and 18S-25S rRNA genes by FISH as evidence that *Arachis duranensis* and *A. ipaensis* are the wild diploid progenitors of *A. hypogaea* (Leguminosae). **American Journal of Botany**, v. 91, p. 1294-1303, 2004.

SHAMURAILATPAM, A.; MADHAVAN, L.; YADAV, S. R.; BHAT, K. V.; RAO, S. R. Heterochromatin distribution and comparative karyo-morphological studies in *Vigna umbellata* Thunberg, 1969 and *V. aconitifolia* Jacquin, 1969 (Fabaceae) accessions. **Comparative Cytogenetics**, v. 9, n. 1, p. 119–132, 2015.

SHARMA, A. K.; RAJU, D. T. Structure and behaviour of chromosomes in *Bauhinia* and allied genera. **Cytologia**, v. 33, p. 411-426, 1968.

SHE, C. W. et al. Molecular cytogenetic characterization and phylogenetic analysis of the seven cultivated *Vigna* species (Fabaceae). **Plant Biology**, v. 17, p. 268-280, 2015.

SHIBATA, K. Cytological studies on some wild and cultivated plants of Colômbia. II. Species of Mimosaceae and Galegeae. **Japanese Journal of Genetics**, v. 37, p. 410, 1962.

SILVA, S. C.; MARTINS, M. I. G.; SANTOS, R. C.; PEÑALOZA, A. P. S.; MELO FILHO, P. A.; BENKO-ISEPPON, A. M.; VALLS, J. F. M.; CARVALHO, R. Karyological features and banding patterns in *Arachis* species belonging to the Heteranthae section. **Plant Systematics and Evolution**, v. 285, p. 201–207, 2010.

SOLTIS, P. S.; SOLTIS, D. E. The role of hybridization in plant speciation. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 561-588, 2009.

SOUSA, SAULO; REIS, ARYANE; VICCINI, LYDERSON. Polyploidy, B chromosomes, and heterochromatin characterization of *Mimosa caesalpiniiifolia* Benth. (Fabaceae-Mimosoideae). **Tree Genetics & Genomes**, v. 9, p. 1-7, 2012.

SOUZA, L. G. R.; CROSA, O.; SPERANZA, P.; GUERRA, M. Cytogenetic and molecular evidence suggest multiple origins and geographical parthenogenesis in *Nothoscordum gracile* (Alliaceae). **Annals of Botany**, v. 109, p. 987–999, 2012.

STACE, C. A. Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20st and 21st centuries. **Taxon**, v.49, p.451-476, 2000.

TANG, Y. M. et al. Molecular cytogenetic characterization and phylogenetic analysis of four *Miscanthus* species (Poaceae). **Comparative Cytogenetics**, v. 13, n. 3, p. 211-230, 2019.

WOJCIECHOWSKI, M. F.; LAVIN, M.; SANDERSON, M. J. A phylogeny of legumes (Leguminosae) based an analysis of the plastid *marK* gene resolves many well supported subclades within the family. **American Journal of Botany**, v. 91, n. 11, p. 1846-1862, 2004.

YAHARA, *et al.* Global legume diversity assessment: Concepts, key indicators, and strategies. **Taxon**, v. 62, p. 249–266, 2013.

ZHAO, Y.; ZHANG, R.; JIANG, K.; QI, J.; HU, Y.; GUO, J.; ZHU, R.; ZHANG, T.; EGAN, A.; YI, T.; HUANG, C.; MA, H. Nuclear phylotranscriptomics/phylogenomics support numerous polyploidization events and hypotheses for the evolution of rhizobial nitrogen-fixing symbiosis in Fabaceae. **Molecular Plant**, v. 14, n. 5, p. 748-773, 2021.