

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



Andréa Macêdo Corrêa

ESTUDOS CROMOSSÔMICOS EM ESPÉCIES DE RUBIACEAE (A. L. de Jussieu) DE CERRADO

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato (a) Andréa Macêdo Corrêa e aprovada pela Comissão Julgadora.

Eliana R Forni Martins

Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profª. Drª. Eliana Regina Forni-Martins

UNICAMP BIBLIOTECA CENTRAL SEÇÃO CIRCULANTE

2003

UNIDADE	30
Nº CHAMADA	UNICAMP 08120
V	EX
TOMBO BC	53349
PROC.	124103
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	29/04/03
Nº CPD	

CM00182203-7

BIB D 288026

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

C817e **Corrêa, Andréa Macêdo**
Estudos cromossômicos em espécies de Rubiaceae (A.L. de Jussieu) de cerrado/Andréa Macedo Corrêa.--
Campinas, SP: [s.n], 2003.

Orientadora: Eliana Regina Forni-Martins

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia

1.Rubiaceae. 2.Citotaxonomia das plantas. 3.Cromossomos. 4.Cariótipos.
I.Forni-Martins, Eliana Regina. II.Universidade Estadual de Campinas.

Instituto
de Biologia. III.Título.

Campinas, 17 de Fevereiro de 2003

BANCA EXAMINADORA

Dr^a. Eliana Regina Forni-Martins



Dr^a. Neiva Izabel Pierozzi



Dr^a. Sigrid Luiza Jung Mendaçolli



Dr^a. Ana Maria Goulart de Azevedo Tozzi

10/02/2003

**Aos meus pais, Aracilda e
Augusto, aos meus irmãos
Araceli e Junior, e meu marido
Emerson.**

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi concluído graças ao apoio e a dedicação de várias pessoas, que contribuíram direta ou indiretamente para sua realização. Dentre essas pessoas, faço um agradecimento especial:

À Deus

À Universidade Estadual de Campinas em especial ao Departamento de Botânica pela oportunidade na realização desse trabalho.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico - CNPq pela concessão da Bolsa de estudos e a Fundação de Amparo a Ensino e Pesquisa da Unicamp pelo apoio financeiro.

À Prof^a. Dr^a. Eliana Regina Forni-Martins, pela confiança, orientação, apoio, e paciência para comigo.

Aos Professores do Departamento, em especial a Profa. Sandra Maria Carmelo Guerreiro, pelo importante auxílio.

Às pesquisadoras Dr^a. Sigrid Luiza Jung Mendaçolli e Dr^a. Neiva Izabel Pierozzi, pelo auxílio e importantes críticas e sugestões ao trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Botânica, em especial à técnica Iara.

Aos colegas de laboratório, Julia, Cristiano, Mariana, Itayguara e Carla, pelo companheirismo, amizade e opiniões compartilhadas.

À todos os colegas de pós-graduação pela saudável convivência.

SUMÁRIO

Resumo	01
Abstract	02
Introdução.....	03
Material e Métodos.....	16
Áreas de coleta.....	16
Identificação Botânica	18
<hr/>	
Estudos Cromossômicos	22
Resultados.....	25
Discussão.....	33
Análises cariotípicas.....	33
Subfamília Ixoroideae	36
Subfamília Rubioideae.....	40
Considerações Evolutivas.....	48
Conclusões.....	52
Referências Bibliográficas.....	54

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Espécies de Rubiaceae analisadas, com informações sobre o hábito das plantas, respectivos locais de coleta e dados do coletor	19
Tabela 2. Número cromossômico e características cariotípicas das espécies de Rubiaceae estudadas	27
Tabela 3. Números cromossômicos de espécies de Rubiaceae, segundo a literatura disponível	44

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa com a localização das áreas de cerrado utilizadas para coletas	17
Figura 2. Caracteres reprodutivos de representantes da subfamília Ixoroideae	20
Figura 3. Caracteres reprodutivos de representantes da subfamília Rubioideae	21
Figura 4. Cromossomos de espécies de Rubiaceae da subfamília Ixoroideae	28
Figura 5. Cromossomos de espécies de Rubiaceae da subfamília Rubioideae	29
Figura 6. Cromossomos de espécies de Rubiaceae da subfamília Rubioideae	30
Figura 7. Ideograma das espécies da subfamília Ixoroideae	31
Figura 8. Ideograma das espécies da subfamília Rubioideae	32

RESUMO

A família Rubiaceae é composta por plantas de hábito variado e representa a quarta maior família de Angiospermas, com cerca de 10.700 espécies; é cosmopolita e apresenta grande riqueza de espécies no Cerrado brasileiro. Objetivando ampliar o conhecimento cromossômico da família, foi realizado um estudo com 14 espécies pertencentes a duas das subfamílias do grupo, coletadas em áreas de Cerrado no estado de São Paulo (Assis, Campinas, Itirapina, Mogi-Guaçu e Mogi-Mirim) e Mato Grosso do Sul (Três Lagoas). Na subfamília Ixoroideae, cinco espécies apresentaram número cromossômico $2n = 22$ (*Alibertia concolor*, *A. edulis*, *A. sessilis*, *Genipa americana* e *Tocoyena formosa*), e uma apresentou poliploidia, com $2n = 66$ (*Amaioua intermedia*). No entanto, todos são números múltiplos do número básico mais comum da família, $x = 11$. Por outro lado, as espécies pertencentes a subfamília Rubioideae exibiram variações entre as tribos e gêneros, observando-se os números $2n = 20$ (*Coccocypselum lanceolatum*), $2n = 22$ (*Psychotria hoffmannseggiana*) ou $n = 11$ (*Coussarea hydrangeifolia* e *Palicourea rigida*), $2n = 28$ (*Borreria latifolia*, *Borreria verticillata* e *Richardia brasiliensis*) e $2n = 32$ (*Psychotria deflexa*). Foram elaborados os cariótipos de 12 espécies, sendo todos inéditos (à exceção de *Genipa americana*), assim como a maioria dos números cromossômicos. O tamanho dos cromossomos variou entre 7,33 μm e 1,26 μm . Os cromossomos são em sua maioria metacêntricos e os cariótipos são simétricos (TF% variando de 47,45 a 38,01). Sugere-se que a maior constância de números cromossômicos em relação ao número básico $x = 11$ seja um apoio à proposta de que a tribo Ixoroideae seja mais basal na família, ao contrário do que ocorre em Rubioideae, apontada como sendo mais derivada com base em caracteres morfológicos.

ABSTRACT

The Rubiaceae family is composed by plants of varied habit and represents the fourth largest family of Angiospermas, with around 10.700 species. The family is cosmopolitan and presents great diversity of species in the Brazilian Cerrado. Aiming to increase the knowledge on the karyotypic characteristics of the family, a cytological study was carried out with 14 species belonging to two of the four subfamilies of the group, collected in areas of Cerrado in the state of São Paulo (Assis, Campinas, Itirapina, Mogi-Guaçu and Mogi-Mirim) and state of Mato Grosso do Sul (Três Lagoas). In the subfamily Ixoroideae, five species presented the chromosome number $2n = 22$ (*Alibertia concolor*, *A. edulis*, *A. sessilis*, *Genipa americana* and *Tocoyena formosa*), and one presented polyploidy, with $2n = 66$ (*Amaioua intermedia*). However, all are multiple numbers of the basic number more common of the family, $x = 11$. On the other hand, the belonging species of the subfamily Rubioideae exhibited variations between the tribes and genera, being observed the numbers $2n = 20$ (*Coccocypselum lanceolatum*), $2n = 22$ (*Psychotria hoffmannseggiana*) or $n = 11$ (*Coussarea hydrangeifolia* and *Palicourea rigida*), $2n = 28$ (*Borreria latifolia*, *Borreria verticillata* and *Richardia brasiliensis*) and $2n = 32$ (*Psychotria deflexa*). Karyotypes of 12 species were elaborated, being all (except *Genipa americana*) the first documentation on literature. The size of the chromosomes varied between (7,33 μm and 1,26 μm). The chromosomes are in their majority metacentric and the idiograms are symmetrical (TF% varying from 47,45 to 38,01). We suggest that the largest constancy of chromosomes numbers in relation to the basic number $x = 11$ are a support to the hypothesis that the tribe Ixoroideae is more basal in the family, contrasting with Rubioideae, considered the most derived subfamily of Rubiaceae with base not only in morphological characters, but also on karyotypic data presented in this study.

INTRODUÇÃO

A família Rubiaceae pertence à Ordem Gentianales, que é enquadrada por JUDD *et al.* (1999) no subgrupo Euasteride I do grupo Asteride, no clado das Eudicotiledôneas. Compreende cerca de 637 gêneros e aproximadamente 10.700 espécies, sendo a quarta maior dentre as angiospermas (ROBBRECHT, 1988). É composta por plantas de hábito muito variado, desde ervas, arbustos, árvores até trepadeiras; apresentam filotaxia simples oposta ou verticilada, sempre com estípulas muito características; as flores, em sua maioria, são actinomorfas e hermafroditas e os frutos podem variar de drupáceo a seco capsular (JOLY, 1975).

São plantas cosmopolitas, porém com maior diversidade em regiões tropicais e sub-tropicais (JUDD *et al.*, 1999). A família destaca-se ainda por apresentar espécies de considerável expressão econômica, como o café (*C. arabica* e *C. canephora*), um dos gêneros mais estudados; há também espécies de interesse farmacológico, como algumas do gênero *Cinchona sp.* que apresentam quinino em sua casca, alcalóide utilizado no tratamento da malária (HARTEN, 1976), Destacam-se também espécies empregadas na ornamentação e paisagismo, como no gênero *Gardenia* e *Ixora*. Algumas ainda são utilizadas na alimentação, como é o caso da *Genipa americana*, conhecida como jenipapo, cujo fruto é utilizado na preparação de doce e licor (ZAPPI *et al.*, 1995).

A família é uma das mais bem representadas em levantamentos florísticos e fitossociológicos de formações vegetacionais brasileiras, principalmente quando são incluídos indivíduos arbustivos e subarbustivos na amostragem (SALIS *et al.*, 1996). No caso do Cerrado, está sempre presente entre as famílias com maior

riqueza específica (GIANNOTTI & LEITÃO FILHO, 1992; MANTOVANI & MARTINS, 1993; CASTRO *et al.*, 1999; DURIGAN, 1999) e em florestas semi-decíduas do sudeste também é muito bem representada (Rodrigues & Nave, 2000 *apud* GIANNOTTI & LEITÃO-FILHO, 2000).

De acordo com a taxonomia convencional, a família Rubiaceae é subdividida em quatro subfamílias, que são Cinchonoideae, com nove tribos e 83 gêneros; Ixoroideae, com duas tribos e 16 gêneros; Antirheoideae, com quatro tribos e 23 gêneros, e Rubioideae, com 12 tribos e 69 gêneros. Existem ainda tribos e gêneros com posição incerta dentro da família (ROBBRECHT, 1988).

O reconhecimento das subfamílias tem sido baseado em características simples, como: um óvulo ou vários, no sistema clássico usado por Hooker (1873 *apud* JUDD, 1999) e por SCHUMANN (1891); pela presença ou não de ráfides, bem como endosperma abundante e/ou endosperma quase ausente ou ausente no mais recente sistema de classificação, usado por Bremekamp (1952 *apud* JUDD, 1999) e por VERDCOURT (1958). Para JUDD *et al.* (1999), a família Rubiaceae pertence a um grupo monofilético baseado na presença de estípulas, apresentando também a maioria das espécies com heterodistília dentro das Angiospermas. De fato, investigações da cladística e características morfológicas (Bremer & Struwe, 1992 *apud* JUDD, 1999), de sítios de cpDNA (Bremer & Jansen, 1991 *apud* JUDD, 1999), e seqüências rbcl (Bremer *et al.*, 1995 *apud* JUDD, 1999) evidenciaram a família Rubiaceae como um grupo reconhecidamente monofilético.

Tendo por base características moleculares, JUDD *et al.* (1999) dividem a família em três subfamílias. A subfamília *Ixoroideae* é caracterizada por apresentar

flores com corola contorcida e um mecanismo de polinização especializado, semelhante ao sistema existente em Asterales. A subfamília *Rubioideae*, que contém a maioria das espécies da família, é usualmente definida pela combinação entre a presença de ráfides e pré-floração da corola valvada, ou seja, a flor tubular apresenta a parte superior, dividida em lobos separados; alguns membros desse grupo podem apresentar numerosos óvulos, ou apenas um óvulo por lóculo. A terceira subfamília, *Cinchonoideae*, apresenta ovário multiovulado e endosperma abundante, grandes cristais de ráfide, e sementes que apresentam a cobertura dorsal com depressões. A monofilia dessa última subfamília não está bem suportada pela cladística e apresenta ainda algumas tribos e gêneros com posição inserta na família, que merecem ser mais estudados, afim de esclarecer estas dúvidas.

A família Rubiaceae tem considerável representação no cerrado brasileiro, sendo encontrados 25 gêneros nesse tipo de vegetação (CASTRO *et al.*, 1999). De acordo com os mesmos autores, nas áreas de cerrado ocorrentes no estado de São Paulo, foram encontrados 19 gêneros e um total de 34 espécies pertencentes à família. Os gêneros de Rubiaceae representados no cerrado por maior número de espécies são *Alibertia* e *Psychotria*, seguidos de *Borreria*.

No Brasil o cerrado ocupava cerca de dois milhões de quilômetros quadrados, ou seja, entre 20 a 25% de sua área total (FERRI, 1977), constituindo uma vegetação bastante peculiar, que se apresenta em ordem crescente de biomassa como campo sujo, campo cerrado, cerrado e cerradão, sendo as três primeiras formações campestres e a última uma formação florestal (COUTINHO, 1990). Podemos descrever essa vegetação como constituída por dois grupos

essencialmente opostos: o das lenhosas permanentes, que reúne todas as árvores e muitos arbustos, e o das efêmeras, que compreende inúmeras plantas herbáceas. A vegetação do cerrado é constituída por árvores e arbustos de galhos tortuosos, que possuem cascas grossas, folhas coriáceas, de superfícies brilhantes, como envernizadas, ou revestidas por uma espessa camada de pêlos ou escamas (FERRI, 1977). A flora é bastante diversificada, apontando a existência de algumas centenas de espécies, conforme RIZZINI (1963) e HERINGER *et al.* (1977). Não obstante, CASTRO *et al.* (1999), após compilação de 145 levantamentos florísticos em 78 áreas de cerrado em todo o Brasil, feitas as devidas sinonimizções específicas e considerações sobre dificuldades de identificação taxonômica de diversas espécies, apontaram a existência de cerca de 1000 a 2000 espécies arbustivo-arbóreas e 2000 a 6000 espécies herbáceas.

No que se refere à distribuição, o cerrado ocorre principalmente nos estados de Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Roraima, Minas Gerais e Piauí, e como pequenas áreas descontínuas nos estados do Paraná, São Paulo e nas regiões Norte e Nordeste (CASTRO *et al.*, 1999).

Devido a sua localização, o cerrado compartilha espécimes com a maioria dos biomas brasileiros (floresta amazônica, caatinga e floresta atlântica), possuindo dessa forma, uma biodiversidade comparável à da floresta amazônica. Contudo, em função do alto grau de endemismo, cerca de 45 % de suas espécies são exclusivas de algumas regiões, e devido à ocupação desordenada e destrutiva de sua área, o cerrado é hoje o ecossistema brasileiro que mais sofre agressões por parte do desenvolvimento (MACHADO *et al.*, 1995). De fato, da extensa e contínua cobertura vegetal nativa do estado de São Paulo restam

apenas áreas fragmentadas, distanciadas entre si. Dentre os 247.898 km² da área do estado (PAUWELS, 1985), cerca de 41.000 km² ou 16,5% correspondem, à área de cerrados (Sanchez *et al.*, 1974 *apud* AOKI, 1982). Não obstante, BORGONOVI & CHIARINI (1965), indicaram que, em 1962, a área ocupada por cerrado no estado era de 15,4%, dos quais, segundo SERRA FILHO *et al.* (1974) sobraram somente 4,36%, em 1973, o que demonstra a grande devastação que esse tipo de vegetação vem sofrendo.

Em São Paulo, o cerrado ocorre, principalmente, na região centro-norte do estado, interrompido por outras fisionomias de vegetação em diversos pontos, como nas proximidades de Campinas, Ribeirão Preto, Franca e Altinópolis. No sul do estado também ocorrem áreas restritas da vegetação, particularmente nos municípios de Itapetininga, Angatuba e Itapeva (TOLEDO FILHO, 1984). Para a região de Bauru, são raros os dados disponíveis sobre a distribuição da vegetação nativa (CAVASSAN, 1990). Segundo dados de VELOSO (1948, 1966), o cerrado na região de Bauru encontrava-se, na época do levantamento, isolado e circundado por florestas consideradas de transição. Todas as formas fisionômicas do cerrado podem ser encontradas numa mesma região, como em Itirapina, em uma área de reserva com cobertura natural que apresenta campos sujo, campo cerrado, cerrado e cerradão (PINHEIRO *et al.*, 1976). EITEN (1963), em um estudo do cerrado da Reserva Biológica de Mogi Guaçu, apresentou uma lista parcial de espécies ocorrentes na área, citando 237 espécies lenhosas e herbáceas. FERRI (1969) discorreu sobre 100 espécies comuns em cerrados, em trabalho baseado particularmente em espécies típicas do cerrado de Emas, no estado de São Paulo. A Estação Ecológica de Assis constitui um dos últimos

remanescentes do ecossistema original que recobria a região Oeste do estado de São Paulo, e sua vegetação enquadra-se no tipo cerrado, estando na zona limítrofe sul do grande domínio dos cerrados do Brasil (DURIGAN, 1999). O levantamento florístico da região apontou a existência de 18 espécies de Rubiaceae, entre árvores, arbustos, ervas e trepadeiras (DURIGAN, 1999).

Para um melhor entendimento das espécies vegetais, e subsidiar a análise do posicionamento taxonômico destas nos grupos em que estão contidas, estudos biosistemáticos envolvendo observações de campo, juntamente com análises laboratoriais com diferentes enfoques, como por exemplo, o conhecimento dos cromossomos das espécies são essenciais e importantes.

A Citotaxonomia é o estudo das características estruturais e numéricas dos cromossomos (STACE, 1989). Dos parâmetros citotaxonômicos, o número cromossômico é o mais amplamente conhecido para um grande número de taxa e, portanto, o mais utilizado como subsídio a estudos taxonômicos e evolutivos. Outros caracteres também são utilizados, como a morfologia e o tamanho dos cromossomos, o conteúdo de DNA nuclear, a estrutura do núcleo interfásico, padrões de bandamento ou a hibridização *in situ*, que podem complementar a análise citotaxonômica inicial, baseada no número cromossômico (GUERRA, 1988).

A variação no número cromossômico é de grande valia, sendo muito útil na verificação da integridade de uma espécie ou no reconhecimento de espécies distintas a partir de um grupo com grande variabilidade morfológica, ou fisiológica, ou distribuição geográfica (PIEROZZI & MENAÇOLLI, 1997 e BORTOLETI, 2002).

A utilidade da comparação de números cromossômicos pode ser ilustrada no gênero *Genipa* (Rubiaceae). ZAPPI *et al.* (1995), descreveram uma nova espécie, *Genipa infundibuliformis*, a partir de indivíduos inicialmente classificados como *Genipa americana*. As espécies foram distintas em função de diferenças morfológicas e de estudos citogenéticos em desenvolvimento na época, que apontavam números cromossômicos diferentes em plantas tratadas como *Genipa americana* (GIBBS & INGRAM, 1982; GUERRA, 1986; PIEROZZI & DA CRUZ, 1988). O trabalho realizado por PIEROZZI & MENAÇOLLI (1997) corroborou a separação de duas espécies de *Genipa* L., constatando-se $2n = 22$ em *G. americana* e $2n = 20$ em *G. infundibuliformis*. Também foram verificadas diferenças do padrão de bandas C entre as espécies.

Alguns autores como GUERRA (1988), STACE (1989) e SUZUKI *et al.* (1989), concordam que a variação cromossômica pode surgir de diferentes maneiras, mas suas conseqüências evolutivas estão relacionadas à multiplicação do grupo haplóide (poliploidia) e/ou aumento ou diminuição do número cromossômico original (disploidia). Também podem ocorrer alterações estruturais, com variações no tamanho cromossômico, na posição do centrômero, na quantidade de DNA, que pode ser perdido ou duplicado, na quantidade de heterocromatina, sendo estas alterações estruturais melhor toleradas pelo organismo do que as numéricas (GUERRA, 1988).

Várias técnicas têm sido usadas na análise das mais diversas características cromossômicas. São encontrados na literatura vários exemplos de estudos bem sucedidos em citogenética e citotaxonomia vegetal. Em nosso país, estão disponíveis estudos cromossômicos sobre vários grupos taxonômicos

distintos, como Leguminosae em geral (BANDEL, 1974; COLEMAN & DE MENEZES, 1980; FORNI-MARTINS, 1984), e alguns de seus gêneros, como *Sesbania* (FORNI-MARTINS & GUERRA, 1999), e *Machaerium* (MENDONÇA-FILHO *et al.*, 2002). Há outras famílias com diversas espécies estudadas, como Sapindaceae (LOMBELLO & FORNI-MARTINS, 1998), Malpighiaceae (LOMBELLO & FORNI-MARTINS, 2001, 2002a, 2002b), Asteraceae (MANSANARES *et al.*, 2000), Alismataceae (COSTA, 2002), Cyperaceae (LUCENO *et al.*, 1998; VANZELA & GUERRA, 2000) e Orchidaceae (FÉLIX & GUERRA, 1999).

Quanto à família Rubiaceae, os trabalhos estão concentrados no gênero *Coffea*, que vem sendo estudado do ponto de vista citogenético há vários anos, com muitos resultados de caracterização cariotípica mediante a análise de cromossomos mitóticos (KRUG, 1934) e meióticos em paquíteno (PINTO-MAGLIO & CRUZ, 1988), com coloração convencional. Há também estudos cariotípicos utilizando técnicas de bandamentos convencionais (PIEROZZI *et al.*, 1999) e fluorocromos (PINTO-MAGLIO *et al.*, 2000).

No Brasil, também há vários estudos abordando plantas de uma determinada região, porém sem se referir a um tipo de formação vegetacional em particular. Assim, podem ser mencionados estudos cromossômicos em plantas dos estados de Pernambuco (GUERRA, 1986; SOARES *et al.*, 1988; BELTRÃO & GUERRA, 1990; CARVALHEIRA *et al.*, 1991), do Ceará (ALVES & CUSTÓDIO, 1989) e de São Paulo (COLEMAN, 1982).

Mais recentemente, vêm sendo desenvolvidos estudos cariológicos em plantas de determinadas formações vegetacionais, como campos rupestres do

estado de Minas Gerais (BENKO-ISEPPON, 1994). FORNI-MARTINS *et al.* (1995) e FORNI-MARTINS & MARTINS (2000) estudaram dezenas de espécies de cerrado do ponto de vista cromossômico, pertencentes a grande número de famílias botânicas. Diversos gêneros e espécies tiveram seus números cromossômicos apresentados de forma inédita na literatura. Observou-se grande variação no número cromossômico das espécies, com relatos de $2n = 16$ em *Xylopia aromatica* e *Styrax ferrugineus*, até $2n = ca. 270$ em *Eriotheca gracilipes*.

Outras informações sobre cromossomos de plantas de cerrado, são encontradas de forma dispersa na literatura, e bastante escassas. GIBBS & INGRAN (1982) apresentaram números cromossômicos para 18 espécies do sudeste brasileiro, sendo apenas uma espécie típica do cerrado (*Magonia pubescens*).

No trabalho de MORAWETZ (1986), desenvolvido com espécies de dois gêneros de Annonaceae, amostrando seis espécies, apenas três ocorrem no cerrado. Em 1986, o mesmo autor apresentou informações cariológicas para 102 espécies lenhosas tropicais, sendo uma pequena fração dessas espécies, coletadas no cerrado, na região de Brasília e Botucatu. Em uma análise cariológica de cinco espécies sul-americanas feita por EHRENDORFER *et al.* (1984), somente uma é típica do cerrado (*Caryocar brasiliense*), e em outro estudo realizado por BANDEL (1974), que se dedicou à determinação do número cromossômico de Leguminosae, dentre as 42 espécies analisadas, cerca de 1/3 são típicas do cerrado.

O presente trabalho vem dar seqüência ao estudo de cromossomos de plantas ocorrentes no estado de São Paulo, abordando inicialmente a flora do

cerrado que é bastante diversificada, sendo, para tanto, escolhida a família Rubiaceae, que apresenta um número grande de espécies, pouco conhecidas no que se refere a estudos cariológicos.

O presente estudo justifica-se ainda, pelo fato de que, das espécies de Rubiaceae de cerrado encontradas no estado de São Paulo, apenas quatro têm seu número cromossômico conhecido: *Alibertia sessilis* ($2n = 22$, FORNI-MARTINS *et al.*, 1989), *Diodia teres* ($2n = 28$, Jinno, 1956 *in* BOLKHOVSKIKH *et al.*, 1969), *Psychotria sp.* ($2n = 40$, Hellmayr *et al.*, 1994 *in* GOLDBLATT & JOHNSON, 1994), *Psychotria hoffmannseggiana* ($2n = 22$, PINTO-MAGLIO *et al.*, 1997) e *Tocoyena formosa* ($n = 11$, COLEMAN, 1982). De fato, estudos realizados em inúmeras espécies de Rubiaceae demonstram que esta família apresenta número cromossômico relativamente baixo, como pode ser observado na maioria das espécies de *Coffea*, que apresentam $2n = 22$, à exceção de *C. arabica*, com $2n = 44$. Existem, no entanto, exceções como *Psychotria mahonii*, com $2n = 132$ (KIEHN, 1985). Os registros indicam que o número básico da família seja $n = 11$ (KIEHN, 1985) e que as espécies de cerrado em particular, apresentam cromossomos muito pequenos.

Nesse trabalho foram analisadas 14 espécies da Família Rubiaceae, encontradas em áreas de Cerrado, principalmente no estado de São Paulo. Uma das espécie foi coletada no estado de Mato Grosso do Sul, na fronteira com o estado de São Paulo. Essas análises enfocaram a caracterização cariotípica convencional das espécies, objetivando subsidiar futuros estudos taxonômicos e evolutivos nesse grupo de plantas.

As principais características das duas subfamílias estudadas nesse trabalho são apresentadas de acordo com a classificação de ROBBRECHT (1988):

Subfamília *Ixoroideae* Raf.

Plantas lenhosas, estípulas quase sempre inteiras (fimbriada em *Rutidea* sp.), ausência de ráfides, exceto em *Argocoffeopsis* sp., flores freqüentemente unissexuais, lobos da corola retorcidos na pré-floração, placenta quase sempre plurióvulada, algumas vezes com um ou poucos óvulos, número variado de sementes, frutos carnosos, apresentação secundária do pólen, e anteras que na maioria das vezes apresentam abertura longitudinal, e o pólen apresenta normalmente três poros.

Tribo *Gardenieae* A. Rich. ex DC.

Plantas lenhosas, estípulas interpeciolares inteiras, lobos da corola contorcidos para a esquerda, raramente para a direita; ocorre apresentação secundária do pólen.

Subfamília *Rubioideae*

Plantas lenhosas ou herbáceas, estípulas freqüentemente bífidas ou fimbriadas, presença de ráfides, pré-floração da corola quase sempre valvada, raramente imbricada ou contorcida, placenta plurióvulada ou com um simples óvulo ereto, raramente dois, com número variado de sementes, frutos secos ou carnosos, heterodistilia muito comum, pólen com número variado de poros.

Tribo *Coccocypseleae* Bremek.

Ervas rastejantes, estípulas inteiras, presença de ráfides, inflorescência terminal, pré-floração da corola valvar, ovário bilocular, placenta axilar com muitos óvulos, frutos carnosos, flores freqüentemente heterostílicas e pólen com três poros.

Tribo *Coussareeae* Hook. f.

Arbustos ou árvores, estípulas interpeciolares inteiras, presença de ráfides, inflorescência terminal, pré-floração da corola valvar, ovário bilocular, com apenas um óvulo ereto em cada lóculo, septos delgados ou incompletos, desaparecendo ainda quando jovem, frutos mais ou menos carnosos, flores freqüentemente heterostílicas, pólen com dois a quatro poros.

Tribo *Psychotrieae* A. Rich. ex Dum.

Arbustos ou árvores, raramente ervas, estípulas intra ou interpeciolares, quase sempre divididas, raramente inteiras, presença de ráfides, inflorescência terminal, raramente axilares ou nos nódulos, pré-floração da corola valvar, raramente imbricados, ovário com dois a cinco lóculos, com um óvulo ereto em cada lóculo, frutos carnosos, flores freqüentemente heterostílicas, pólen muito variado apresentando nenhuma a cinco aberturas.

Tribo *Spermacoaceae* A. Rich. ex DC.

Plantas herbáceas, raramente arbóreas, estípulas interpeciolares fimbriadas, presença de ráfides, inflorescência terminal ou axilar dupla nas gemas,

pré-floração da corola valvar, ovário com dois, cinco ou seis lóculos, e um óvulo ereto em cada lóculo, fruto seco, deiscente, sementes com sulcos aparentes na superfície adaxial, flores freqüentemente heterostílicas, pólen com um, três ou muitos poros.

MATERIAL E MÉTODOS

A) Áreas de coleta

As espécies de Rubiaceae utilizadas no estudo cromossômico foram coletadas em regiões de Cerrado no estado de São Paulo, em áreas de preservação ambiental como: Estações Experimentais e Ecológicas de Assis (22°33'-36'S e 50°22'-23'W) e Itirapina (47°49'S e 22°15'W), Reserva Biológica e Estação Experimental de Mogi-Guaçu - Fazenda Campininha (22°15'-16'S e 47°08'-12'W), Estação Experimental de Mogi-Mirim e uma área perturbada do Instituto Agrônomo de Campinas, Fazenda Santa Eliza, em Campinas (22°54'S e 47°03'W). Uma espécie foi coletada em uma região de cerrado no estado de Mato Grosso do Sul, Três Lagoas (20°41'- 46'S e 51°40'- 54'W), localizada na divisa com o estado de São Paulo, para comparação com o material coletado nesse estado.

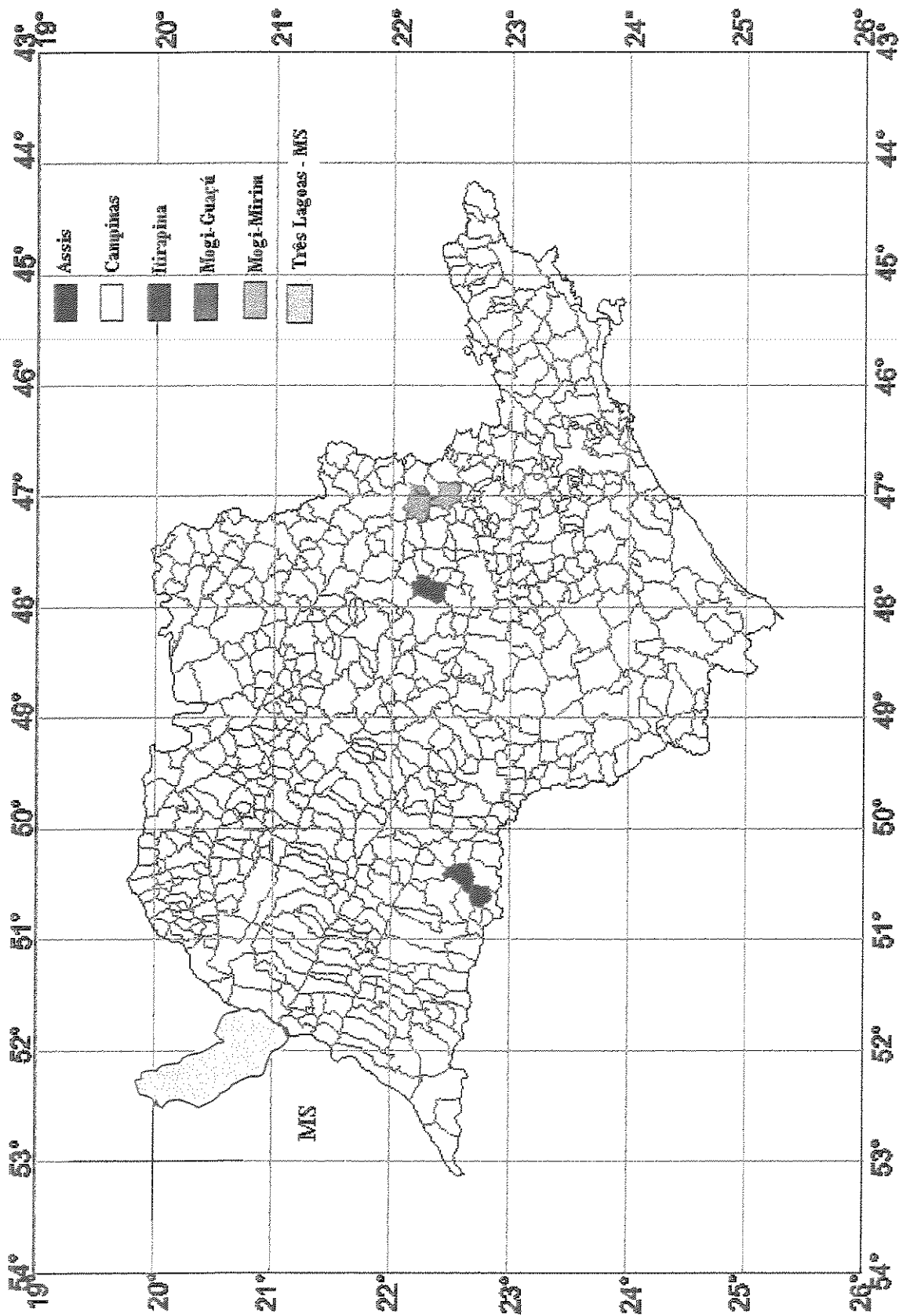


Figura 1 - Mapa com a localização das áreas de cerrado utilizadas para coleta.

B) Identificação botânica

Foram coletados e herborizados ramos com estruturas vegetativas e reprodutivas de indivíduos de todas as espécies incluídas no estudo cromossômico, seguindo técnicas usuais (Tabela 1). O material testemunho de todas as espécies foi depositado no Herbário UEC (Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, UNICAMP).

As espécies coletadas foram fotografadas ainda no campo (Figuras 2 e 3), e feitas observações de características morfológicas, hábito, tamanho dos indivíduos, características de flores, inflorescências e frutos, bem como a cor desses, que se mostraram muito atraentes (Figuras 2 e 3).

A identificação desses materiais foi feita através de comparação com material de herbário e com a colaboração da Pesquisadora-Científica Dr^a Sigrid Luiza Jung Mendaçolli, do Instituto Agrônomo de Campinas, especialista na Família Rubiaceae. Para espécies de *Alibertia sp.* contou-se com a colaboração da Pesquisadora Elizete A. Anunciação, do Instituto de Botânica de São Paulo, e para as espécies de *Borreria*, com o auxílio da Pesquisadora Elza Cabral, do Instituto de Botânica Del Nordeste, em Corrientes, Argentina.

Tabela 1 – Espécies de Rubiaceae analisadas, com informações sobre o hábito das plantas, respectivos locais de coleta e dados do coletor; ab = arbusto; av = árvore; e = erva; er = erva rastejante.

Subfamília / Tribo	Espécie	Hábito	Local de coleta	Coletor	Nº de coleta
IXOROIDEAE					
Gardenieae	<i>Alibertia concolor</i> (Cham.) K. Schum.	ab	Assis	Corrêa & Silva	02/64
	<i>Alibertia edulis</i> (Rich.) A. Rich. ex DC	ab	Mogi-Guaçu	Corrêa & Silva	02/50
	<i>Alibertia sessilis</i> (Vell.) K. Schum.	av	Assis	Corrêa & Silva	01/38
	<i>Amaioua intermedia</i> Mart.	av	Itirapina	Corrêa & Silva	02/60
	<i>Genipa americana</i> L.	av	Três Lagoas	Corrêa & Silva	01/30
	<i>Tocoyena formosa</i> (Cham.&Schltdl.) K. Schum.	av	Campinas	Corrêa & Silva	02/68
RUBIOIDEAE					
Coccocypseleae	<i>Coccocypselum lanceolatum</i> (Ruiz & Pav.) Pers.	er	Mogi-Guaçu	Corrêa & Silva	01/14
Coussareeae	<i>Coussarea hydrangeifolia</i> (Benth.) Müll. Arg.	av	Mogi-Guaçu	Corrêa & Silva	01/15
Psychotrieae	<i>Palicourea rigida</i> Kunth.	ab	Assis	Corrêa & Silva	01/20
	<i>Psychotria deflexa</i> DC.	ab	Mogi-Guaçu	Corrêa & Silva	02/48
	<i>Psychotria hoffmannseggiana</i> (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg.	ab	Mogi-Mirim	Corrêa & Silva	01/01
Spermacoceae	<i>Borreria latifolia</i> (Aubl.) K. Schum.	e	Mogi-Guaçu	Corrêa & Silva	02/63
	<i>Borreria verticillata</i> (L.) G. Mey.	e	Itirapina	Corrêa & Silva	02/51
	<i>Richardia brasiliensis</i> Gomes	e	Campinas	Silva	01/05

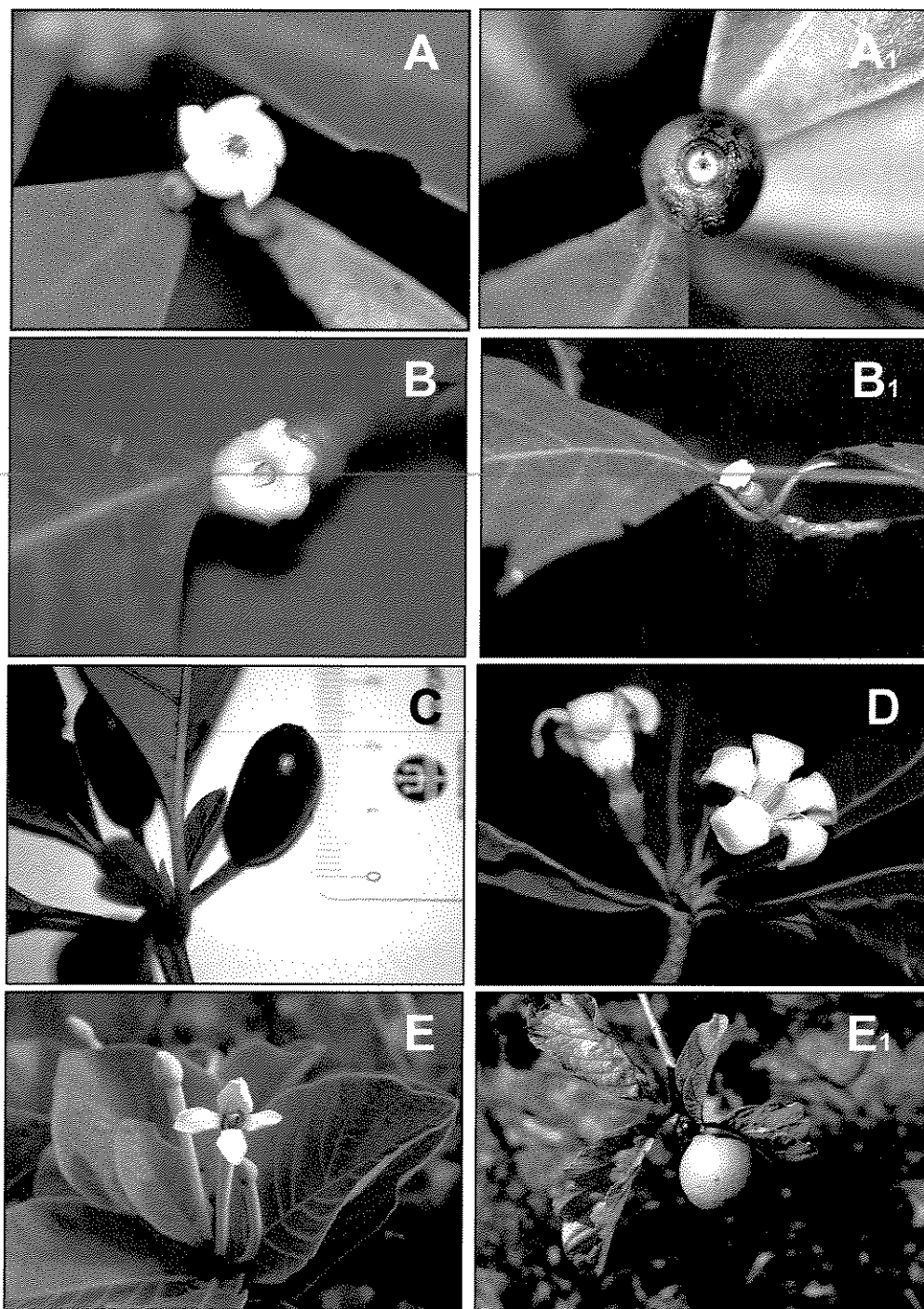


Figura 2 - Caracteres reprodutivos de representantes da subfamília Ixoroideae: A e A₁ - *Alibertia concolor*, flor e fruto; B e B₁ - *A. edulis*, flor e detalhe do ovário; C - *Amaioua intermedia*, fruto; D - *Genipa americana*, flor; E e E₁ - *Tocoyena formosa*, flor e fruto.

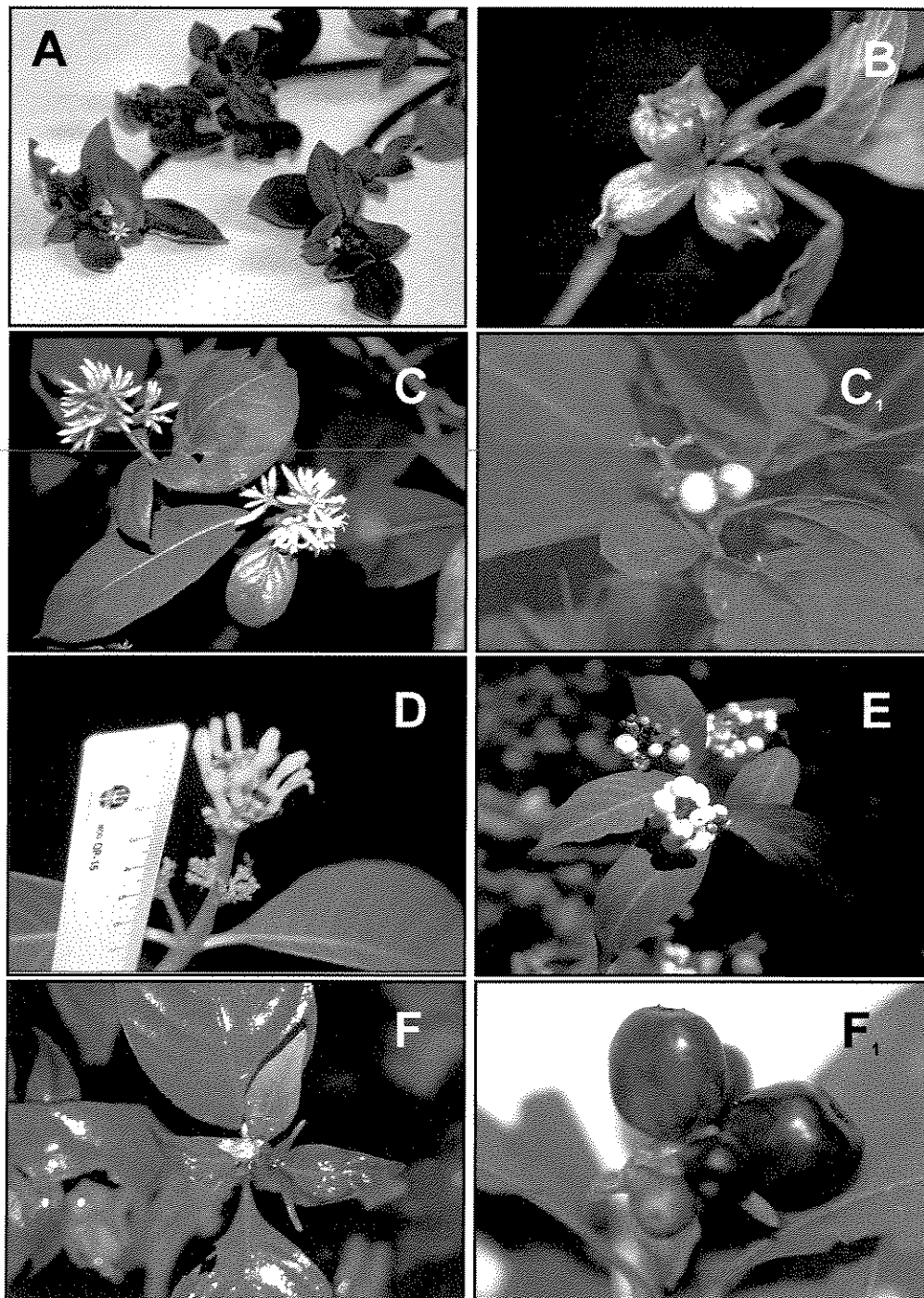


Figura 3 - Caracteres reprodutivos de representantes da subfamília Rubioideae: A – *Richardia brasiliensis*, flor; B - *Coccocypselum lanceolatum*, fruto; C e C₁ - *Coussarea hydrangeifolia*, flor e fruto; D - *Palicourea rigida*, flor; E - *Psychotria deflexa*, fruto; F e F₁ - *Psychotria hoffmannseggiana*, flor e fruto.

C) Estudos cromossômicos

Para os estudos cromossômicos foram utilizados botões florais e sementes das espécies apresentadas na Tabela 1. Botões florais de diversos tamanhos foram coletados e fixados em solução de Carnoy por 24 horas; posteriormente os botões foram estocados em álcool 70%, a 20°C. As lâminas foram preparadas seguindo a técnica de MEDINA & CONAGIN (1964), por esmagamento e coloração de anteras com carmim acético 2%. As lâminas foram ligeiramente aquecidas em uma chama e posteriormente esmagadas entre folhas de papel de filtro.

As sementes foram obtidas a partir de frutos coletados que foram beneficiados de forma a eliminar a parte carnosa e individualizar as sementes; estas foram em parte postas diretamente a germinar em placas de petri sobre papel de filtro umedecido, em Câmara de germinação à temperatura constante de 28°C, em parte estocadas em saquinhos de papel à temperatura ambiente. A Câmara de germinação foi disponibilizada pelo Projeto Biota/FAPESP/Cerrado, adquirido pela Prof. Dr^a Sandra Maria Carmello-Guerreiro.

As pontas das raízes recém-germinadas foram coletadas e submetidas a pré-tratamentos com inibidores da divisão celular. Foram testados três inibidores, em uso único ou combinado, por diferentes períodos de tempo. Os testes foram: a) solução saturada de paradiclorobenzeno (PDB), por 5 horas, a 16-18°C; b) solução saturada de PDB combinada com solução de cicloheximida 0,009M, na proporção de 1:1, por 5 horas, a 16-18°C; c) solução 0,002M de 8-hidroxiquinoleína (8Hq), por 2 horas à temperatura ambiente, e 5 horas, à temperatura de 14-15°C; d) solução combinada de 8Hq e cicloheximida 0,009M,

na proporção de 1:1, por 5 horas, à temperatura de 14-15°C. Em seguida, as raízes foram fixadas em solução Carnoy 3:1 (álcool etílico: ácido acético, respectivamente) por 24 horas e mantidas em álcool 70%, em freezer.

Para a preparação das lâminas para o estudo mitótico, foi utilizada a técnica de Giemsa (GUERRA, 1983). As raízes pré-tratadas e fixadas foram hidrolizadas em HCl 5N à temperatura ambiente, por 20 minutos e lavadas em água destilada. Para a confecção das lâminas, as pontas de raízes previamente hidrolizadas foram esmagadas em uma gota de ácido acético 45% entre lâmina e lamínula. As lâminas foram levadas ao nitrogênio líquido por alguns segundos para a posterior remoção da lamínula, com o auxílio de uma gilete. Após secarem à temperatura ambiente, as lâminas foram coradas com solução de Giemsa 2% por 20 minutos, lavadas em água destilada para retirada do excesso de corante, secas novamente e montadas com Entelam.

Contagens cromossômicas em mitose e meiose foram realizadas em, no mínimo, 10 células por espécie; as células mitóticas com boas condições de espalhamento cromossômico ou favoráveis à análise de sua morfologia foram fotomicrografadas em fotomicroscópio Olympus, modelo BX 50, utilizando filmes Kodak Tmax 100 Professional, Imagelink 25 e Agfa 25, todos preto/branco. Para a elaboração dos cariótipos foram utilizadas preferencialmente células em metáfase, porém algumas células em prometáfase foram consideradas, especialmente em *Genipa americana*. As células mitóticas também foram desenhadas em câmara clara, com aumento de 2X, para que baseado nesses desenhos fossem obtidos o tamanho e o índice centromérico - IC (razão entre o braço curto e o comprimento total) de cada cromossomo. A partir da obtenção desses dados, em 10 células,

foram calculados o cariótipo médio de cada espécie, e também obtidos os seguintes valores médios para: CTC (comprimento total da cromatina, mediante a soma do comprimento de todos os cromossomos de uma célula), e TF% (relação entre o comprimento total dos braços curtos de todos os cromossomos e o CTC), que expressa a simetria do cariótipo, segundo HUZIWARA (1962). A classificação morfológica dos cromossomos seguiu a nomenclatura proposta por GUERRA (1986).

As células em boas condições de espalhamento cromossômico ou favoráveis à análise de sua morfologia foram fotomicrografadas, e suas fotos estão apresentadas nas Figuras 4, 5 e 6.

RESULTADOS

Dentre os quatro pré-tratamentos experimentados em todas as espécies de Rubiaceae estudadas dois trouxeram melhores resultados (8-Hq (d) e PDB (a), por 5 horas à temperatura de 14-15°C e 16-18°C, respectivamente) para a análise da morfologia cromossômica. As espécies em que se utilizou 8-Hq foram *Alibertia concolor*, *Genipa americana*, *Coccocypselum lanceolatum*, *Borreria latifolia*, *B. verticillata*, *Psychotria deflexa* e *P. hoffmannseggiana*. Já em *Alibertia edulis*, *A. sessilis*, *Amaioua intermedia*, *Tocoyena formosa* e *Richardia brasiliensis* foi utilizado o pré-tratamento com PDB. A adição de cicloheximida no pré-tratamento não trouxe melhoras significativas à visualização do número e da morfologia dos cromossomos.

Foram obtidos os números cromossômicos de 14 espécies de Rubiaceae de Cerrado, pertencentes a duas subfamílias; Ixoroideae e Rubioideae. Os números variaram de $2n = 20$ até $2n = 66$; as variações foram observadas dentro das subfamílias, de tribos e até mesmo de gêneros, como é o caso de *Psychotria* (Tabela 2). O número observado com maior frequência foi $2n = 22$ ou $n = 11$ (8 espécies), seguido de $2n = 28$ (3 espécies); obteve-se a ocorrência de $2n = 20$, $2n = 32$ e $2n = 66$, em apenas uma espécie cada um.

Dentro da subfamília Ixoroideae foram analisadas seis espécies, distribuídas em quatro gêneros, pertencentes a tribo Gardenieae. Todas as espécies apresentaram números cromossômicos múltiplos de 11, na maior parte $2n = 22$ e uma espécie com $2n = 66$ (Tabela 1, Figura 4).

Na subfamília Rubioideae, a variação no número cromossômico foi muito maior, com variação de $2n = 20$ a $2n = 32$. Diversos números cromossômicos

foram obtidos, variando entre as quatro tribos amostradas: $2n = 20$ em *Coccocypseleae*, $n = 11$ ($2n = 22$) em *Coussareeae*, $2n = 22$ e 32 em *Psychotrieae* e $2n = 28$ em *Spermacoaceae* (Tabela 1, Figuras 5 e 6). Observou-se variação de número cromossômico entre espécies de *Psychotria*, sendo $2n = 32$ em *Psychotria deflexa* e $2n = 22$ em *Psychotria hoffmanseggiana*.

Quanto ao tamanho, os cromossomos variaram de no máximo $7,33 \mu\text{m}$ em *Psychotria deflexa*, até $1,26 \mu\text{m}$ em *Amaioua intermedia*. Entretanto, a maior parte das espécies tem cromossomos com tamanho variando de $3,5 \mu\text{m}$ a $1,3 \mu\text{m}$ (Tabela 2). Observou-se que o tamanho dos cromossomos de cada espécie varia de forma gradual, não sendo possível reconhecer classes descontínuas.

O maior CTC foi observado em *Amaioua intermedia* ($146,79 \mu\text{m}$), devido ao seu maior número cromossômico ($2n = 66$), apesar de que individualmente os cromossomos tenham tamanhos equivalentes ao da maior parte das espécies estudadas. O menor CTC foi obtido em *Coccocypselum lanceolatum* ($40,25 \mu\text{m}$), que além de ter o menor número cromossômico ($2n = 20$) ainda apresenta o par cromossômico mais longo com o menor comprimento entre todas as espécies estudadas (Tabela 2).

Os cromossomos metacêntricos são maioria ou mesmo a totalidade nas espécies em que foi possível a caracterização morfológica, exceto em *Genipa americana*. Os demais cromossomos descritos nas espécies de *Rubiaceae* são submetacêntricos, não se observando cromossomos acrocêntricos e telocêntricos (Tabela 2, Figuras 7 e 8). O maior índice TF% foi obtido em *Borreria verticillata* ($47,45$), em que todos os cromossomos são metacêntricos. Os menores valores

de TF% foram obtidos em *Genipa americana* (38,60) e *Tocoyena formosa* (38,01), espécies com 7 e 5 pares cromossômicos submetacêntricos, respectivamente.

Tabela 2 – Número cromossômico e características cariotípicas das espécies de Rubiaceae estudadas.

Subfamília / Tribo	Espécie	n	2n	Comprimento cromossômico (µm)	CTC (µm)	TF%	Fórmula cariotípica
IXOROIDEAE							
Gardenieae	<i>Alibertia concolor</i>		22*	3,31 – 1,67	52,86	42,07	8m + 3sm
	<i>Alibertia edulis</i>		22*	2,79 – 1,36	44,39	42,89	10m + 1sm
	<i>Alibertia sessilis</i>		22	3,05 – 1,33	46,98	41,29	8m + 3sm
	<i>Amaioua intermedia</i>		66**	3,55 – 1,26	146,79	45,01	30m + 3sm
	<i>Genipa americana</i>		22	6,77 – 2,41	97,81	38,60	4m + 7sm
	<i>Tocoyena formosa</i>		22*	3,36 – 1,51	52,24	38,01	6m + 5sm
RUBIOIDEAE							
Coccocypseleae	<i>Coccocypselum lanceolatum</i>		20*	2,58 – 1,52	40,25	44,99	10m
Coussareeae	<i>Coussarea hydrangeifolia</i>		11**	—	—	—	—
Psychotrieae	<i>Palicourea rigida</i>		11*	—	—	—	—
	<i>Psychotria deflexa</i>		32*	7,33 – 2,77	140,46	40,06	7m + 9sm
	<i>Psychotria hoffmannseggiana</i>		22	5,08 – 2,63	81,75	42,38	10m + 1sm
Spermacoceae	<i>Borreria latifolia</i>		28*	2,96 – 1,49	60,25	43,87	14m
	<i>Borreria verticillata</i>		28	3,54 – 1,76	70,32	47,45	14m
	<i>Richardia brasiliensis</i>		28*	2,69 – 1,49	56,35	44,10	14m

*Contagens inéditas para a espécie e ** para o gênero, CTC = comprimento total da cromatina, TF% = simetria cariotípica, m = metacêntrico e sm = submetacêntrico.

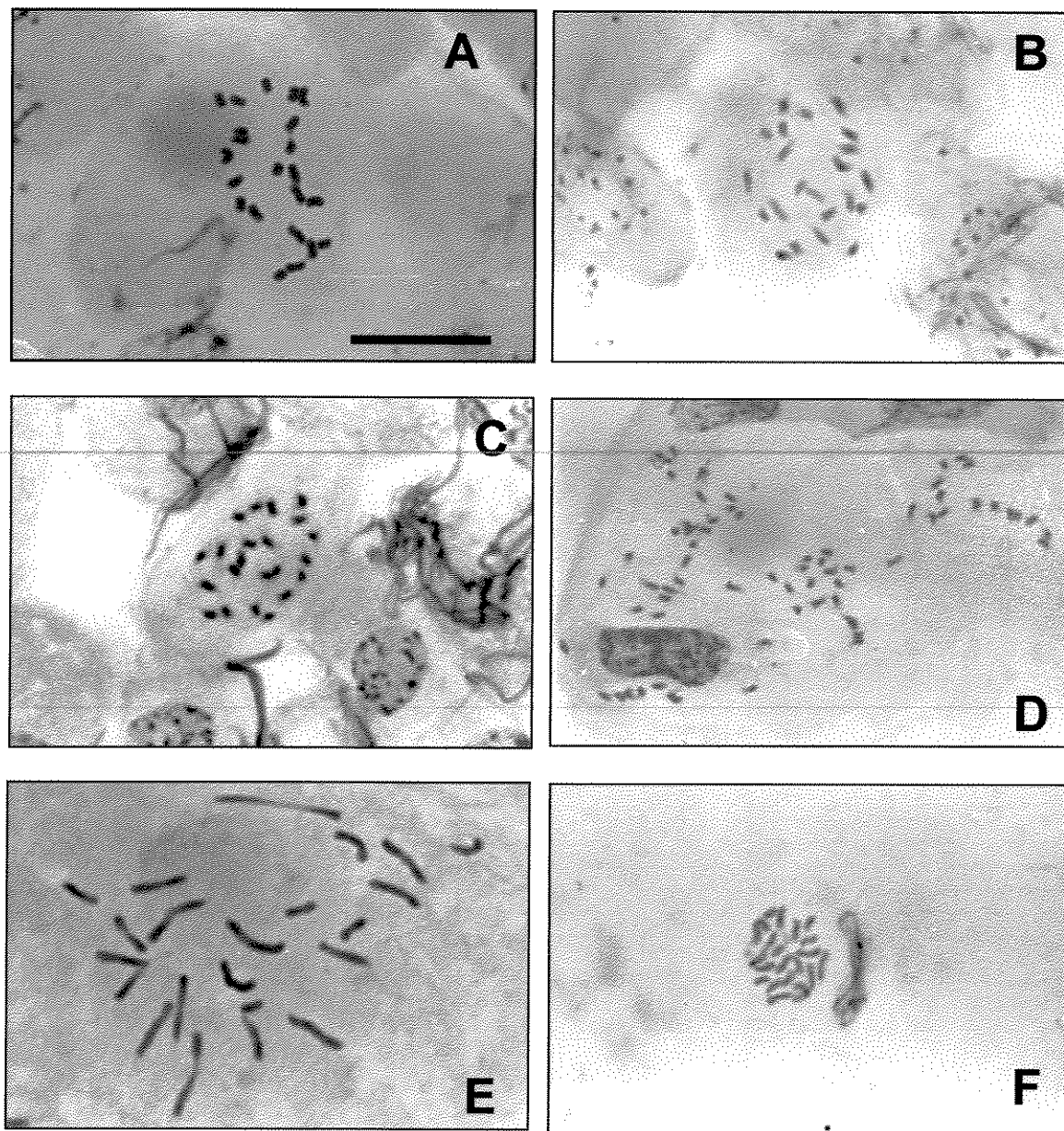


Figura 4 - Cromossomos de espécies de Rubiaceae da subfamília Ixoroideae: A - *Alibertia concolor*, $2n = 22$; B - *A. edulis*, $2n = 22$; C - *A. sessilis*, $2n = 22$; D - *Amaioua intermedia*, $2n = 66$; E - *Genipa americana*, $2n = 22$; F - *Tocoyena formosa*, $2n = 22$.

Barra = $10\mu\text{m}$.

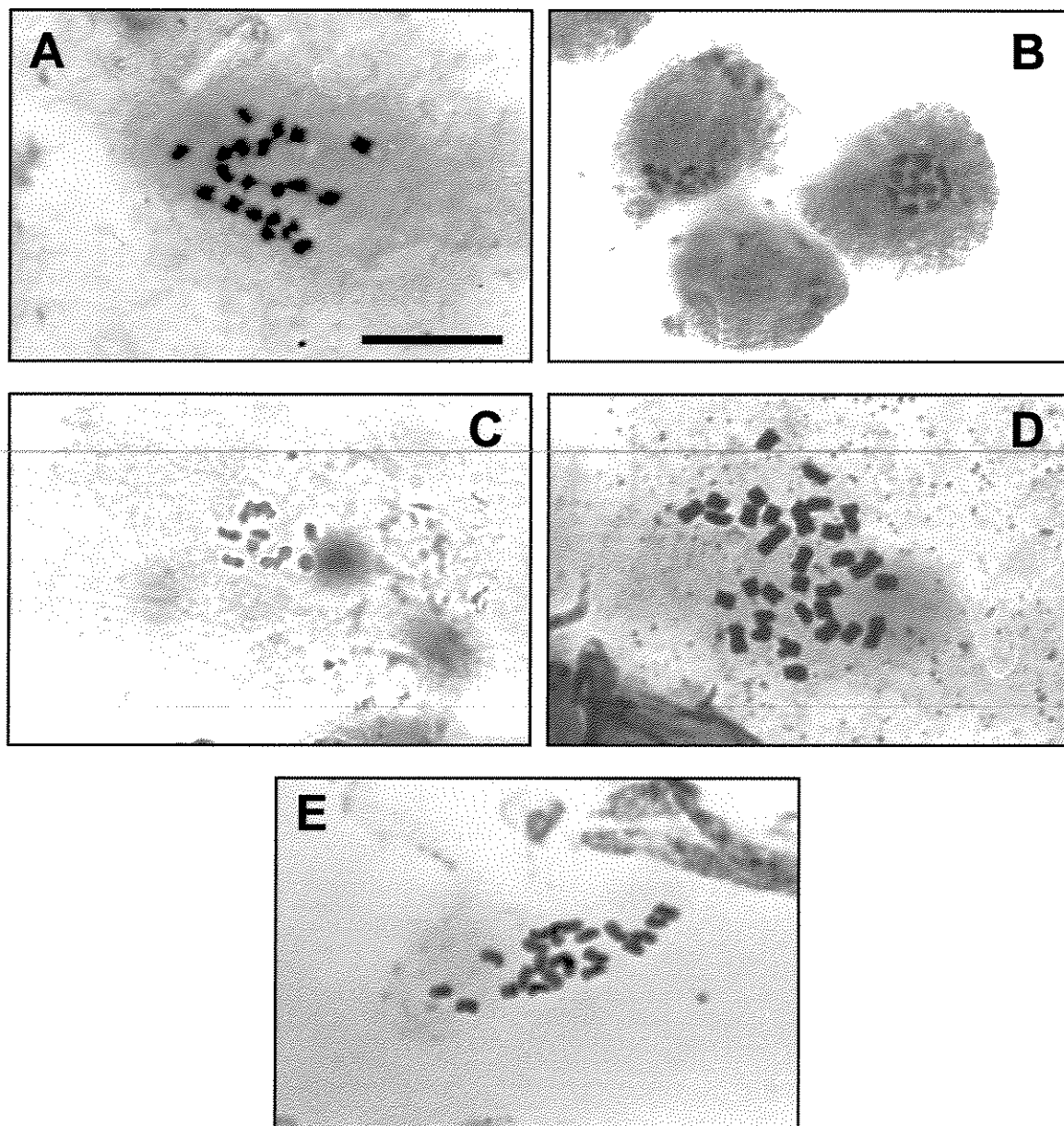


Figura 5 - Cromossomos de espécies de Rubiaceae da subfamília Rubioideae: A - *Coccocypselum lanceolatum*, $2n = 20$; B - *Coussarea hydrangeifolia*, $n = 11$; C - *Palicourea rigida*, $n = 11$; D - *Psychotria deflexa*, $2n = 32$; E - *P. hoffmannseggiana*, $2n = 22$.

Barra = $10\mu\text{m}$.

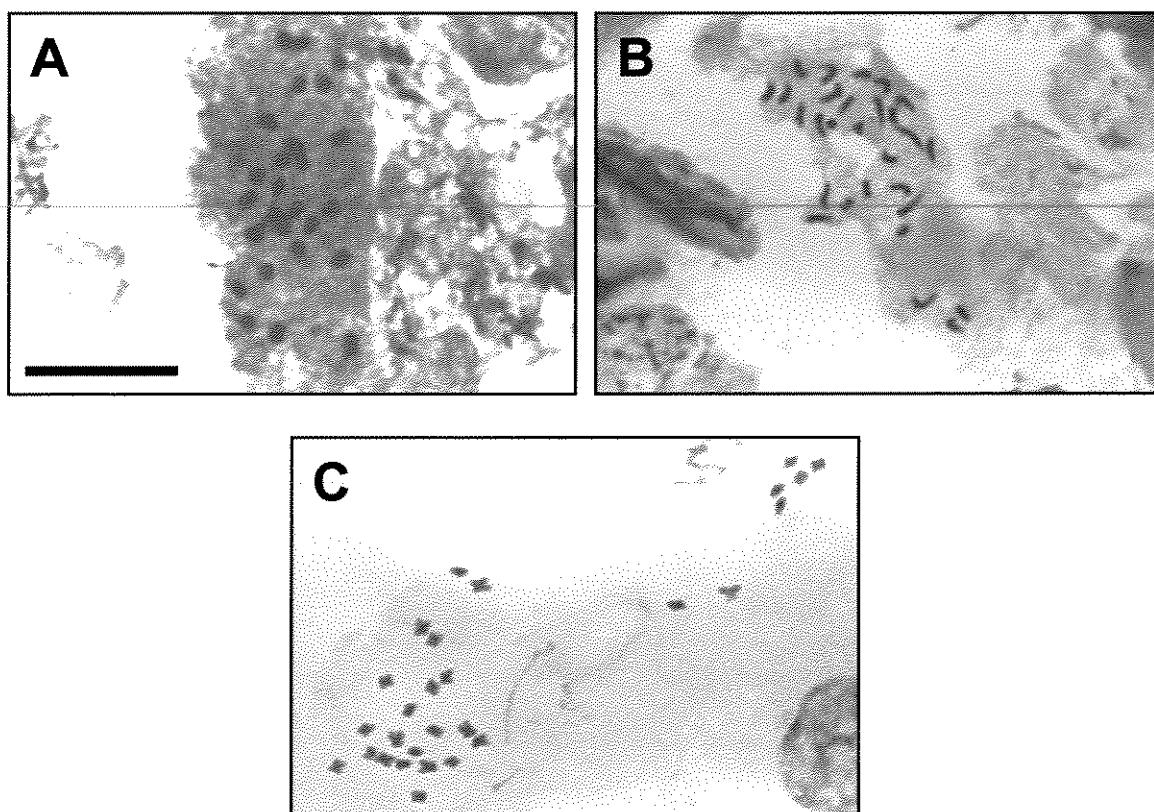


Figura 6 - Cromossomos de espécies de Rubiaceae da subfamília Rubioideae:
A - *Borreria latifolia*, $2n = 28$; B - *Borreria verticillata*, $2n = 28$; C - *Richardia brasiliensis*, $2n = 28$.

Barra = $10\mu\text{m}$.

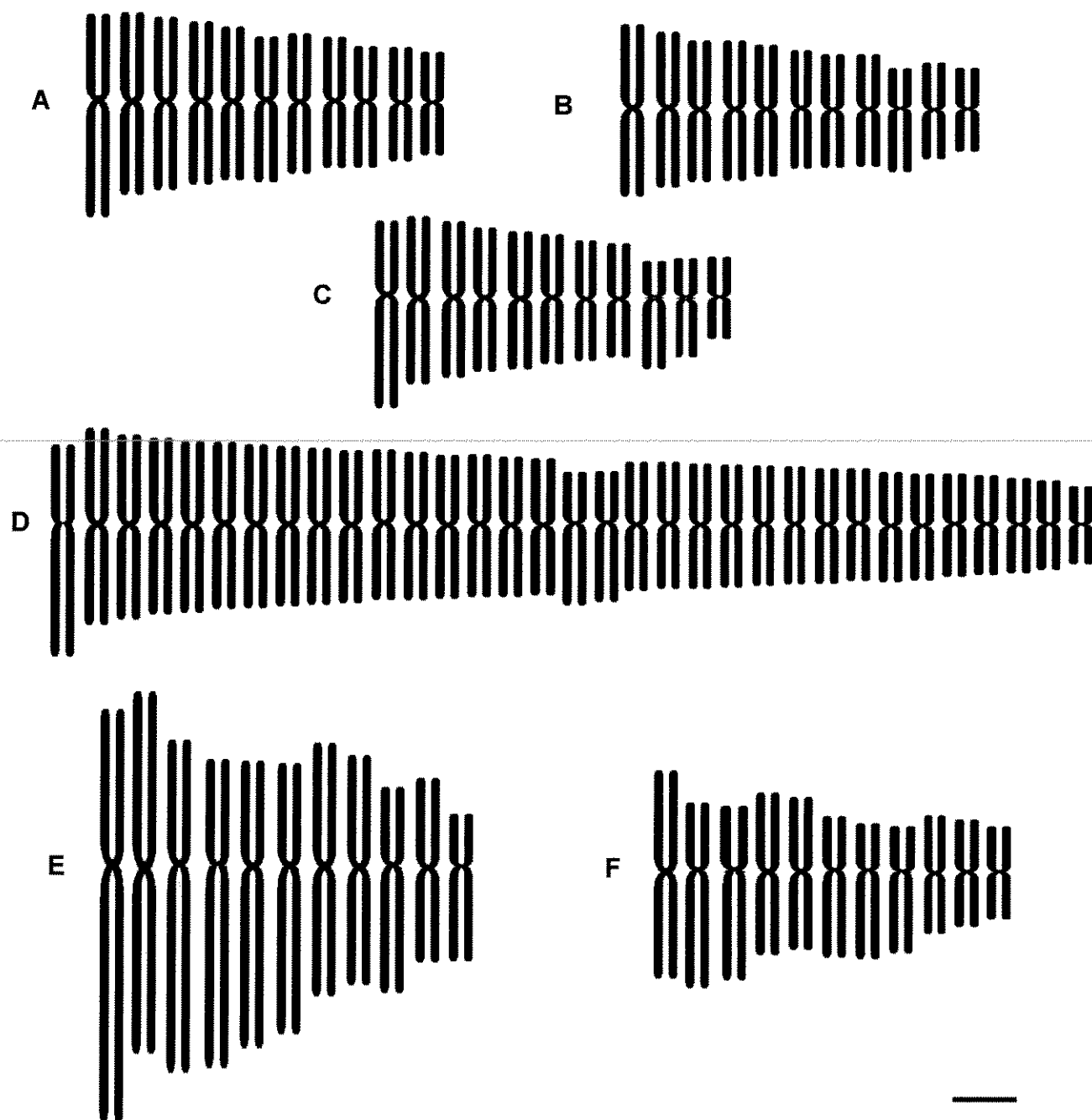


Figura 7 – Ideograma das espécies da subfamília Ixoroideae: A – *Alibertia concolor*; B – *Alibertia edulis*; C – *Alibertia sessilis*; D – *Amaioua intermedia*; E – *Genipa americana*; F – *Tocoyena formosa*.

Barra 1 μ m

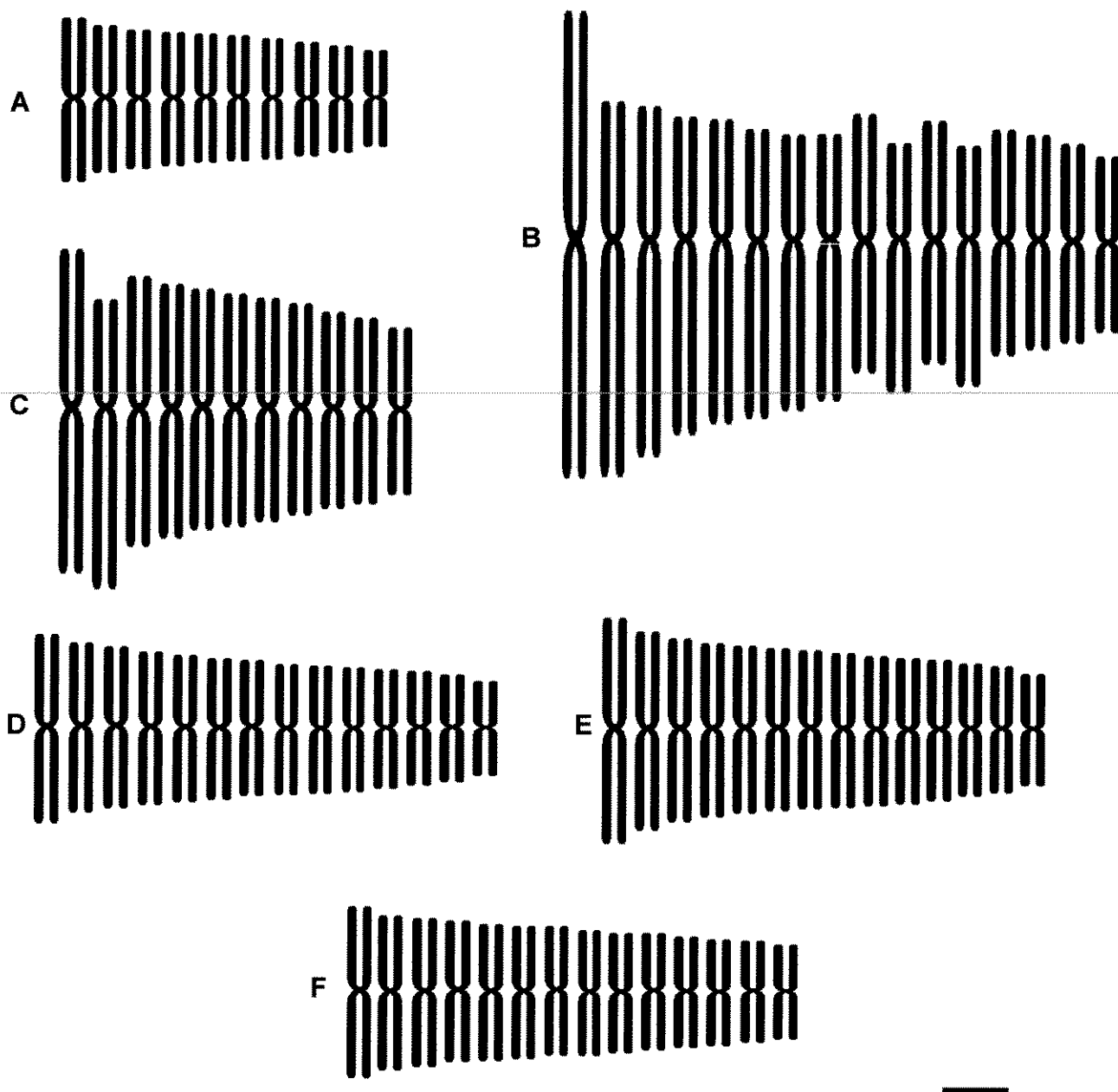


Figura 8 – Ideograma das espécies da subfamília Rubioideae: A – *Coccocypselum lanceolatum*; B – *Psychotria deflexa*; C – *Psychotria hoffmannseggiana*; D – *Borreria latifolia*; E – *Borreria verticillata*; F – *Richardia brasiliensis*.

Barra 1 μ m

DISCUSSÃO

I – ANÁLISES CARIOTÍPICAS

Dentre as quatorze espécies estudadas nesse trabalho, dez apresentaram contagens cromossômicas inéditas. Para as demais espécies, já estudadas por outros autores, *Alibertia sessilis* (FORNI-MARTINS *et al.*, 1995), *Genipa americana* (PIEROZZI & MENDAÇOLLI, 1997), *Psychotria hoffmannseggiana* (PINTO-MAGLIO *et al.*, 1997) e *Borreria verticillata* (Miège, 1960 *in* BOLKHOVSKIKH *et al.*, 1969), houve confirmação dos resultados. Apesar de a família Rubiaceae ser uma das maiores dentro das Angiospermas, a ampliação do conhecimento cromossômico com estas espécies contribui para o melhor entendimento da mesma, uma vez que, de acordo com KIEHN (1995) os dados cromossômicos para as espécies tropicais e subtropicais são escassos.

Os números cromossômicos aqui relatados estão de acordo com os encontrados na literatura para as espécies e gêneros com número cromossômico disponíveis na literatura e, em sua maioria, concordam com o número básico já descrito para a família, que é $x = 11$ (DARLINGTON & WYLIE, 1955). A espécie poliplóide (*Amaioua intermedia*, $2n = 66$), apresenta número múltiplo de 11. Outros números diferentes também encontrados ($2n = 20$ e $2n = 28$), já haviam sido relatados para as mesmas tribos ou gêneros. O número $2n = 32$ já havia sido relatado para outra tribo da subfamília (Tabela 3). Outros números básicos para a família são também relatados por ROBBRECHT *et al.* (1996), como $x = 2, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 20, 22$, revelando a necessidade de mais estudos sobre a família Rubiaceae.

Os cariótipos das espécies de Rubiaceae estudadas podem ser classificados como simétricos, com TF% variando de 38,01 (em *Tocoyena formosa*) até 47,45 (em *Borreria verticillata*). O grau de simetria cariotípica pode ser inferido por exemplo pelo TF%, que representa a média da posição centromérica de todos os cromossomos de uma espécie (HUZIWARA, 1962). Um cariótipo atingirá o máximo de simetria ao se aproximar do índice TF% 50, em que todos os cromossomos seriam metacêntricos, e em que cada cromossomos teria os braços com tamanho idêntico.

O conceito de simetria cariotípica apresentado por STEBBINS (1971) envolve não apenas a condição centromérica apresentado anteriormente, mas também a diferença no comprimento relativo dos cromossomos de cada cariótipo. Em Rubiaceae, a variação dos tamanhos dos cromossomos em cada espécie é gradual, o que reforça o caráter simétrico dos cariótipos.

Um cariótipo assimétrico seria aquele em que os cromossomos poderiam ser classificados em classes de tamanho descontínuos, em que a posição centromérica seria preferencialmente acrocêntrica ou telocêntrica (STEBBINS, 1971).

O padrão de posição centromérica obtida nas espécies aqui estudadas também concorda com a literatura. Por exemplo, duas espécies de *Coffea*: *C. canephora* e *C. dewevrei*, ambas com $2n = 22$ (PIEROZZI *et al.*, 1999), apresentam a maior parte de seus cromossomos submetacêntricos e alguns pares metacêntricos; nenhum par telocêntrico ou acrocêntrico foi relatado para essas espécies de *Coffea*. No trabalho realizado por PIEROZZI *et al.* (1999) o tamanho dos cromossomos de *Coffea canephora* e *C. dewevrei* variaram entre 2,38 a 0,85

μm e 2,03 a 0,83 μm , respectivamente. Esses tamanhos estão próximos aos tamanhos dos menores cromossomos descritos nesse trabalho (Tabela 2). Espécies de *Coffea*, além de *Genipa americana* são as únicas espécies de Rubiaceae que apresentam seus cariótipos descritos.

I. 1 – SUBFAMÍLIA IXOROIDEAE

Dentre as seis espécies da subfamília Ixoroideae, tribo Gardenieae estudadas, três pertencem ao gênero *Alibertia*: *A. concolor*, *A. edulis* e *A. sessilis*. Todas apresentaram $2n = 22$ e predomínio de cromossomos metacêntricos. Para *A. sessilis* já era disponível o número cromossômico (FORNI-MARTINS *et al.*, 1995), porém nenhuma das espécies tinha seu cariótipo descrito. As diferenças cariotípicas entre as três espécies foram pequenas e ficaram por conta do tamanho e morfologia dos cromossomos. Em geral, os cromossomos são maiores em *A. concolor*, com variação de 3,31 a 1,67 μm . Em *A. edulis*, cromossomos tiveram tamanho entre 2,79 a 1,36 μm , e em *A. sessilis* variaram de 3,05 a 1,33 μm de comprimento. As pequenas variações no tamanho cromossômico contribuíram para as diferenças de CTC dessas espécies (Tabela 2), que apresentaram 52,86 μm para *A. concolor*, 44,39 μm em *A. edulis* e 46,98 μm em *A. sessilis*.

A fórmula cariotípica de *A. concolor* e *A. sessilis* é a mesma, com oito pares cromossômicos metacêntricos e três submetacêntricos, enquanto que em *A. edulis* os cromossomos são apresentados em dez pares metacêntricos e um submetacêntrico. Quanto ao TF%, as três espécies apresentaram valores semelhantes, com uma tendência à simetria cariotípica. *A. concolor* e *A. sessilis*, com a mesma fórmula cariotípica (diferem apenas na posição dos cromossomos submetacêntricos), têm TF% igual a 42,07 e 41,29, respectivamente. *A. edulis*

apresenta número maior de cromossomos metacêntricos, com TF% ligeiramente superior (42,89).

Amaioua intermedia foi a única espécie da tribo Gardenieae a apresentar poliploidia, com $2n = 66$, sendo esse número cromossômico poliplóide inédito para a subfamília. O maior número anteriormente relatado para a subfamília é $2n = 44$ para as espécies *Ixora schawii* (FAGERLIND, 1937), na tribo Pavetteae e $2n = 66$ e 88 em *Coffea arabica* var. *bullata* (SYBENGA, 1960), na tribo Coffeae.

Posteriores estudos com bandamento poderão explicar melhor a origem dessa ploidia. O tamanho dos cromossomos de *A. intermedia* ficou muito próximo ao das espécies de outros gêneros (entre 3,55 e 1,26 μm). Entretanto, a espécie apresentou o maior valor de CTC (146,79 μm), em função do maior número cromossômico. O elevado valor de TF% (45,01) reflete a presença de grande maioria de cromossomos metacêntricos (30 pares) e apenas 3 pares submetacêntricos.

Uma outra espécie dessa tribo, *Genipa americana*, foi coletada em área de cerrado de outro estado, Mato Grosso do Sul, apresentando $2n = 22$, número já relatado por outros autores, em populações de Campinas, SP (PIEROZZI & MENAÇOLLI, 1997) e de Pernambuco (BORTOLETI *et al.*, 2002). É a espécie com cromossomos mais longos nessa subfamília, variando seu tamanho entre 6,77 e 2,42 μm . O CTC, de 97,81 μm , é o maior dentre as espécies estudadas, à exceção da espécie poliplóide, *Amaioua intermedia*. A fórmula cariotípica com quatro pares de cromossomos metacêntricos e sete submetacêntricos difere daquela descrita por PIEROZZI & MENAÇOLLI (1997), que apresentou três

pares metacêntricos e oito submetacêntrico. Observou-se também diferenças quanto ao ideograma apresentado por PIEROZZI & MENAÇOLLI (1997) em comparação ao obtido nesse trabalho, em relação ao posicionamento dos cromossomos submetacêntricos. Verificou-se ainda que os valores das medidas cromossômicas obtidas para *Genipa americana* por PIEROZZI & MENAÇOLLI (1997) são menores que aqueles obtidos no presente trabalho.

Entretanto, essas diferenças ora observadas parecem ser consequência do grau de contração cromossômica relacionado à fase escolhida para a obtenção das medidas cromossômicas, metáfase em por PIEROZZI & MENAÇOLLI (1997) e prometáfase no presente trabalho, com pode ser observado na figura 4E.

Além disso, o indivíduo de *Genipa americana* usado no presente estudo pertence a uma população diferente e bastante distante geograficamente da usada por PIEROZZI & MENAÇOLLI (1997), podendo portanto ter ocorrido variações na estrutura cromossômica de uma dessas populações. Em um trabalho que está sendo realizado por BORTOLETI *et al.* (2002), foi encontrada variabilidade de números cromossômicos de indivíduos de *Genipa americana*, de populações diferentes no estado de Pernambuco, com $2n = 20, 21, 22, 24$ e 28 .

A última espécie estudada dessa tribo é *Tocoyena formosa*, com $2n = 22$, confirmando o número cromossômico meiótico ($n = 11$) anteriormente descrito por COLEMAN (1982). O comprimento dos cromossomos variou de $3,36$ a $1,51 \mu\text{m}$, totalizando um CTC de $52,24 \mu\text{m}$. Apresentou seis pares metacêntricos e cinco submetacêntricos, mostrando a distribuição dos tipos cromossômicos mais

homogênea dentre todas as espécies desse trabalho, resultando no maior grau de assimetria cariotípica (TF% 38,01).

I. 2 – SUBFAMÍLIA RUBIOIDEAE

Passando à subfamília Rubioideae, há de se destacar que a tribo Coussareeae não tinha nenhum representante com o número cromossômico descrito. Assim, o estudo em *Coussarea hydrangeifolia* ($n = 11$) é inédito não só para a espécie, como também para o gênero e para a tribo. O número cromossômico encontrado está concordando com o número básico da família.

O gênero *Coccocypselum lanceolatum*, tribo Coccocypseleae, apresentou $2n = 20$. O número cromossômico encontrado não equivale ao número básico da família, porém, esse mesmo número também foi relatado para outras espécies do gênero, como *C. brevipetiolatum* e *C. decumbens* (KIEHN, 1989). Além disso, outros números foram encontrados em outras espécies do mesmo gênero, como *C. herbaceum*, $2n = 10 - 12$, *C. hirsutum*, $2n = 20 - 40$ e *C. lumbellatum*, $2n = 38 - 40$, todos descritos por KIEHN (1989). Também outros números básicos foram relatados por DARLINGTON (1955) para Rubiaceae, que podem justificar esses resultados e da maioria das espécies da subfamília Rubioideae.

Coccocypselum lanceolatum apresentou os menores cromossomos dentre as espécies aqui estudadas, com o tamanho variando de 2,58 à 1,52 μm . O CTC dessa espécie, 40,25 μm , é também o menor nesse estudo, provavelmente devido à menor quantidade de cromossomos, e ao fato de apresentar o par cromossômico mais longo com o menor comprimento dentre todas as espécies estudadas. O TF% é de 44,99, sendo os dez pares cromossômicos metacêntricos.

A tribo Psychotrieae apresenta muitas variações nos números cromossômicos de seus gêneros e espécies, com relatos desde $2n = 22$ ($n = 11$) em inúmeras espécies (Tabela 3) até números relativamente altos, como $2n = 88$ em *Psychotria orophila* e $2n = 132$ em *P. mahonii* (KIEHN, 1985), ou $2n = 110 + 1$ em *Hydnophytum moseleyanum* (ROBBRECHT, 1996).

O gênero mais representativo da tribo Psychotrieae é *Psychotria*, com dois representantes analisados nesse trabalho. *Psychotria deflexa*, $2n = 32$, apresentou os maiores cromossomos desse trabalho, variando de tamanho entre 7,33 e 2,77 μm . No entanto, o CTC de 140,46 μm não é o maior, ficando abaixo somente da espécie poliplóide, que, juntamente com essa, são as duas espécies com os maiores números cromossômicos do trabalho. Apresentou TF% de 40,06, com sete pares metacêntricos e nove submetacêntricos, que expressa o menor grau de simetria cariotípica na subfamília.

Por outro lado, *Psychotria hoffmannseggiana*, apresentou $2n = 22$ o que confirmou o estudo prévio de PINTO-MAGLIO *et al.* (1997). Os cromossomos são um pouco menores (5,08 à 2,63 μm) que os de *Psychotria deflexa*, assim como o CTC (81,75 μm). O cariótipo também é diferenciado, com menor proporção de cromossomos submetacêntricos (10 pares metacêntricos e 1 par submetacêntrico). O gênero *Psychotria*, mesmo sendo o maior dentro da subfamília Rubioideae, não tem nenhum cariótipo descrito anteriormente.

Na tribo Psychotrieae também foi estudada *Palicourea rigida*, com $n = 11$. Nesse gênero apenas uma espécie foi estudada anteriormente no que se refere

ao número cromossômico, *P. macgravii*, que apresentou $2n = 22 + 3B$ (PINTO-MAGLIO *et al.*, 1997).

O número cromossômico de *Psychotria hoffmannseggiana* e *Palicourea rigida* estão de acordo com o número básico da família, $x = 11$. Entretanto, o gênero *Psychotria* apresenta muitos números cromossômicos diferentes, variando de $n = 11, 12, 17, 22$, e 34 (GOLDBLATT, 1985, GOLDBLATT & JOHNSON, 1991 e 1994) e $2n = 22, 40, 44, 88$ e 132 (BOLKHOVSKIKH *et al.*, 1969; GOLDBLATT, 1981; KIEHN, 1985; GOLDBLATT & JOHNSON, 1994; ROBBRECHT *et al.*, 1996; PINTO-MAGLIO, 1997). Portanto, o número $n = 16$ ($2n = 32$) obtido em *Psychotria deflexa*, ainda não fazia parte dos relatos para o gênero.

As três espécies da tribo Spermaceae, *Borreria latifolia*, *Borreria verticillata* e *Richardia brasiliensis*, apresentaram $2n = 28$. Essa tribo também apresenta uma variação muito grande de números cromossômicos com valores máximos de $2n = 84$ em duas espécies de *Borreria* (Tabela 3). Há vários outros representantes contendo o mesmo número encontrado nesse trabalho ($2n = 28$), tanto no gênero *Borreria*, como em outros, como *Diodia* (Tabela 3), *Mitracarpus* e *Spermace* (ROBBRECHT, 1996). O gênero *Richardia* não tem nenhum outro representante com seu número cromossômico conhecido, mas dentro do gênero *Borreria* podemos encontrar $n = 14, 14II, 26-27II, 28$ e $28II$ (GOLDBLATT, 1981), e $2n = 22, 28, 32, 40, 44, 56, 64, 84$ (BOLKHOVSKIKH *et al.*, 1969; GOLDBLATT, 1981, 1985, 1988; GOLDBLATT & JOHNSON, 1989, 1990, 1991).

O tamanho dos cromossomos variou de 2,96 a 1,49 μm , em *Borreria latifolia*, de 3,54 a 1,76 μm , em *Borreria verticillata* e de 2,69 a 1,49 μm , em *Richardia brasiliensis*. Os CTC dessas três espécies também são semelhantes, com valores de 60,25 μm e 70,72 μm , para *B. latifolia* e *B. verticillata* respectivamente, e de 56,35 μm para *Richardia brasiliensis*, a qual apresentou o menor CTC da tribo. Os valores de TF% vêm afirmar uma simetria cariotípica, com 43,87 em *Borreria latifolia*, 47,45 em *Borreria verticillata* e 44,10 em *Richardia brasiliensis*, sendo que todas as três espécies estudadas dessa tribo apresentaram seus quatorze pares cromossômicos metacêntricos.

Tabela 3 – Números cromossômicos de espécies de Rubiaceae, segundo a literatura disponível. Em negrito estão as subfamílias estudadas nesse trabalho.

Subfamília / Tribo	Espécie	n	2n	Referências bibliográficas
CINCHONOIDEAE				
Isertieae	<i>Acranthera zeylanica</i>		20	Kiehn, 1986
	<i>Manettia bicolor</i>		22	Poucques, M. L. de, 1949 <i>in</i> 1
	<i>Manettia coccinea</i>		36	Fagerlind, F., 1937 <i>in</i> 1
	<i>Manettia inflata</i>		36	
	<i>Mussaendra frondosa</i>		22	Kiehn, 1986
	<i>Mussaendra pilosissima</i>		22	Robbrecht, 1996
	<i>Mussaendra spl</i>		22	
	<i>Mussaendra spll</i>		22	
	<i>Sabicea angolensis</i>		44	Lewis, W. H., <i>in</i> 2
	<i>Sabicea lasiocalyx</i>		36	Mangenot, S. <i>et al.</i> , 1958 <i>in</i> 2
	<i>Sabicea venosa</i>		36	
	<i>Schizostigma hirsutum</i>		40/44	Kiehn, 1986
	Naucleaeae	<i>Nauclea orientalis</i>		88
Sipaneeae	<i>Sipanea hispida</i>		22	Kiehn, 1995
Urophyllaeae	<i>Urophyllum ellipticum</i>	27	54	Kiehn, 1986
Cinchoneae	<i>Uncaria elliptica</i>		44	Kiehn, 1986
Rondeletieae	<i>Wendlandia bicuspidata</i>		22	
IXOROIDEAE				
Gardenieae	<i>Alibertia sessilis</i>		22	Forni-Martins <i>et al.</i> , 1989
	<i>Gardenia sp</i>		22	Robbrecht, 1996
	<i>Genipa americana</i>		22	Zappi <i>et al.</i> , 1995
	<i>Genipa infundibuliformis</i>		20	
	<i>Sukunia longipes</i>		22	Robbrecht, 1996
	<i>Tocoyena formosa</i>	11	22	Coleman, 1982
Coffeaeae	<i>Coffea arabica</i>		22	Pinto-Maglio & Cruz, 1988
	<i>Coffea arabica</i>		44	Krug, 1934
	<i>Coffea canephora</i>		22	Pierozzi <i>et al.</i> , 1999
	<i>Coffea dewevrei</i>		22	
	<i>Coffea excelsa</i>		44	Selvaraj, R., 1987
	<i>Coffea robusta</i>		22,44	
	<i>Coffea eugenioides</i>		22	Kiehn, M., 1985
	<i>Coffea mauritanica</i>		22	
Pavetteae	<i>Ixora acuminata</i>		22	Fagerlind, F., 1937 <i>in</i> 1
	<i>Ixora amabilis</i>		22	
	<i>Ixora chinensis</i>		22	
	<i>Ixora congesta</i>		22	
	<i>Ixora dixoniana</i>		22	
	<i>Ixora fraseri</i>		22	
	<i>Ixora hybrida</i>		22	
	<i>Ixora kewensis</i>		22	
	<i>Ixora lutea</i>		22	
	<i>Ixora machrothyrsa</i>		22	
	<i>Ixora oculata</i>		22	
	<i>Ixora plumea</i>		22	
	<i>Ixora radiata</i>		22	
	<i>Ixora schawii</i>		22	
	<i>Ixora spectabilis</i>		22	
<i>Ixora splendida</i>		22		

	<i>Ixora stricta</i>		22	
	<i>Ixora undulata</i>		22	
	<i>Ixora westii</i>		22	
	<i>Ixora bandhuca</i>		22	Sharma, A. K. <i>et al.</i> , 1960 in 2
	<i>Ixora coccinea</i>		22	
	<i>Ixora colleri</i>		22	
	<i>Ixora duffii</i>		20	
	<i>Ixora finlaysoniana</i>		22	
	<i>Ixora griffithii</i>		22	
	<i>Ixora javanica</i>		22	
	<i>Ixora multibractenta</i>		22	
	<i>Ixora parviflora</i>		22	
	<i>Ixora roseal</i>		33	
	<i>Ixora singaporensis</i>		22	
	<i>Ixora subsessilis</i>		22	
	<i>Ixora vanduca</i>		22	
	<i>Ixora acuminata</i>	11		Mehra, P. N., 1976 in 5
	<i>Ixora coccinea</i>	11		
	<i>Ixora nigricans</i>	11		
	<i>Ixora villosa</i>	11		
	<i>Ixora arborea</i>	11		Mitra, K. <i>et al.</i> , 1967 in 3
	<i>Ixora bandhuca</i>	11		Bedi, Y. S. <i>et al.</i> , 1981 in 6
	<i>Ixora barbata</i>	11		
	<i>Ixora parviflora</i>	11		
	<i>Ixora rosea</i>	11		
	<i>Ixora brachiata</i>	11		Philip, O. <i>et al.</i> , 1975 in 5
	<i>Ixora singaporensis</i>	11		Philip, O. <i>et al.</i> , 1975 in 10
	<i>Ixora cureifolia</i>	11		Bir, S. S. <i>et al.</i> , 1984 in 8
	<i>Ixora notoniana</i>		22	
	<i>Ixora finlaysoniana</i>	11		Bir, S. S. <i>et al.</i> , 1987 in 9
	<i>Ixora notoniana</i>	11		
	<i>Ixora gardneriana</i>		22	Pinto-Maglio <i>et al.</i> , 1997
	<i>Ixora renulosa</i>		22	
	<i>Ixora nigricans</i>		22	Sarkar, A. K. <i>et al.</i> , 1982 in 7
	<i>Ixora undulata</i>	11		Sarkar, A. K. <i>et al.</i> , 1975 in 5
ANTIRHEOIDEAE				
Guettardeae	<i>Guettarda platycarpa</i>		44	Robbrecht, 1996
	<i>Guettarda speciosa</i>		44	
	<i>Guettarda scabra</i>		44	Lewis, W. H., 1962 in 2
	<i>Guettarda speciosa</i>	22		Philip, K. O. <i>et al.</i> , 1988 in 10
	<i>Dichilanthe zeylanica</i>		44	Kiehn, 1986
	<i>Timonius jambosella</i>		44	Kiehn, 1986
Vanguerieae	<i>Psydrax odorata</i>		44	Robbrecht, 1996
RUBIOIDEAE				
Argostemmateae	<i>Argostemma hookeri</i>		32	Robbrecht, 1996
	<i>Argostemma sp</i>		22	
Spermacoaceae	<i>Borreria anthospermoides</i>		22	Shibata, K., 1962 in 7
	<i>Borreria articularis</i>	28	56	Majundar, L., 1975 in 5
	<i>Borreria eradii</i>	14		Philip, O. <i>et al.</i> , 1975 in 5
	<i>Borreria pusilla</i>		56	Selvaraj, R., 1987 in 9
	<i>Borreria articularis</i>		64	Shivakumar, P. M. <i>et al.</i> , 1983 in 7
	<i>Borreria ocymoides</i>		40	
	<i>Borreria pusilla</i>		32	
	<i>Borreria scabra</i>		56	
	<i>Borreria verticillata</i>		28	
	<i>Borreria dibrachiata</i>		56/84	Lewis, W. H. 1966 in 2

	<i>Borreria ocymoides</i>		28	
	<i>Borreria hispida</i>	26		Philip, K. O. <i>et al.</i> , 1988 in 10
	<i>Borreria ocymoides</i>	14		
	<i>Borreria stricta</i>	28		
	<i>Borreria laevis</i>		24/28	Lewis, W. H., 1962 in 2
	<i>Borreria podocephala</i>		56	
	<i>Borreria terminalis</i>		84	
	<i>Borreria stachydea</i>		44	Miége, J., 1960 in 2
	<i>Diodia maritima</i>		28	Mangenot, S. <i>et al.</i> , 1962 in 2
	<i>Diodia natalensis</i>		28	Lewis, W. H., 1966 in 2
	<i>Diodia teres</i>		28	Jinno, T., 1956 in 2
	<i>Diodia virginiana</i>		28	Lewis, W. H., 1962 in 2
	<i>Mitracarpus hirtus</i>		28	Robbrecht, 1996
	<i>Spermacoce assurgens</i>		28	Robbrecht, 1996
Coccocypseleae	<i>Coccocypselum brevipetiolatum</i>		20	Kiehn, 1986
	<i>Coccocypselum decumbens</i>		20	
	<i>Coccocypselum guianense</i>		40	
	<i>Coccocypselum herbaceum</i>		10/12	
	<i>Coccocypselum hirsutum</i>		20/40	
	<i>Coccocypselum sp (México)</i>	20		
	<i>Coccocypselum lumbellatum</i>		38/40	
Anthospermeae	<i>Coprosma ernodeoides</i>		220	Robbrecht, 1996
	<i>Coprosma foliosa</i>		44	
	<i>Coprosma longifolia</i>		44	
	<i>Coprosma montana</i>		44	
	<i>Coprosma propinqua</i>		44	
	<i>Coprosma repens</i>		44	
	<i>Coprosma robusta</i>		44	
	<i>Coprosma rynchocarpa</i>		44	
	<i>Coprosma rugosa</i>		44	
	<i>Coprosma strigulosa</i>		44	
	<i>Nertera granadensis</i>		44	Robbrecht, 1996
	<i>Nertera setulosa</i>		40	Dawson & Beuzenberg, 2000
Hedyotideae	<i>Hedyotis centranthoides</i>		100	Robbrecht, 1996
	<i>Hedyotis eliator</i>		100	
	<i>Hedyotis litoralis</i>		96/100	
	<i>Hedyotis Terminalis</i>		96/100	
	<i>Hedyotis lessertiana</i>		72±3	Kiehn, 1986
	<i>Hedyotis trimenii</i>	70/82	140 / 160	
	<i>Oldenlandia corymbosa</i>		18	Robbrecht, 1996
Psychotrieae	<i>Hydnophytum longiflorum</i>		40/44	Robbrecht, 1996
	<i>Hydnophytum moseleyanum</i>		110±1	
	<i>Hydnophytum sp</i>		44	
	<i>Palicourea macgravii</i>		22+3B	Pinto-Maglio <i>et al.</i> , 1997
	<i>Psychotria sp</i>		40	Lewis, W. H., 1966 in 2
	<i>Psychotria africana</i>		44	Fagerlind, F., 1937 in 2
	<i>Psychotria bacteriophila</i>		22	
	<i>Psychotria brasiliensis</i>		22	
	<i>Psychotria emetica</i>		22	
	<i>Psychotria hirtella</i>		22	
	<i>Psychotria undulata</i>		22	
	<i>Psychotria andamanica</i>	34		Lewis, W. H., 1966 in 2
	<i>Psychotria kurzii</i>	12		
	<i>Psychotria pendulata</i>	17		
	<i>Psychotria platyneura</i>	17		
	<i>Psychotria bisulcata</i>	11		Bir, S. S. <i>et al.</i> , 1982 in 7

	<i>Psychotria elongata</i>	22	
	<i>Psychotria bisulcata</i>	22	Bir, S. S. et al., 1987 in 11
	<i>Psychotria congesta</i>	22	
	<i>Psychotria johnsonii</i>	22	
	<i>Psychotria truncata</i>	22	
	<i>Psychotria boninensis</i>	22	Ono, M., 1977 in 5
	<i>Psychotria brachyantha</i>	22	Mangenot, S. et al., 1962 in 2
	<i>Psychotria calva</i>	22	
	<i>Psychotria corallifera</i>	22	
	<i>Psychotria hallei</i>	22	
	<i>Psychotria rufipilis</i>	22	
	<i>Psychotria selacea</i>	22	
	<i>Psychotria sodifera</i>	22	
	<i>Psychotria vogeliana</i>	44	
	<i>Psychotria capensis</i>	22	Kiehn, 1985
	<i>Psychotria kirkii</i>	22	
	<i>Psychotria mahonii</i>	132	
	<i>Psychotria orophila</i>	88	
	<i>Psychotria peduncularis</i>	22	
	<i>Psychotria congesta</i>	44	Chatha, G. S. et al., 1987 in 10
	<i>Psychotria connata</i>	22	Philip, K. O. et al., 1988 in 10
	<i>Psychotria flavida</i>	22	
	<i>Psychotria globicephala</i>	22	
	<i>Psychotria nudiflora</i>	22	
	<i>Psychotria subintegra</i>	11	
	<i>Psychotria curvifolia</i>	22	Philip, O. et al., 1975 in 5
	<i>Psychotria forsteriana</i>	40/44	Robbrecht, 1996
	<i>Psychotria gardneri</i>	40/44	Kiehn, 1986
	<i>Psychotria sohmeri</i>	44	
	<i>Psychotria zeylanica</i>	40/44	
	<i>Psychotria globosa</i>	44	Gadella, T. W. J., 1977 in 5
	<i>Psychotria hoffmannseggiana</i>	22	Pinto-Maglio et al., 1997
	<i>Psychotria ligustrifolia</i>	22	Lewis, W. H., 1962 in 2
	<i>Psychotria nairobiensis</i>	22	
	<i>Psychotria undata</i>	22	
	<i>Psychotria nudiflora</i>	22	Selvaraj, R. et al., 1985 in 9
	<i>Psychotria rubra</i>	11	22 Hsu, C. -C., 1967 in 3
	<i>Psychotria rubra</i>		44 Huang, S. -F. et al., 1986 in 9
	<i>Psychotria serpens</i>		22 Hsu, C. -C., 1967 in 3
	<i>Psychotria sciadephora</i>	11	Gill, L. S. et al., 1991 in 12
	<i>Psychotria subobliqua</i>	11	
	<i>Psychotria vogeliana</i>	11	
	<i>Psychotria swynnertonii</i>	11	Gill, L. S., 1978 in 5
	<i>Psychotria warneckeii</i>	22	Baker, H. G., 1958 in 2
Morindeae	<i>Morinda forsteri</i>	22	Robbrecht, 1996
Ophiorrhizeae	<i>Ophiorrhiza laxa</i>	22	Robbrecht, 1996
	<i>Ophiorrhiza sp</i>	11	22
Rubieae	<i>Relbunium birsutum</i>	44	Diers, L., 1961 in 2
	<i>Relbunium birsutum</i>	22	Huynh, K. L., 1965 in 2
	<i>Relbunium hypocarpium</i>	66	
	<i>Relbunium microphyllum</i>	22	Dempster, L. T., 1973 in 4
	<i>Rubia cordifolia</i>	22	Kiehn, 1986

1 - DARLINGTON & WYLIE, 1955

2 - BOLKHOVSKIKH et al., 1969

3 - MOORE, 1973

4 - MOORE, 1977

5 - GOLDBLATT, 1981

6 - GOLDBLATT, 1984

7 - GOLDBLATT, 1985

8 - GOLDBLATT, 1988

9 - GOLDBLATT & JOHNSON, 1990

10 - GOLDBLATT & JOHNSON, 1991

11 - GOLDBLATT & JOHNSON, 1994

II – CONSIDERAÇÕES EVOLUTIVAS

Em termos morfológicos, a subfamília Rubioideae é considerada mais derivada que a subfamília Ixoroideae, tida como a mais basal do grupo (ROBBRECHT, 1988). No entanto, os dados de TF%, índice que indica a simetria cariotípica e para o que se aceita que um cariótipo assimétrico seria mais derivado (STEBBINS, 1950), não permitem apoiar o caminho evolutivo acima citado, com base na morfologia externa das plantas. Na verdade, os valores de TF% são pouco variáveis (Tabela 2), havendo inclusive sobreposição entre espécies das duas subfamílias. Entretanto, a subfamília Ixoroideae apresentou as duas espécies com cariótipo mais assimétrico (*Genipa americana*, com TF% = 38,60 e *Tocoyena formosa*, com TF% = 38,01), enquanto na subfamília Rubioideae foi obtido o cariótipo mais simétrico (*Borreria verticillata*, com TF% = 47,45).

Por outro lado, talvez a análise da variação dos números cromossômicos seja útil à interpretação de tendências evolutivas na família Rubiaceae (Tabela 3). O número básico $x = 11$ é considerado como o original para Rubiaceae, com redução ou aumento por aneuploidia em alguns grupos dentro da família (RAVEN, 1975).

Restringindo a análise de números cromossômicos a duas subfamílias aqui estudadas, é possível afirmar que em Ixoroideae são observadas as menores variações em relação ao número básico $x = 11$. Isso pode ser entendido como um reforço à proposição de ROBBRECHT (1988), de que a subfamília Ixoroideae seria a mais basal dentro de Rubiaceae. Dentre as contagens disponíveis, o número $2n = 22$ ($n = 11$), ou seus múltiplos, aparece em três tribos (Gardenieae,

Coffeae e Pavetteae) praticamente com exclusividade, à exceção de $2n = 20$ relatado em *Genipa infundibuliformis* (PIEROZZI *et al.*, 1997) e em *Ixora duffii* (Sharma, 1960, *in* BOLKHOUSKIKH *et al.*, 1969).

Por outro lado, na subfamília Rubioideae é observada a maior diversidade de números cromossômicos (Tabela 3), com relatos de vários números básicos além de $x = 11$, como $x = 2, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 20, 22$ (ROBBRECHT, 1996). A existência de vários x pode indicar a derivação da subfamília, da mesma forma como apontado por ROBBRECHT (1988) com base em características morfológicas. Apesar de haver exceções, observa-se o predomínio de um determinado número cromossômico em algumas tribos, como $2n = 28$ para Spermaceae, $2n = 20$ para Coccocypseae e $2n = 22$ para Psychotrieae, conforme já discutido anteriormente. Em outras tribos, aqui não abordadas, como Anthospermeae, Morindeae, Ophiorrhizeae e Rubieae, há também predomínio de números cromossômicos múltiplos de 11. Em Argostemmateae há só duas espécies estudadas, uma das quais com $2n = 22$ (ROBBRECHT, 1996). Finalmente, na tribo Hedyotideae, vários números cromossômicos são relatados, principalmente múltiplos de 10 ou 18 (Tabela 3).

Finalizando, com relação às outras duas subfamílias (Antirheoideae e Cinchonoideae), pode-se dizer que possuem situação intermediária no que se refere a variação de números cromossômicos (Tabela 3). Em Antirheoideae, tanto nas tribos Guettardeae como Vanguerieae, os números são múltiplos de 11, porém, diferentemente do observado na tribo Psychotrieae, não há espécies com $2n = 22$, mas sempre com $2n = 44$ ($n = 22$). Já na subfamília Cinchonoideae, a maioria das espécies apresentam $2n = 22$ (ou $2n = 44$), porém há também

algumas espécies com $2n = 36$ na tribo Isertieae e $2n = 34$ na tribo Chinchonaeae (Mangenot, 1958 in BOLKHOVSKIKH *et al.*, 1969), enquanto que na tribo Urophyllaeae há constância de $2n = 54$ (KIEHN, 1986).

Para RAVEN (1975), no que se refere ao número cromossômico, a família Rubiaceae está muito bem inserida na ordem Gentianales. O número básico $x = 11$ (RAVEN, 1975) ocorre também nas principais famílias de Gentianales, como Apocynaceae (incluindo Asclepiadaceae), Loganiaceae e Gentianaceae (JUDD *et al.*, 1999). Essa informação parece reforçar o número básico $x = 11$ como o mais basal dentro da ordem, o que já havia sido apontado por RAVEN (1975). Entretanto, há de se destacar que em Loganiaceae e Gentianaceae há também relatos de outros números básicos RAVEN (1975). Segundo JUDD *et al.* (1999), Loganiaceae forma um complexo basal na ordem e RAVEN (1975) apontou consistência dos dados cromossômicos para apoiar a derivação de Rubiaceae a partir de Loganiaceae, conforme proposto por CRONQUIST (1988).

Ainda do ponto de vista evolutivo, é interessante comentar que, segundo ROBBRECHT (1988), a poliploidia em espécies arbóreas de Rubiaceae é muito comum. Portanto, a poliploidia de *Amaioua intermedia* ($2n = 66$), aqui relatada, se encaixa no padrão de evolução cromossômica associada ao hábito mencionado por ROBBRECHT (1988). Entretanto, a ocorrência de poliploidia não é muito frequente na família Rubiaceae (Tabela 3). Dentre as 14 espécies aqui estudadas, a poliploidia ocorreu em apenas uma dentre as cinco espécies arbóreas (Tabela 1). Assim, a ampliação dos estudos cromossômicos para maior número de espécies poderá confirmar ou não a maior ocorrência de poliploidia em espécies arbóreas.

O maior conhecimento de características cariotípicas de espécies de Rubiaceae também trará contribuição à discussão de possíveis associações entre a derivação de caracteres morfológicos e alterações cromossômicas. Em outras famílias, como Sapindaceae e Malpighiaceae, foi observada relação entre alterações cromossômicas e derivação do hábito trepador a partir do arbóreo (RADFORD *et al.*, 1974), embora com diferentes mecanismos evolutivos. Em Sapindaceae, por exemplo, as espécies arbóreas possuem cromossomos menores e em maior número que as lianas (LOMBELLO & FORNI-MARTINS, 1998). Por outro lado, em Malpighiaceae, as espécies arbóreas têm cromossomos maiores e em menor número que as de outros hábitos (LOMBELLO & FORNI-MARTINS, *aceito*).

No momento, com os dados cariotípicos disponíveis, não é possível definir padrões que diferenciem claramente as subfamílias de Rubiaceae. No geral, há sobreposição de características cariotípicas, tanto considerando a divisão das subfamílias como os hábitos das espécies aqui estudadas (Tabela 1 e 2). Parece ser apenas coincidência o fato de cromossomos maiores serem encontrados em espécies arbóreas (6,77 a 2,41 μm em *Genipa americana*, subfamília Ixoroideae) ou arbustivas (7,33 a 2,77 μm em *Psychotria deflexa*, subfamília Rubioideae) e os menores em uma espécie herbácea (2,58 a 1,52 μm em *Coccocypselum lanceolatum*, subfamília Rubioideae).

CONCLUSÕES

Foram realizadas contagens cromossômicas para 14 espécies de Rubiaceae de Cerrado sendo dez delas inéditas, algumas para espécies, outras para gênero e outra para tribo. Duas espécies foram estudadas em meiose e doze em mitose. Foram confeccionados ideogramas para todas as espécies com contagem cromossômica mitótica.

As espécies estudadas estão subordinadas a duas subfamílias de Rubiaceae, que são Ixoroideae e Rubioideae, e estão contidas em cinco tribos e dez gêneros. Apesar do número pequeno de espécies estudadas, essas contribuíram para o melhor conhecimento dessa grande família.

A subfamília Ixoroideae foi representada por seis espécies da tribo Gardenieae, onde cinco espécies apresentaram $2n = 22$ (*Alibertia concolor*, *A. edulis*, *A. sessilis*, *Genipa americana* e *Tocoyena formosa*), e uma apresentou um número poliplóide de $2n = 66$ (*Amaioua intermedia*). Portanto, os resultados da subfamília Ixoroideae estão de acordo com o número básico mais representativo da família, $x = 11$.

A subfamília Rubioideae, com oito representantes de quatro tribos e seis gêneros, apresentou uma grande variação de números cromossômicos. Na tribo Coccocypseleae, *Coccocypselum lanceolatum* apresentou $2n = 20$; em Coussareeae, foi obtido $n = 11$ em *Coussarea hydrangeifolia*; em Psychotrieae, *Palicourea rigida* apresentou $n = 11$, *Psychotria hoffmannseggiana* $2n = 22$ e *P. deflexa* apresentou $2n = 32$. Por outro lado, todas as espécies da tribo Spermacoceae apresentaram $2n = 28$ (*Borreria latifolia*, *B. verticillata* e *Richardia*

brasiliensis). Portanto, os números cromossômicos obtidos estão de acordo com registros de outros números básicos para a família, apresentados na literatura, variando em $x = 2, 3, 4, 8, 9, 10, 12, 20$ e 22 .

Os ideogramas foram inéditos, exceto para *Genipa americana*. Todas as espécies apresentaram cariótipos simétricos, havendo uma predominância de cromossomos metacêntricos.

Os números cromossômicos obtidos corroboram a evolução anteriormente proposta para as subfamílias, baseada em características morfológicas. A subfamília Ixoroideae, apontada como a mais basal, caracteriza-se por apresentar maior constância de números cromossômicos em relação ao número básico $x = 11$. Por outro lado, na subfamília Rubioideae, considerada a mais derivada, observa-se maior diversidade de números cromossômicos, relacionados a vários números básicos, além de $x = 11$.

Não foi possível relacionar características cariotípicas (tamanho dos cromossomos e posição centromérica) à distribuição das espécies em subfamílias ou a determinados caracteres morfológicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVES, M. A. O. & CUSTÓDIO, A. V. C. 1989. Citogenética de leguminosas coletadas no estado do Ceará. *Revista Brasileira de Genética* 12: 81-92.
- AOKI, H. 1982. Considerações sobre a preservação dos cerrados. In: Congresso sobre essências nativas, 1. Campos do Jordão. Silv. SP., 16 – A: 372-384 (Edição Especial, v.1).
-
- BANDEL, G. 1974. Chromosome numbers and evolution in the Leguminosae. *Caryologia* 27: 17-32.
- BELTRÃO, G. T. A. & GUERRA, M. 1990. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco – III. *Ciência e Cultura* 42: 839-845.
- BENKO-ISEPPON, A. M. 1994. Estudos citotaxonômico preliminar em monocotiledôneas dos campos rupestres brasileiros. In: VI Congresso Latino-americano de Botânica. Mar del Plata, 1994. Libro de Resumenes: 241 p.
- BOLKHOVSKIKH, Z.; GRIF, V.; MATVEJEVA, T. & ZAKARYEVA, O. 1969. Chromosome numbers of flowering plants. Academy of Sciences of the USSR.
- BORGONOV, M. & CHIARINI, J. V. 1965. Cobertura vegetal do Estado de São Paulo; I- Levantamento por fotointerpretação das áreas cobertas com cerrado, cerradão e campo, em 1962. *Bragantia* 24 (14): 159-172.
- BORTOLETI, K. C. A.; BENKO-ISEPPON, C. A. M. & GITAÍ, J. 2002. Variabilidade Citogenética intra e interpopulacional em *Genipa americana* L. detectada com os Fluorocromos CMA e DAPI. In Anais do 53º Congresso Nacional de Botânica. Recife – PE. 460 p.

- CASTRO, A. A. J. F., MARTINS, F. R., TAMASHIRO, J. Y., SHEPHERD, G. J. 1999. How rich is the flora of Brazilian cerrados? *Annals of the Missouri Botanical Garden* 86: 192-224.
- CARVALHEIRA, G. M. G; GUERRA, M; SANTOS, G. A; ANDRADE, V. C; FARIAS, M. C. A. 1991. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco – IV. *Acta Botânica Brasilica* 5: 37-51.
- CAVASSAN, O. 1990. Florística e fitossociologia da vegetação lenhosa de um hectare de cerrado no Parque Ecológico Municipal de Bauru (SP). Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 206 p.
- COLEMAN, J. R. & DE MENEZES, E. M. 1980. Chromosome number in the Leguminosae from the State of São Paulo, Brazil. *Rhodora* 82: 475-481.
- COLEMAN, J. R. 1982. Chromosome numbers of angiosperms collected in the state of São Paulo. *Revista Brasileira de Genética*. 3: p. 533-549.
- COSTA, J. Y. 2002. Estudos cariotípicos na Família Alismataceae Vent. No Estado de São Paulo. Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- COUTINHO, L. M. 1990. O cerrado e a ecologia do fogo. *Ciência Hoje* 12 (68): 22-30.
- CRONQUIST, A. 1988. *The Evolution and Classification of Flowering Plants*. 2 nd ed. 555 p.

- CRUZ, N. D.; BOAVENTURA, Y. M. S.; CONAGIN, C. H. T. M.; DUTILH, J. H. A.; FORNI-MARTINS, E. R.; MEDINA, D. M.; MENDES, A. J. T.; PIEROZZI, N. I. & PINTO-MAGLIO, C. A. F. 1993. Citogenética Vegetal: Cinquenta e três anos de pesquisa da seção de citologia do Instituto Agronômico. Documentos do IAC, Campinas - SP . 27: 2-22.
- DARLINGTON, C. D. & WYLIE, A. P. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. University Press Aberdeen. 2 edition. 235-240.
-
- DURIGAN, G., BACIC, M. C., FRANCO, G. A. D. C. & SIQUEIRA, M. F. de. 1999. Inventário Florístico do Cerrado na Estação Ecológica de Assis, SP. Hoehnea 26 (2): 149 – 172.
- EHRENDORFER, E; MORAWETZ, W; DANE, J. 1984. The neotropical angiosperm families Brunelliaceae and Caryocaraceae: first karyosystematical data affinities. Plant Systematics and Evolution 145: 183-191.
- EITEN, G. 1963. Habitat flora of Fazenda Campininha. In: FERRI, M. G., coord. Simpósio sobre o cerrado. São Paulo, EDUSP. 179-231.
- FAGERLIND, F. 1937. Embryologische, zytologische und besläubungsexperimentelle studien in der familie Rubiaceae nebst Bemerkungen über einige polyploiditätsprobleme. Acta Horti Bergiani 11(9): 155-170.
- FÉLIX, L. P. & GUERRA, M. 1999. Chromosome analysis in *Psycmorchis pusilla* (L.) Dodson & Dressler: the smallest Chromosome number known in Orchidaceae. Caryologia 52(3-4): 165-168.
- FERRI, M. G. 1969. Plantas do Brasil. Espécies de cerrado. São Paulo, Edgar Blücher e EDUSP.

- FERRI, M. G. 1977. Ecologia dos Cerrados. *In*: FERRI, M. G., coord. Simpósio sobre o cerrado: bases para utilização agropecuária. São Paulo, EDUSP, Belo Horizonte, Itatiaia. p. 15-36.
- FORNI-MARTINS, E. R. 1984. Estudos citotaxonômicos no complexo *Phaseolus-Vigna-Macroptilium* (Leguminosae Papilionoideae). Tese de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- FORNI-MARTINS, E. R.; PINTO-MAGLIO C. A. F. & CRUZ. N. D. DA. 1989. IOPB chromosome data 1. Internation Organization Plant Biosystematics Newslett, 13:17.
- FORNI-MARTINS, E. R.; PINTO-MAGLIO, C. A. F. & CRUZ, N. D. 1995. Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. *Revista Brasileira de Genética* 18(2): 281-288.
- FORNI-MARTINS, E. R. & GUERRA, M. 1999. Longitudinal differentiation in chromosomes of some *Sesbania* Scop. Species (Fabaceae). *Caryologia* 52 (1-2): 97-103.
- FORNI-MARTINS, E. R. & MARTINS, F. R. 2000. Chromosome studies on Brazilian *cerrado* plants. *Genetics and Molecular Biology* 23(4): 947-955.
- GIANNOTTI, E. & LEITÃO FILHO, H. F. 1992. Composição Florística do Cerrado da Estação Experimental de Itirapina (SP). *In* Anais do 8º Congresso SBSP. 21-25.
- GIANNOTTI, E. & LEITÃO FILHO, H. F. 2000. Matas Ciliares: Conservação e Recuperação. São Paulo. Edusp. Fapesp 49-71.
- GIBBS, P. E. & INGRAM, R. 1982. Chromosome numbers of some Brazilian flowering plants. *Notes Royal Botanical Garden Edinburg* 40 (2): 399-407.

- GOLDBLATT, P., 1981. Index to plant chromosome numbers 1975-1978. V. 5. Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P., 1985. Index to plant chromosome numbers 1982-1983. V. 13. Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P., 1988. Index to plant chromosome numbers 1984-1985. V. 23. Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D. E., 1990. Index to plant chromosome numbers 1986-1987. V. 30. Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D. E., 1991. Index to plant chromosome numbers 1988-1989. V. 40. Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D. E., 1994. Index to plant chromosome numbers 1990-1991. V. 51. Missouri Botanical Garden.
- GUERRA, M. 1983. O uso de Giemsa em citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandamento. *Ciência e Cultura* 35: 190-193.
- GUERRA, M. 1986. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan et al. *Revista Brasileira de Genética* IX 4: 741-743.
- GUERRA, M. 1986. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco I. *Revista Brasileira de Genética* 9: 21-40.
- GUERRA, M. 1988. *Introdução à Citogenética Geral*. Ed. Guanabara. Rio de Janeiro – RJ. 142p.
- HARTEN, A. M. VAN. 1976. *Evolution of Crop Plants*. Longman, London and New York. 255-257.

- HERINGER, E. P., BARROSO, G. M., RIZZO, J. A. & RIZZINI, T. 1977. A flora do cerrado. In: IV Simpósio sobre o cerrado: bases para utilização agropecuária. EDUSP, Belo Horizonte, Itatiaia, 211-232.
- HUZIWARA, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of compositae – VIII. Further studies on the chromosome of Asteride. American Journal of Botany 49, 116-119.
- JOLY, A. B. 1975. Botânica: introdução à taxonomia vegetal. EDUSP, São Paulo. 554-573.
- JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S., KELLOG, E. A. & STEVENS, P. F. 1999. Plant systematics: a phylogenetic approach. Sinauer Associates Inc., Sunderland. 363-366.
- KIEHN, M. 1985. Karyosystematische Untersuchungen na Rubiaceae: Chromosomenzahlungen aus Afrika, Madagaskar und Mauritius. Plant Systematics and Evolution 149: 89-118.
- KRUG, C. A. 1934. Contribuição para o estudo da citologia do gênero *Coffea*. I – Boletim Técnico 11, Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas – SP.
- LOMBELLO, R. A. 2000. Estudo cromossômico em Malpighiaceae A. Jussieu. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- LOMBELLO, R. A. & FORNI-MARTINS, E. R. 1998. Chromosomal studies and evolution in Sapindaceae. Caryologia 51(1): 81-93.
- LOMBELLO, R. A. & FORNI-MARTINS, E. R. 2001. Cytological studies on *Banisteriopsis* C. B. Robinson ex small and *Hereropterys* Kunth (Malpighiaceae). Cytologia 66: 253-259.

- MORAWETZ, W. 1986. Remarks on Karyological differentiation patterns in tropical woody plants. *Plant Systematics and Evolution* 152: 49-100.
- PAUWELS, P. G. J. 1985. Atlas geográfico Melhoramentos. São Paulo, Melhoramentos. 850 p.
- PIEROZZI, N. I. & CRUZ, N. D. da. 1988. Números e identificação dos cromossomos de *Genipa americana* L. (Rubiaceae) através de técnicas de banda C. *Ciência e Cultura* 40: 802.
-
- PIEROZZI, N. I. & MENDAÇOLLI, S. L. J. 1997. Karyotype and C-band analysis in two species of *Genipa* L. (Rubiaceae, Gardenieae tribe). *Cytologia* 62: 81-90.
- PIEROZZI, N. I.; PINTO-MAGLIO, C. A. F. & CRUZ, N. D. da. 1999. Characterization of somatic chromosome of two diploid species of *Coffea* L. with acetic orcein and C-bands techniques. *Caryologia* 52: 1-8.
- PINHEIRO, G. S.; LIMA, O. S.; MORAES, J. L. 1976. Inventário florestal das Estações Experimentais do Instituto Florestal – Fase 1: Cadastramento dos plantios. *Boletim Técnico* 23. São Paulo, Instituto Florestal. 80p.
- PINTO-MAGLIO, C. A. F. & CRUZ, N. D. da. 1988. Pachytene chromosome morphology in *Coffea* L. II. *C. Arabica* L. complement. *Caryologia* 51(1): 19-35.
- PINTO-MAGLIO, C. A. F.; PIEROZZI, N. I. & JUNG-MENDAÇOLLI, S. L. 1997. Número cromossômico de Rubiaceae. *International Organization of Plant Biosystematists (IOPB)*. 26/27: 23-24.
- PINTO-MAGLIO, C. A. F.; CUÉLLAR, T. & BARBOSA, R. L. 2000. Aplicação de técnicas de citogenética molecular na caracterização dos cromossomos da espécie *Coffea arabica* L. *In* I Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil. Resumos Expandidos. Poços de Caldas – MG 1: 444-446.

- RAVEN, P. H. 1975. The bases of Angiosperm Phylogeny: Cytology. *Annals Missouri Botanical Garden* 62(3): 724-764.
- RIZZINI, C. T. 1963. A flora do cerrado – análise florística das savanas centrais. In: FERRI, M. G. (coord.). I simpósio sobre o cerrado. EDUSP 125-177.
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical Woody Rubiaceae. *Opera Botanica Belgica* 1. 272 p.
- ROBBRECHT, E. 1996. Chromosome of Rubiaceae occurring in Malesia, the Philippines, New Guinea, and the Pacific. *Opera Botanica Belgica* 7: 249-260.
- SALIS, S. M.; ZICKEL, C. S. & TAMASHIRO, J. Y. 1996. Fitossociologia do sub-bosque da mata da Reserva Municipal de Santa Genebra, Campinas (Estado de São Paulo). *Naturalia* 21: 171-180.
- SCHUMANN, C. 1981-1989. *Flora Brasiliensis*. Vol. VI. Pars. VI. 974p.
- SERRA FILHO, R.; CAVALLI, A. C.; GUILLAUMON, J. R.; CHIARINI, J. V.; NOGUEIRA, F. P.; IVANKO, C. M.; BARBIERI, J. L.; DONZETI, P. L.; COELHO, A. G. S.; BITTENCOURT, I. 1974. Levantamento da cobertura natural e de reflorestamento no estado de São Paulo. São Paulo, Instituto Florestal. *Boletim Técnico* 11. 56 p.
- SOARES, M. M; GUERRA, M; GALINDO, F. 1988. Citogenética de Angiospermas coletadas em Pernambuco – II. *Ciência e Cultura* 40: 780-786.
- STACE, C. A. 1989. *Plant Taxonomy and Biosystematics*. 2 ed. New York, Cambridge University Press.
- STEBBINS, G. L. 1950. *Variation and evolution in plants*. New York, Columbia University Press.

- STEBBINS, G. L. 1971. Chromosomal Evolution in Higher Plants. New York, Columbia University Press.
- SUZUKI, D. T.; GRIFFITHS, A. J.F.; MILLER, J. H. & LEWONTIN, R. C. 1989. Introdução à Genética. 4 edição. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan.
- SYBENGA, J. 1960. Genetics and Cytology of Coffee. *Bibliographia Genetica* 19: 217-316.
- TOLEDO FILHO, D. V. 1984. Composição florística e estrutura fitossociológica da vegetação de cerrado no município de Luis Antonio (SP). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 173 p.
- VANZELA, A. L. L. & GUERRA, M. 2000. Heterochromatin differentiation in holocentric chromosomes of *Rhynchospora* (Cyperaceae). *Genetics and Molecular Biology* 23(2): 453-456.
- VELOSO, H. P. 1948. Fitofisionomia e algumas considerações sobre a vegetação do Centro-oeste brasileiro. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* 46(4): 812-852.
- VELOSO, H. P. 1966. Atlas florestal do Brasil. Rio de Janeiro. Serviço de Informação Agrícola, Ministério da Agricultura. 82 p.
- VERDCOURT, B. 1958. Remarks on the classification of the Rubiaceae. *Bulletin du Jardin Botanique de L'Etat Bruxel.* 28(3): 209-290.
- ZAPPI, D.C.; SEMIR, J. & PIEROZZI, N. I. 1995. *Genipa infundibuliformis* sp. nov. and notes on *Genipa americana* (Rubiaceae). *Kew Bulletin* 50(4): 761-771.