

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

Maria Teresa Almeida de Azevedo

“Padrões evolutivos em um complexo de espécies de *Lychnophora* Mart. (Asteraceae) endêmico dos campos rupestres”

Tese apresentada ao Instituto de Biologia
para obtenção do Título de Mestre em
Genética e Biologia Molecular na área de
Genética Vegetal e Melhoramento.

Orientadora: Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini

Co-orientador: Prof. Dr. João Semir

Campinas
2004

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

Az25p

Azevedo, Maria Teresa Almeida de

Padrões evolutivos em um complexo de espécies de *Lychnophora* Mart. (Asteraceae) endêmico dos campos rupestres / Maria Teresa Almeida de Azevedo.--

Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientadora: Vera Nisaka Solferini

Co-orientador: João Semir

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

1. Variabilidade. 2. Genética populacional. 3. Química. I. Solferini, Vera Nisaka. II. Semir, João. III. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. IV. Título.

Campinas, 09 de junho de 2004.

Banca Examinadora

Profa. Dra. Vera Nisaka Solferini (Orientadora)

Assinatura

Prof. Dr. Louis Bernard Klaczko

Assinatura

Prof. Dr. Antonio Salatino

Assinatura

Dr. Pedro Luís Rodrigues de Moraes

Assinatura

RESUMO

De maneira geral, espécies com distribuição geográfica restrita apresentam baixos níveis de variabilidade genética, porém, algumas exceções a esse padrão foram encontradas. O gênero *Lychnophora* Mart (Asteraceae: Vernonieae), endêmico dos campos rupestres brasileiros, possui uma grande diversidade de espécies e um alto grau de endemismo. Quatro espécies de um complexo desse gênero, com diferentes amplitudes de distribuição geográfica foram investigadas através da análise de locos isozímicos e de compostos terpênicos. Os resultados da análise isozímica indicam uma maior variabilidade genética nas espécies com distribuição geográfica mais restrita, sendo este padrão compreendido através de algumas características ecológicas e da história evolutiva de suas populações. A alta estruturação genética entre populações muito próximas geograficamente indica a ação de outras forças evolutivas além do fluxo gênico. Os coeficientes de distância genética e a análise de ordenação linear das frequências alélicas corroboram a hipótese de uma alta proximidade filogenética entre essas espécies. Quanto à diversidade química, *Lychnophora ramosissima*, cuja distribuição geográfica é muito restrita possui o maior número de compostos terpênicos. Essa espécie apresentou compostos exclusivos, o que permitiu diferenciá-la das demais. Em *Lychnophora rupestris*, *L. granmogolense* e *L. nanuzae*, a composição química concorda com a maior similaridade morfológica entre elas. Algumas hipóteses sobre a evolução desse complexo são discutidas.

ABSTRACT

Usually species with a restricted geographic distribution show low genetic variability, but some exceptions to this pattern have been reported. The genus *Lychnophora* Mart. (Asteraceae, Vernonieae), endemic of Brazilian campos rupestres, presents high species diversity and high degree of endemism. Four species belong to a complex of this genus, with different geographical ranges, had allozymes loci and terpenic compounds investigated. Results of allozyme analysis showed higher genetic variability in geographically restricted species, pattern that could be explaining by some ecological and evolution history characteristics of this species. The high genetic structure between near populations suggests the action of others evolutive forces beyond gene flow. The coefficients of genetic distances and the allelic frequencies analysis corroborate the high phylogenetic proximity between this species. About chemical diversity, *Lychnophora ramosissima*, geographically restricted, had the higher number of terpenic compounds. This species showed exclusive compounds that permitted distinguish her to the others. In *Lychnophora rupestris*, *L. granmogolense* e *L. nanuzae*, the chemical composition accords the high morphological similarity between theirs. Hypothesis about this species complex evolution were discussed.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à minha família, em especial, a minha mãe Cleuza, minha irmã Mariana e meu sobrinho João Victor, pelo amor, carinho, confiança e incentivo, sem os quais não teria conseguido caminhar durante todos esses anos.

A meu pai, por ter me ensinado a enxergar a vida com mais alegria e esperança.

Ao Bruno, minha paixão, meu amor, minha vida.

Ao Bráulio, à Luiza, e à Lívia, pelo apoio, conselhos e por todo o amor.

A grande amiga Kayna, pelo apoio, conselhos e incentivos, mesmo à distância. Por estar sempre presente e disposta a ajudar.

À Minha Orientadora Professora Vera Solferini, pelo apoio e confiança, durante todos esses anos de trabalho. Por me ensinar grande parte do que aprendi sobre como trabalhar com pesquisa.

Ao Professor João Semir, por ter me apresentado esse grupo tão interessante e intrigante de plantas e incentivar o seu estudo. Por me ensinar a fazer questionamentos sobre a evolução dessas plantas e a propor hipóteses.

Ao Professor José Roberto Trigo, pela ajuda imprescindível na produção do segundo capítulo desta tese.

Ao Professor Louis Bernard, um exemplo de pesquisador e ser humano, por ser o meu grande incentivo para continuar a trabalhar com pesquisa, pelo apoio, carinho e por todos os inúmeros ensinamentos, científicos e pessoais, desde a graduação.

Ao Professor Thomas, pela confiança e apoio, sem o qual não seria possível a realização desse trabalho.

Aos membros da pré-banca, pelas correções, sugestões valiosas e pela atenção dispensada.

A todos os meus professores, da graduação e pós-graduação que contribuíram para a minha formação profissional e pessoal.

Aos companheiros de coletas, Mariana, Leonardo, Cristiano, Silvia, Marina e Renato pela ajuda e alegria. Em especial, agradeço a Mariana, por ter me ensinado a identificar as espécies no campo, fornecido todo o apoio necessário para a definição das populações, pelas fotos apresentadas nesse trabalho e por me fazer entender o que os campos rupestres têm de tão especial.

Aos colegas de laboratório, pelo companheirismo e ajuda em muitos momentos: Juliana Farinaci, Tibúrcio, Karla, Aluana, Gustavo, Suzana, Evandro, Bruno, Renato, Claudemir, Ricardo, Hebert, Mayna, Joyce, e especialmente a Tereza, Flavia, Karina, Sônia e Juliana pela ajuda imprescindível na conclusão deste trabalho, pelos conselhos, pelos ensinamentos, inúmeras sugestões e pela amizade.

A todos os meus colegas de turma, pela alegria, apoio e amizade, desde o primeiro ano de graduação.

Aos companheiros de “república”, Márcio, Aluana, Suzana, Liliam e Eliane.

A todos os meus amigos, pelo carinho e por fazerem parte de minha vida.

A FAPESP e a FMB pelo apoio financeiro.

ÍNDICE

Introdução geral	1
Referências bibliográficas	4
Capítulo I. Variabilidade genética em espécies de <i>Lychnophora</i> Mart. com diferentes amplitudes de distribuição geográfica.	9
Resumo	10
Introdução	11
Objetivos	14
Material e métodos	14
Resultados	25
Discussão	56
Conclusão	65
Referências bibliográficas	66
Capítulo II. Metabólitos secundários como marcadores taxonômicos e evolutivos em espécies de <i>Lychnophora</i> Mart.	74
Resumo	75
Introdução	76
Material e métodos	79
Resultados	83
Discussão	92
Referências bibliográficas	96
Considerações gerais	102

INTRODUÇÃO GERAL

A Cadeia do Espinhaço, assim como a maioria das regiões montanhosas, é reconhecida como uma área de alto endemismo (Kruckeberg e Rabinowitz, 1985; Giuliatti et al.; 1987). O isolamento das suas montanhas e as suas condições ambientais especiais são alguns dos principais responsáveis pela sua composição florística singular (Rapini, 2002). É uma formação geológica antiga, datada do Pré-Cambriano, com uma estrutura atual que reflete a ação de um longo processo erosivo e da tectônica mais recente do Terciário (Giuliatti, 1987; Giuliatti e Pirani, 1988; Harley, 1995).

Essa cadeia montanhosa, localizada nos estados de Minas Gerais e Bahia, possui cerca de 1.100 Km de comprimento (norte-sul), com elevações acima de 800 metros, chegando a 2000 metros em alguns picos. O substrato é composto principalmente por quartzito e rochas areníticas. Acima de 900 metros, encontramos um ecossistema denominado de campos rupestres, cujas principais características são os solos ácidos e oligotróficos, normalmente rasos e arenosos, com muitos afloramentos rochosos, onde ocorrem principalmente herbáceas, arbustos e subarbustos esclerófilos (Joly, 1970; Giuliatti e Pirani; 1988).

Eiten (1977) foi o primeiro a utilizar a denominação complexos para esse ecossistema, pois ele é constituído por uma série de campos de tipos diferentes tanto espacialmente quanto floristicamente, formando um mosaico de fisionomias. Essa complexidade reflete a topografia acidentada, a declividade, e as diferenças locais na natureza do substrato e microclima. Os campos rupestres são interrompidos por regiões de menores altitudes, ocupadas originalmente por mata, cerrado e/ou caatinga, fazendo com que as espécies de plantas ocorram, na maioria das vezes, em populações fragmentadas (Semir, 1991).

Segundo Giuliatti et al. (1987), os campos rupestres possuem a maior proporção de espécies endêmicas da flora brasileira. Esse endemismo extraordinário também já havia sido apontado por Joly (1970), que o considera maior que o de qualquer outro tipo vegetacional brasileiro. Nesse ambiente já foram descritos gêneros endêmicos, em muitos casos, com espécies restritas a apenas uma região específica ou a uma única localidade (Harley & Simmons, 1986; Giuliatti et al.; 1987, Guiliatti & Pirani, 1988; Harley, 1995; Semir, 1991).

A grande diversidade de espécies e o alto grau de endemismo fizeram dos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço o foco de inúmeros estudos, na tentativa de descrever as floras locais e os padrões de distribuição das espécies (Harley e Simons, 1986; Stannard, 1995; Giuliatti et al., 1987; Pirani et al., 1994; Semir, 1991). No entanto, pouco se sabe sobre os possíveis mecanismos e forças evolutivas envolvidas na origem e manutenção dessa grande diversidade e endemismo, o que é de fundamental importância no estabelecimento de programas de manejo e conservação para essas áreas (Azevedo et al., 2001; Borba et al., 2001; Farinaci 2001; Jesus 2001; Jesus et al. 2001).

Há décadas, quando técnicas eletroforéticas foram utilizadas pela primeira vez para estudar a variabilidade isozímica em populações, uma grande quantidade de estudos documentou a distribuição da variabilidade genética em um grande número de espécies com diferentes formas de vida e sistemas de cruzamento. Grande parte dessa informação foi compilada em alguns artigos, na tentativa de estabelecer generalizações, principalmente sobre os níveis de variabilidade genética em espécies com algumas características semelhantes (Hamrick et al., 1979; Loveless and Hamrick, 1984; Hamrick e Godt, 1989; Karron, 1987). O estabelecimento dessas generalizações permite a caracterização genética de uma espécie para qual a informação genética ainda não está disponível, o que

corresponde não só à maioria das espécies de plantas dos campos rupestres, mas também à maioria das espécies de plantas já descritas em todo o mundo. No entanto, alguns estudos mais recentes apontam a dificuldade de inferir os parâmetros genéticos das espécies de plantas e os seus prováveis fatores causais a partir do conhecimento de apenas algumas de suas características: ecológicas, reprodutivas, ou a sua amplitude de distribuição geográfica (Hamrick et al., 1991, 1996; Gitzendanner e Soltis, 2000).

Segundo Li (1997), os processos biológicos responsáveis pela distribuição e manutenção da variabilidade genética são ainda pouco compreendidos, sendo essencial a continuação dos estudos para o desenvolvimento de fundamentos empíricos sobre essas conclusões e para estabelecer os limites aos quais essas generalizações possam ser estendidas.

O gênero *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernonieae) é eminentemente endêmico no Brasil, ocorrendo, principalmente, nos complexos vegetacionais rupestres da Bahia e Minas Gerais (Semir, 1991). A grande diversidade e o alto grau de endemismo encontrado nesse gênero, com espécies próximas apresentando diferentes amplitudes de distribuição geográfica, torna esse grupo muito interessante para a compreensão da influência da distribuição geográfica sobre as características genéticas das espécies de plantas.

A eletroforese de isozimas vem sendo utilizada com sucesso no estudo de espécies endêmicas (Crawford et al., 1992; Cosner e Crawford, 1994; Francisco-Ortega et al., 1996; Godt e Hamrick, 1996; Gitzendanner e Soltis, 2000, entre outros) bem como na resolução de questões sistemáticas em Asteraceae (Crawford et al., 1987; Cosner e Crawford, 1990; Bayer, 1991; Lowe e Abbott, 1996; entre outros).

Além da eletroforese de isozimas, a análise de metabólitos secundários também tem sido muito utilizada em trabalhos sistemáticos dos gêneros de Asteraceae (Seaman et al.,

1990; Hertz, 1996; Emerenciano et al, 1998; Harborne, 2000). Estudos populacionais utilizando esses compostos como marcadores evidenciam a sua capacidade para a detecção de mecanismos e forças evolutivas, podendo ser considerados ferramentas importantes na compreensão da evolução das espécies de plantas (Mabry, 1970; Turner, 1970; Rudloff e Lopp, 1992; Adams et al., 1993).

O objetivo deste trabalho foi investigar os padrões evolutivos de um complexo de espécies de *Lychnophora* com diferentes amplitudes de distribuição geográfica, a fim de compreender melhor a relação entre a amplitude de distribuição geográfica e a diversidade genética e química e aumentar os conhecimentos sobre a genética e a evolução das plantas dos campos rupestres brasileiros. Para isso, a caracterização da variabilidade genética intra e interespecífica e a sua estruturação foi realizada através da eletroforese de isozimas, bem como a caracterização da composição química através da análise dos terpenos presentes nessas espécies.

Referências bibliográficas

Adams, R. P., T. Demeke, H. A. Abulfatih. 1993. RAPD DNA fingerprints and terpenoids: clues to past migrations of *Juniperus* in Arabia and east Africa. Theoretical and Applied Genetics, 87: 22 – 26.

Azevedo, M. T. A., V. N. Solferini, E.L. Borba, J. Semir. 2001. Estruturação genética em orquídeas miófilas de campos rupestres. Anais do 47º Congresso Nacional de Genética, Águas de Lindóia, São Paulo. pp360.

Bayer, R. J. 1991. Allozymic and morphological variation in *Antennaria* (Asteraceae: Inuleae) from the Low Artic of Northwestern North America. Systematic Botany, 16: 492 – 506.

Borba, E. L., J. M. Felix, V. N. Solferini, J. Semir. 2001. Fly- Pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species have High genetic variability: evidence from isozyme markers. American Journal of Botany, 88: 419-428.

Cosner, M. E., D. J. Crawford. 1990. Allozyme variation in *Coreopsis* sct. *Coreopsis* (Compositae). Systematic Botany, 15: 256 – 265.

Cosner, M. E., D. J. Crawford. 1994. Comparisons of isozyme diversity in three rare species of *Coreopsis* (Asteraceae). Systematic Botany, 19: 350 – 358.

Crawford, D. J., T. F. Stuessy, M. Silva. 1987. Allozyme divergence and the evolution of *Dendroseris* (Compositae: Lactuceae) on the Juan Fernandez Island. Systematic Botany, 12: 435 – 443.

Crawford, D. J., T. F. Stuessy, D. W. Haines, M. B. Cosner, M. Silva, P. Lopez. 1992. Allozyme diversity within and divergence among four species of *Robinsonia* (Asteraceae: Senecioneae), a genus endemic to the Juan Fernandez Islands, Chile. American Journal of Botany, 79: 962 – 966.

Eiten, G. 1977. Delimitação do Conceito de Cerrado. Arq. Jard. Bot. Rio de Janeiro, 21: 125 – 134.

Emerenciano, V. P, M. A. C. Kaplan, O. R. Gottlieb, M. R. M. Bonfanti, Z. S. Ferreira, L. M. A. Comegno. 1986. Evolution of Sesquiterpene Lactones in Asteraceae. Biochemical Systematics and Evolution, 14: 585 – 589.

Farinaci, J. S. 2001. Variabilidade genética em algumas espécies de *Bulbophyllum* Thouars (Orchidaceae) de campos rupestres. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Francisco-Ortega, J., D. J. Crawford, A. Santos-Guerra, J. A. Carvalho. 1996. Isozyme differentiation in the endemic genus *Argyranthemum* (Asteraceae: Anthemideae) in the Macaronesian Islands. Plant Systematics and Evolution, 202: 137 – 152.

Gitzendanner, M. A., P. S. Soltis. 2000. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. American Journal of Botany, 87: 783 – 792.

Giulietti, A. M., N. L. Menezes, J. R. Pirani, M. Meguro, M. G. L. Wanderley. 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Caracterização e lista de espécies. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo, 9: 1 – 152.

Giulietti A. M., J. R. Pirani. 1988. Patterns of geographic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. Em: Proceedings of a Workshop on Neotropical Distribution Patterns (eds. W. R. Heyer, P. E. Vanzolini). pp. 39 – 69. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.

Hamrick, J. L., Y. B. Linhart, J. B. Mitton. 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. Annual Review of Ecology and Systematics, 10: 173-200.

Hamrick, J. L., J. W. Godt. 1989. Allozymes diversity in plant species. Em: Plant population genetics, breeding and genetic resources (eds., Brown A. H. D., M. T. Clegg, A. L. Kahler, B. S. Weir). pp. 43 – 63. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

Hamrick, J. L., M. J.W. Godt, D. A. Murawski, M. D. Loveless. 1991. Correlations between species traits and allozymes diversity. Em: Genetics and Conservation of Rare Plants (eds., Falk D. A., K. E. Holsinger). pp. 75 - 86, Oxford University Press, New York.

Hamrick, J. L., J. W. Godt, 1996, Conservation genetics of endemic plant species. Em: Conservation genetics: case histories from nature (eds., Avise J. C., J. L. Hamrick), pp. 281 – 304, Chapman and Hall, New York.

Harborne, J. B. 2000. Arsenal for survival: secondary plant products. Taxon, 49: 435 – 449.

Harley, R. M., N. A. Simmons. 1986. Florula of Mucugê. Chapada Diamantina – Bahia, Brazil. Royal Botanic Gardens, Kew.

Harley, R. M. 1995. Introduction. Em: Flora of the Pico das Almas: Chapada Diamantina – Bahia, Brazil (eds. B. L. Stannard). pp. 1 – 40. Royal Botanic Gardens, Kew.

Hertz, W. 1996. A review of the terpenoid chemistry of the Vernoniaeae. Em: Compositae: systematics. (eds., D.J.N. Hind, H.J Beentje). pp 229–251. Whitstable Litho Printers Ltd., London.

Jesus, F. F. 2001 Variabilidade genética em *Proteopsis* Mart.& Zucc. e *Minasia* H. Rob. (Asteraceae: Vernoniaeae), gêneros endêmicos de campos rupestres. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Jesus, F. F., V. N. Solferini, J. Semir, P. I. Prado. 2001. Local genetic differentiation in *Proteopsis argentea* (Asteraceae), a perennial herb endemic in Brazil. Plant Systematics and Evolution, 226: 59 – 68.

Joly, A. B. 1970. Conheça a vegetação brasileira. EDUSP e Polígono. São Paulo.

Karron, J. D. 1987. A comparison of levels of genetic polymorphism and self – compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners. Evolutionary Ecology, 1: 47 – 58.

Kruckeberg, A. R., D. Rabinowitz. 1985. Biological aspects of endemism in higher plants. Annual Review of Ecology and Systematics, 16: 447 – 479.

Li, W.S. 1997. Molecular evolution. Sinauer, Sunderland, Massachusetts.

Loveless, M. D., J. L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annual Review of Ecology and Systematics, 15: 65 – 95.

Lowe, A. J., R. J. Abbott. 1996. Origins of the new allopolyploid species *Senecio cambrensis* (Asteraceae) and its relationship to the Canary Island endemic *Senecio teneriffae*. American Journal of Botany, 83: 1365 – 1372.

Mabry, T. J., 1970. Intraspecific variation of sesquiterpene lactones in *Ambrosia* (Compositae): applications to evolutionary problems at the populational level. Chapter 13. Em: Phytochemical Phylogeny Proceedings (ed. J. B. Harbone).pp. 269 – 298. Academic Press Inc., London.

Pirani, J. R., A. M. Giuliatti, R. Mello-Silva, M. Meguro. 1994. Checklist and patterns of geographic distribution of the vegetation of Serra do Ambrósio, Minas Gerais, Brazil,

Revista Brasileira de Botânica, 17: 133 – 147.

Rapini, A., R. Mello-Silva, M. L. Kawasaki. 2002. Richness and endemism in Asclepiadoideae (Apocynaceae) from the Espinhaço Range of Minas Gerais, Brazil - a conservationist view. Biodiversity and Conservation, 11: 1733 – 1746.

Rudloff, E.V., M. S. Lopp. 1992. Chemosystematic studies in the genus *Pinus*. VII. The leaf oil terpene composition of ponderosa pine, *Pinus ponderosa*. Canadian Journal of Botany, 70: 374 – 378.

Seaman, F., F. Bohlmann, C. Zdero, T. J. Mabry. 1990. Diterpenes in flowering plants; Compositae (Asteraceae). Springer, Berlin

Semir, J. 1991. Revisão Taxonômica de Lychnophora Mart. (Vernonieae: Compositae). Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Stannard, B. L. (ed.). 1995. Flora of the Pico das Almas: Chapada Diamantina – Bahia, Brazil. Royal Botanic Gardens, Kew.

Turner, B. L. 1970. Molecular approaches to populational problems at the infraspecific level. Chapter 10. Em: Phytochemical Phylogeny Proceedings (ed. J. B. Harbone).pp. 187 – 204. Academic Press Inc. London.

CAPÍTULO I

VARIABILIDADE GENÉTICA EM ESPÉCIES DE *LYCHNOPHORA* MART. COM DIFERENTES AMPLITUDES DE DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Resumo

Um grande número de estudos indica que, de maneira geral, as espécies com distribuição geográfica restrita apresentam baixos níveis de variabilidade genética. No entanto, poucos desses estudos envolvem comparações entre espécies filogeneticamente próximas, podendo confundir os efeitos da amplitude de distribuição geográfica sobre a variabilidade genética com aqueles relacionados à história evolutiva do táxon. Neste trabalho, quatro espécies próximas pertencentes ao gênero *Lychnophora*, com diferentes amplitudes de distribuição geográfica, foram comparadas com relação à variabilidade e estruturação genética. Os resultados indicam um padrão genético oposto às generalizações: as espécies com distribuição mais restrita foram as que apresentaram, de maneira geral, maior variabilidade genética, sendo este padrão compreendido através de algumas de suas características ecológicas e históricas. A estruturação genética dessas espécies não está relacionada à amplitude de distribuição geográfica sendo, provavelmente, influenciada pelas suas características reprodutivas, modo de dispersão das sementes e frutos e por forças evolutivas com ação local. Os baixos coeficientes de distância genética e a análise de ordenação das frequências alélicas corroboram a hipótese de uma alta proximidade filogenética entre essas espécies, podendo ser caracterizadas como um complexo.

Palavras chaves: *Lychnophora*, endemismo, distribuição geográfica, variabilidade genética, campos rupestres.

Introdução

Quando comparamos, de uma maneira geral, os níveis de variabilidade genética encontrados em espécies com diferentes amplitudes de distribuição geográfica, verificamos que aquelas com distribuição mais restrita apresentam menor variabilidade genética do que as mais amplamente distribuídas (Karron, 1987; Hamrick e Godt, 1989; Hamrick e Godt, 1996; Godt e Hamrick, 1998; Maki e Asada, 1998; Edwards e Sharitz, 2000; Gitzendanner e Soltis, 2000; Mateu-Andrés e Segarra-Moragues, 2000; Batista et al., 2001; Hoebee e Young, 2001; Neel e Ellstrand, 2001; Premoli et al., 2001; Segarra-Moragues e Catalán, 2002; Chang et al., 2003; Mateu-Andrés e Segarra-Moragues, 2003).

Devido a esse padrão geral e apesar de argumentos contrários (Stebbins, 1980; Kruckeberg e Rabinowitz, 1985; Holsinger e Gottlieb, 1991), espécies com distribuição geográfica restrita são consideradas um grupo relativamente homogêneo com características comuns, inclusive com relação ao grau de variabilidade genética (Gitzendanner e Soltis, 2000).

Felsenstein (1985) afirma que estudos comparativos entre espécies, com o objetivo de verificar a existência de algum tipo de relação entre duas características, são freqüentemente conduzidos por métodos estatísticos inadequados, devido ao desconhecimento da independência dos dados. Dessa forma, não é possível definir se as correlações positivas encontradas são resultantes de uma descendência comum ou de uma evolução convergente. Esse autor (Felsenstein, 1985) e posteriormente, Silvertown e Dodd (1996) propõem como solução para esse problema a utilização de uma filogenia dos taxa que estão sendo comparados, considerando nas análises apenas as características que surgiram após a sua divergência.

No entanto, na ausência de uma filogenia, os autores (Felsenstein, 1985; Silvertown e Dodd, 1996) propõem estabelecer comparações apenas entre espécies próximas, do mesmo gênero ou da mesma família. Assim, seria mais provável que a relação encontrada entre as características seja independente da história evolutiva das espécies.

Com relação aos estudos comparativos envolvendo espécies restritas geograficamente, Kruckeberg e Rabinowitz (1985) também apontaram a necessidade da análise de espécies congêneres. Karron et al. (1987), seguindo essas recomendações, compararam o nível de variabilidade genética e a taxa de fecundação cruzada em onze pares de espécies congêneres que apresentavam diferentes amplitudes de distribuição geográfica. Gitzendanner e Soltis (2000) também investigaram a relação entre a distribuição geográfica e a quantidade de variabilidade genética através de comparações em 32 pares de espécies congêneres diferentes daqueles analisados por Karron et al. (1987). Os resultados dessas análises corroboram o padrão de menor variabilidade genética para as espécies restritas geograficamente verificado nos trabalhos anteriores. No entanto, apesar desses resultados apontarem uma tendência, as comparações foram estabelecidas sem levar em consideração diferenças existentes entre características ecológicas e de história de vida das espécies, o que segundo alguns autores (Loveless e Hamrick, 1984; Pleasants e Wendel, 1989) poderia influenciar as estimativas de variabilidade genética. Assim, ainda há a necessidade de maiores estudos para investigar a ocorrência de padrões genéticos nas espécies de plantas geograficamente restritas.

O gênero *Lychnophora* Mart. (Asteraceae, tribo Vernonieae e subtribo Lychnophorinae), endêmico do Brasil, compreende 68 espécies distribuídas em 6 seções (Semir, 1991). Ele ocorre em um ecossistema, denominado de campos rupestres, caracterizado por uma vegetação de altitude (900 a 2000 metros acima do nível do mar),

com predomínio de arbustos e subarbustos, crescendo em solos rasos e arenosos. É uma vegetação típica da Cadeia do Espinhaço, que se estende de Minas Gerais até a Bahia, sendo considerada um importante centro de endemismo da flora brasileira (Giulietti et al., 1987; Harley, 1995; Giulietti et al., 1997).

Quatro espécies presentes na seção *Lychnophora* apresentam características morfológicas muito semelhantes, constituindo um complexo de espécies, mas com diferentes amplitudes de distribuição geográfica (Semir, 1991). *Lychnophora granmogolense* (Duarte) Semir & Leitão-Filho é mais amplamente distribuída; *Lychnophora rupestris* Semir & Leitão-Filho possui distribuição restrita a um local específico da Cadeia do Espinhaço; *Lychnophora nanuzae* Semir & Leitão-Filho e *Lychnophora ramosissima* (Gardner) são restritas a algumas poucas localidades, sendo as suas distribuições menores do que a de *L. rupestris* (Semir, 1991).

A alta semelhança morfológica indica uma alta proximidade filogenética entre essas espécies, as semelhanças florais sugerem a existência de sistemas reprodutivos também muito similares e a sua ocorrência no mesmo ambiente aponta para semelhanças também com relação a especificidade ao habitat. Devido a essas características, esse complexo de espécies constitui um interessante grupo para investigar a relação entre os níveis de variabilidade genética e a amplitude de distribuição geográfica das espécies.

Objetivos

Este trabalho tem como objetivo testar a hipótese de que espécies com distribuição geográfica restrita possuem menor variabilidade genética do que seus congêneres amplamente distribuídos, através da caracterização genética de quatro espécies próximas de *Lychnophora* Mart. que possuem diferentes amplitudes de distribuição geográfica.

Material e métodos

Espécies e distribuição geográfica

O gênero *Lychnophora* Mart. (Asteraceae, Vernonieae, Lychnophorinae) foi estabelecido por Martius (1822), revisto e ampliado por vários autores (Semir, 1991). Em uma revisão mais recente e completa, Semir (1991), considerou a existência de 68 espécies distribuídas em 6 seções: *Lychnophora*, *Lychnophoriopsis*, *Lychnophorioides*, *Lychnocephaliopsis*, *Sphaeranthus* e *Chronopappus*.

As seções *Lychnophora* e *Lychnophorioides* são as maiores do gênero, ambas sendo compostas por 25 espécies. Na seção *Lychnophora*, um grupo de 5 espécies foi reconhecido por Semir (comunicação pessoal) como um complexo de espécies, às vezes de difícil separação devido a alta similaridade morfológica:

- *Lychnophora granmogolense* (Duarte) Semir in Hind (Figura 2B), é amplamente distribuída, ocorrendo em várias localidades dos estados da Bahia (Chapada Diamantina) e Minas Gerais (região norte do estado, Figura 1).
- *Lychnophora rupestris* Semir & Leitão-Filho inédito (Figura 3B), possui uma distribuição restrita a algumas localidades da Serra do Cipó, região central do estado de Minas Gerais (Figura 1), onde é encontrada em um grande número de populações (Figura 4).

- *Lychnophora nanuzae* Semir & Leitão-Filho inédito (Figura 2A), ocorre em algumas poucas localidades próximas da cidade de Diamantina, no Planalto de Diamantina, norte do estado de Minas Gerais (Figura 1).
- *Lychnophora ramosissima* (Gardner) (Figura 3A) é encontrada em apenas duas localidades próximas da cidade de Diamantina, no Planalto de Diamantina, norte do estado de Minas Gerais (Figura 1), sendo a que mais se diferencia das outras espécies do complexo (Semir, 1991).
- *Lychnophora goiana* Semir & Leitão-Filho apresenta também distribuição muito restrita, sendo encontrada em apenas uma população localizada próxima do município de Posse, no estado de Goiás (Semir, 1991). Esta foi a única espécie do complexo não incluída neste estudo.

Com exceção de *Lychnophora goiana*, todas as outras espécies ocorrem nos complexos vegetacionais rupestres de Minas Gerais e Bahia.

Não há estudos sobre a biologia reprodutiva dessas espécies, mas algumas observações no campo indicam a ocorrência de vários visitantes florais (abelhas, borboletas, mariposas, formigas e beija-flores). Foram encontrados pelo menos alguns indivíduos com flores em todas as espécies durante as coletas realizadas ao longo do ano de 2003, indicando a ocorrência de sobreposição nos seus períodos de floração. Não há evidência de reprodução vegetativa (observação em campo).

As populações de todas as espécies apresentam-se bem delimitadas espacialmente, com não menos do que 100 indivíduos (Figura 4). De uma maneira geral, as variações com relação ao tamanho populacional dentro das espécies não são muito grandes. Entre as espécies estudadas, *Lychnophora ramosissima* e *L. nanuzae* apresentam, aparentemente, os menores tamanhos populacionais.

Coleta e conservação do material biológico

Foram coletadas folhas jovens, mantidas em nitrogênio líquido até o momento da análise, de indivíduos de oito populações naturais de *Lychnophora granmogolense*, oito de *L. rupestris*, duas de *L. nanuzae* e duas de *L. ramosissima*, distribuídas em diferentes localidades dos estados de Minas Gerais e Bahia (Tabela 1, Figura 1). Em cada população, 30 indivíduos foram coletados, considerando uma distância de pelo menos 3 metros entre eles e procurando amostrar toda a extensão da população. A identificação do material foi realizada pelo Prof. Dr. João Semir (Departamento de Botânica, IB, UNICAMP).

Exsicatas de todas as coletas serão depositadas como material testemunho no Herbário da UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas).

Eletroforese de Isoenzimas

Extração, sistemas enzimáticos e condições de corrida.

Pequenos pedaços de tecido foliar foram triturados em tampão de extração (100 ml TrisHCl 0,1 M pH 7,0, 6,846 g de sacarose, 0,6 g de PVP, 0,0372 g de EDTA, 0,145 g de BSA, 0,13 g de DIECA, 0,6 g de BORAX, 100 µl de β- mercaptoetanol; modificado de Sun e Ganders, 1990). Os extratos foram absorvidos em retângulos de papel Whatman #3 (0,4 x 10 mm) que foram aplicados em géis de amido Sigma (8,5%) com 1 cm de espessura. Dos 43 sistemas enzimáticos testados em 9 sistemas gel/eletrodo, obteve-se boa resolução para 14 sistemas enzimáticos em 3 sistemas gel/eletrodo (Tabela 2), totalizando 18 supostos locos. As soluções reveladoras dos sistemas enzimáticos foram similares às apresentadas por Soltis et al. (1983; PGM, PGI, ME, DIA, G3PDH, EST, AK, GDH), Corrias et al. (1991; IDH, 6PGD, G6PDH) e Brune et. al. (1998; ACPH, LAP, PEP). As principais modificações realizadas foram na concentração das soluções usadas. A eletroforese

horizontal foi conduzida até o marcador (azul de bromofenol) atingir aproximadamente 9 cm do local de aplicação.

Análises dos resultados

Os padrões de bandas foram interpretados geneticamente a partir da observação direta dos géis. Os alelos foram identificados por suas mobilidades em relação a um indivíduo “padrão” pertencente à *Lychnophora rupestris*. As frequências alélicas e genotípicas foram calculadas a partir dessas observações.

A proporção de locos polimórficos (P ; critério de 0,95), número médio de alelos por loco (A), heterozigosidade média observada (H_o) e esperada (H_e), a última calculada de acordo com Nei (1978), foram estimados no nível populacional e específico.

Desvios significativos (critério de 0,95) ao esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg foram analisados através de um teste exato, usando o método de Monte Carlo convencional (adaptado por Guo e Thompson, 1992; total de 10.000 permutações). A correção sequencial de Bonferroni foi aplicada para corrigir erros tipo I introduzidos na análise pela utilização de testes múltiplos (Rice, 1989).

Índices de fixação (F_{IS}) foram calculados através do estimador f (Weir e Cockerham, 1984) para os locos e amostras de todas as espécies. Procedimentos “bootstrapping” (total de 10.000 permutações) sobre os locos foram realizados para fornecer intervalos de confiança de 95% sobre as estimativas calculadas.

A homogeneidade dos índices de fixação entre os locos de cada amostra foi testada de acordo com Gaffney et al. (1990) através da aplicação de um teste de homogeneidade entre coeficientes de correlação (Sokal e Rohlf, 1995). Segundo Crow e Kimura (1970) o parâmetro F_{IS} pode ser considerado um coeficiente de correlação e, portanto, também o seu

estimador f , sendo adequado o teste de homogeneidade realizado. A função z utilizada para transformar os valores de F_{IS} calculados foi a seguinte:

$$z = 0.5 \ln(1+r)/(1-r),$$

onde r é o F_{IS} .

Um valor médio da estimativa do F_{IS} de cada amostra foi obtido através do coeficiente de correlação correspondente ao valor médio de z .

A homogeneidade dos F_{IS} de cada loco entre as amostras de *Lychnophora rupestris* e *L. granmogolense* foi também testada utilizando o mesmo método. Um valor médio de F_{IS} foi calculado para cada loco em cada espécie, através do cálculo do valor de F_{IS} correspondente ao valor médio de z . Para as análises de homogeneidade, amostras com menos de dez indivíduos não foram utilizadas (Sokal e Rohlf, 1995).

Diferenças na variabilidade genética entre as amostras e entre as espécies foram determinadas utilizando uma análise de variância de A e H_e . Para as análises de variância significativas, testes simultâneos de Bonferroni foram aplicados para comparações par a par entre os taxa ou entre as amostras (Zar, 1999).

Diferenças na variabilidade genética entre as amostras de *L. granmogolense* localizadas em cada uma das regiões (Minas Gerais e Bahia) foram determinadas utilizando um teste t pareado para A e H_e , sendo os locos agrupados dentro das regiões e um teste t para P , sendo as amostras agrupadas dentro das regiões (Archie, 1985).

O nível de significância utilizado para os testes sobre os parâmetros de variabilidade genética foi de 0,95. A transformação arco seno foi utilizada para as estimativas dos parâmetros H_e e P antes da aplicação dos testes estatísticos descritos acima (Archie, 1985; Zar, 1999). Todos os testes para determinar diferenças na variabilidade genética entre populações ou espécies e para verificar a normalidade e homocedasticidade dos dados

foram realizados através do programa BioEstat 3.0 (Ayres et al., 2003).

A organização da variabilidade genética nas espécies foi estimada pelo θ (Weir e Cockerham, 1984). Procedimentos bootstrapping sobre os locos foram realizados para fornecer intervalos de confiança de 0,95 sobre as estimativas θ calculadas. Uma matriz para os valores de θ e outra para as distâncias geográficas foram produzidas para as amostras das espécies *Lychnophora rupestris* e *L. granmogolense*. Essas matrizes foram comparadas através de um teste de Mantel baseado em 5000 randomizações para investigar a existência de padrões de isolamento por distância. As distâncias geográficas foram calculadas diretamente pela diferença nas coordenadas UTM (Universal Transverse Mercator) aproximadas em quilômetros.

Matrizes com as distâncias genéticas (Nei, 1978) entre as amostras e entre as espécies foram produzidas. A partir da matriz de distância genética populacional foi definido um dendrograma através de uma análise de UPGMA (Sneath e Sokal, 1973). Procedimentos bootstrapping sobre os locos (2000 permutações) foram realizados para testar a consistência de cada agrupamento gerado por essa análise.

Uma análise de ordenação linear (PCA, principal components analysis) baseada nas frequências alélicas das amostras foi feita utilizando uma matriz de variância-covariância (James e McCulloch, 1990). O programa PC-ORD para windows versão 3.11 foi utilizado nessa análise (McCune e Mefford, 1997).

Os parâmetros de diversidade genética, os estimadores f e θ , os coeficientes de distância genética, o teste de Mantel, a análise de UPGMA, as frequências alélicas e genotípicas, e todos os procedimentos bootstrapping foram calculados através do programa TFPGA (Miller, 1997).

Tabela 1. Localização das populações das espécies de *Lychnophora* amostradas.

Espécie	Localidade	Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)
<i>L. granmogolense</i>	Montes Claros/ MG	LG1	16°58'618"	43°20'995"
	Montes Claros/ MG	LG2	16°31'829"	43°18'814"
	Grão Mogol/MG	LG3	16°34'238"	42°51'516"
	Barra da Estiva/BA	LG4	13°33'480"	41°12'680"
	Palmeiras/BA	LG5	12°33'170"	41°30'870"
	Mucugê/BA	LG6	12°59'230"	41°20'940"
	Botumirim/MG	LG7	16°44'563"	43°04'622"
	Rio de Contas/BA	LG8	13°34'800"	41°48'670"
<i>L. rupestris</i>		LR1	19°17'705"	43°36'060"
		LR2	19°17'661"	43°35'851"
		LR3	19°17'281"	43°34'005"
	Serra do Cipó/MG	LR4	19°17'325"	43°33'601"
		LR5	19°17'325"	43°33'601"
		LR6	19°17'115"	43°33'120"
		LR7	19°15'844"	43°35'398"
		LR8	19°18'730"	43°37'510"
<i>L. nanuzae</i>	Diamantina/MG	LN1	18°12'019"	43°42'329"
		LN2	18°13'020"	43°35'560"
<i>L. ramosissima</i>	Diamantina/MG	LRA1	18°07'856"	43°43'743"
		LRA2	18°07'857"	43°43'799"

Tabela 2. Sistemas gel/eletrodo, condições de corrida e sistemas enzimáticos padronizados.

Sistemas	Condições de corrida	Sistemas enzimáticos
<u>eletrodo</u> : 37g ácido bórico, 4,8g de NaOH para 1L de água, pH 8,0. <u>gel</u> : 18,4g Tris, 2,8g ácido cítrico para 1L de água, pH 8,0.	75 V	G6PDH (EC. 1.1.1.49), IDH (EC. 1.1.1.42), 6PGD (EC. 1.1.1.44), G3PDH (EC. 1.2.1.12), ACPH (EC 3.1.3.2).
<u>eletrodo</u> : 37g ácido bórico, 4,8g de NaOH para 1L de água, pH 8,0 <u>gel</u> : 2,42g Tris para 1000ml de água, pH 8,5.	65 V	ME (EC. 1.1.1.40), EST (EC. 3.1.1.1), DIA (EC. 1.8.1.4).
<u>eletrodo</u> : 0,6g de hidróxido de lítio, 5,9g de ácido bórico e 1.1g de EDTA para 1L de água, pH 8,0; <u>gel</u> : tampão do eletrodo diluído 1:10.	15 Ma	PGI (EC 5.3.1.9), PGM (EC 2.7.5.1), LAP (EC. 3.4.11.1), AK (EC. 2.7.4.3), GDH (EC. 1.4.1.2), PEP (EC. 3.4.11.10).

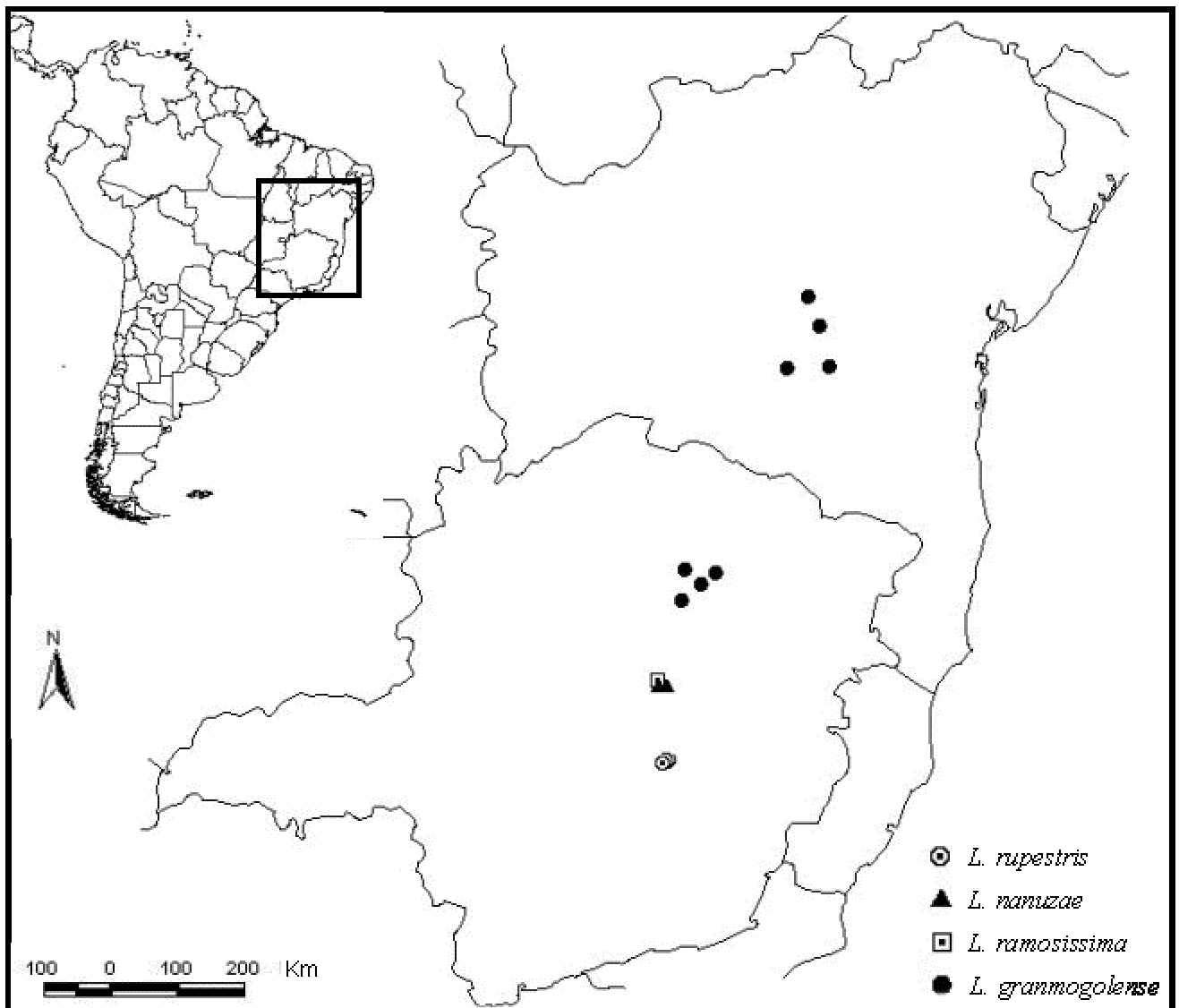


Figura 1. Localização das populações das espécies de *Lychnophora* amostradas.

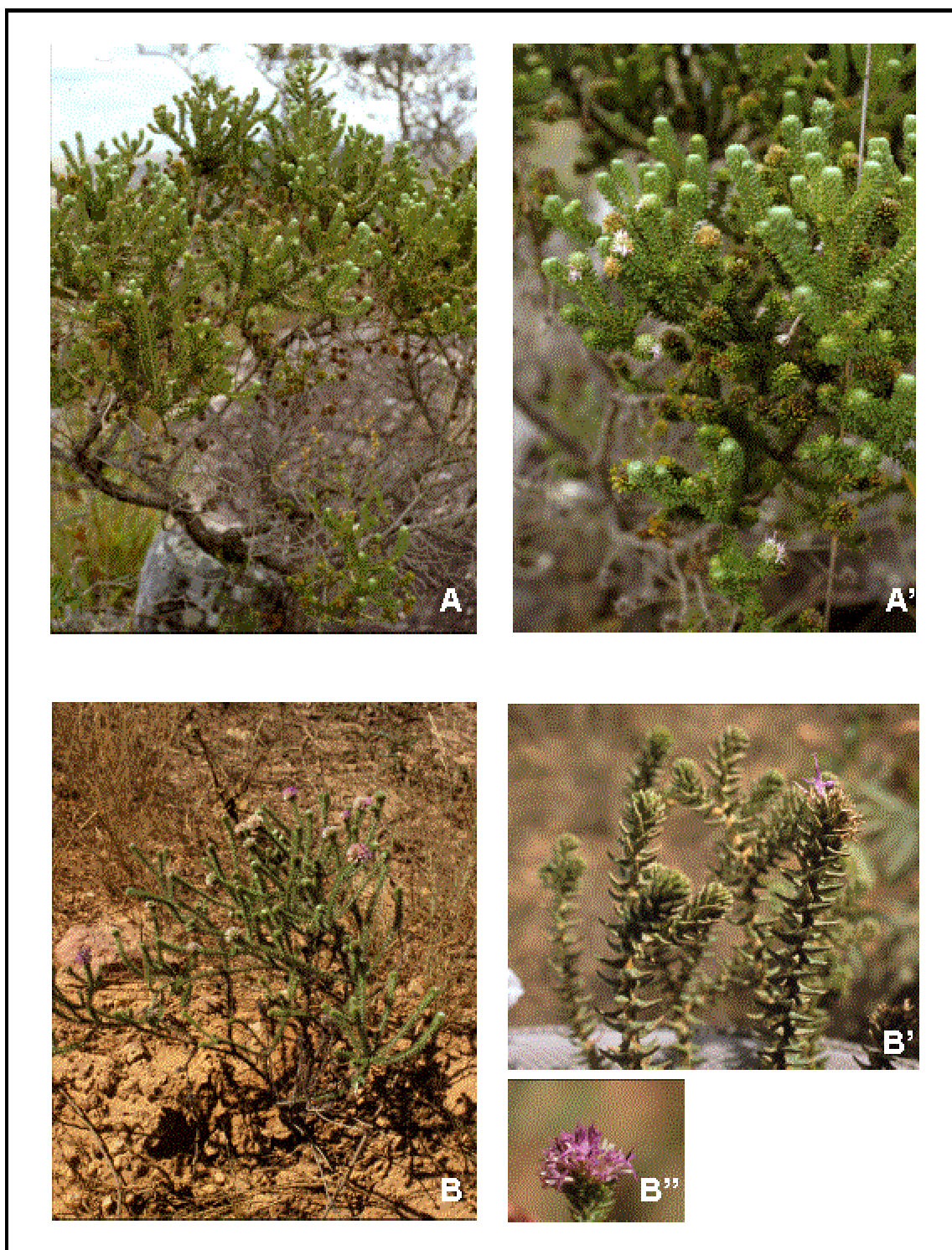


Figura 2. Hábito, morfologia e ambiente de *Lychnophora nanuzae* e *Lychnophora granmogolense*. *L. nanuzae*: A, hábito; A', detalhes dos ramos com glomérulos. *L. granmogolense*: B, hábito; B', detalhes dos ramos com glomérulos; B'', detalhe do glomérulo.

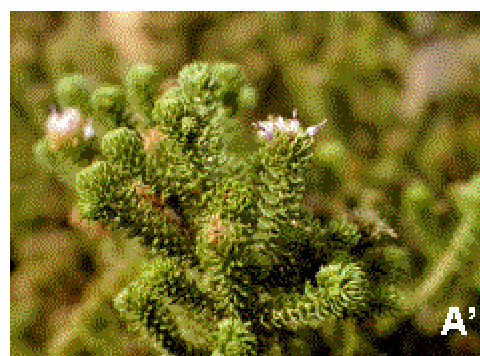


Figura 3. Hábito, morfologia e ambiente de *Lychnophora ramosissima* e *Lychnophora rupestris*. *L. ramosissima*: A, hábito; A', detalhes dos ramos com glomérulos. *L. rupestris*: B, hábito; B', detalhes dos ramos com glomérulos.



Figura 4. Campos rupestres. População da espécie *Lychnophora rupestris*. Minas Gerais, Serra do Cipó.

Resultados

Variabilidade genética dentro das populações e das espécies

As frequências alélicas para todos os locos e amostras analisadas são apresentadas na Tabela 3. Dos 18 locos enzimáticos analisados, 15 foram polimórficos em pelo menos uma amostra para *Lychnophora nanuzae* e *L. ramosissima*. Em *L. rupestris*, 16 dos 18 locos e em *L. granmogolense*, todos os 18 locos analisados foram polimórficos em pelo menos uma amostra (Tabela 3). O número total de alelos encontrados foi: 67 para *L. rupestris*; 52 para *L. nanuzae*; 52 para *L. ramosissima* e 59 para *L. granmogolense*. Dos 67 alelos encontrados nos locos analisados para *L. rupestris*, onze são exclusivos dessa espécie, sendo que seis possuem frequências abaixo de 1% , quatro com frequências entre 1 e 5% e apenas um com frequência acima de 5%. Em *L. nanuzae* e *L. ramosissima*, dos 52 alelos encontrados, apenas dois são exclusivos para cada uma das espécies, com frequências entre 1 e 5%. De todos os alelos encontrados em *L. granmogolense*, cinco só ocorrem nessa espécie, sendo quatro muito raros (frequência abaixo de 1%) e apenas um com frequência entre 1% e 5%. Em 16 locos, o alelo mais frequente é o mesmo para todas as amostras. Em 10 dos 14 locos polimórficos para todas as espécies, os alelos ou a frequência dos alelos presentes em *L. granmogolense* representam, de maneira geral, um subconjunto daqueles presentes em pelo menos uma das espécies com distribuição mais restrita.

No nível específico, *Lychnophora rupestris* e *L. granmogolense* apresentaram estimativas semelhantes para os parâmetros de variabilidade genética (*L. rupestris*: $P = 72,2$, $A = 3,7$, $H_e = 0,236$; *L. granmogolense*: $P = 72,2$, $A = 3,3$, $H_e = 0,220$; Tabela 4). Ambas apresentam maior porcentagem de locos polimórficos do que *L. ramosissima* ($P = 66,7$; Tabela 4) e maior número médio de alelos por loco do que *L. ramosissima* e *L. nanuzae* ($A = 2,9$; Tabela 4). *Lychnophora nanuzae* apresenta a maior porcentagem de

locos polimórficos ($P = 77,8$; Tabela 4) em relação às outras espécies. Para a estimativa de heterozigosidade esperada *L. ramosissima* possui o maior valor, sendo este semelhante ao obtido para *L. nanuzae* e ambos maiores do que as estimativas desse parâmetro para *L. rupestris* e *L. granmogolense* (*L. nanuzae*, $H_e = 0,269$; *L. ramosissima*, $H_e = 0,297$; Tabela 4). Apesar das diferenças observadas entre as estimativas dos parâmetros de variabilidade genética entre as espécies, estas não são estatisticamente significativas (Tabela 4).

No nível populacional, os valores médios para as estimativas de variabilidade das espécies com distribuição mais restrita foram, de maneira geral, maiores do que as médias das estimativas para *Lychnophora granmogolense*, a espécie com distribuição mais ampla (Tabela 5). As estimativas de variabilidade para *L. rupestris* foram mais próximas às aquelas apresentadas pela espécie *L. granmogolense* (Tabela 5).

Foram encontradas diferenças significativas entre as estimativas de variabilidade genética intrapopulacional das espécies analisadas (A : $F = 3,30337$, $p = 0,0001$; H_e : $F = 1,7092$, $p = 0,0328$, Tabela 5). Diferenças significativas dessas estimativas foram observadas principalmente entre comparações nas quais amostras de *Lychnophora granmogolense* estavam presentes. Diferenças significativas para a estimativa A e H_e foram observadas, principalmente, em comparações envolvendo as amostras LG2, LG4 e LG8 (Tabela 6 e 7). Tanto com relação ao número médio de alelos por loco (A) quanto a heterozigosidade esperada (H_e), os valores estimados para as amostras destacadas acima foram sempre menores. O número de testes significativos para os valores de H_e foi menor do que aqueles para o número médio de alelos por loco (Tabelas 6 e 7).

Diferenças regionais nas estimativas de variabilidade entre as amostras de *Lychnophora granmogolense* foram significativas apenas para o número médio de alelos

por loco (A : $t = 3,1888$, $p = 0,0053$; H_e : $t = 1,3646$, $p = 0,1901$; P : $t = 0,2072$, $p = 0,844$, Tabela 8).

Todas as espécies e amostras apresentam valores baixos e similares de heterozigosidade observada (Tabelas 4 e 5).

Foram encontrados desvios significativos às proporções genótípicas esperadas no equilíbrio de Hardy-Weinberg em pelo menos uma amostra para 15 locos de *Lychnophora rupestris*, 10 de *L. nanuzae*, 14 de *L. ramosissima* e 11 de *L. granmogolense* (Tabela 3). Os F_{IS} médios foram muito altos para todas as espécies e para a maioria das amostras (Tabela 9).

As estimativas de F_{IS} são heterogêneas entre os locos de todas as amostras de *Lychnophora rupestris* e na maioria das amostras de *L. granmogolense* (Tabela 10). As estimativas desse parâmetro mostraram-se heterogêneas para os locos de uma das duas amostras de *L. nanuzae* e *L. ramosissima* (Tabela 10).

Em *Lychnophora granmogolense*, 7 dos 13 locos analisados possuem valores heterogêneos de F_{IS} entre as amostras. Em *L. rupestris*, 8 dos 13 locos analisados possuem valores heterogêneos para esse parâmetro entre as amostras. Os locos heterogêneos entre as amostras de ambas as espécies possuem os maiores valores de F_{IS} (calculados a partir dos valores médios de z ; *L. rupestris*, $F_{IS} = 0,14 - 0,87$; *L. granmogolense*, $F_{IS} = 0,26 - 0,98$). A grande maioria dos outros locos possui valores baixos desse parâmetro (Tabela 11).

Tabela 3. Frequências alélicas em populações de *L. rupestris* (LR), *L. nanuzae* (LN), *L. ramossissima* (LRA) e *L. granmogolense* (LG). N = tamanho amostral.

*= locos que apresentaram desvios significativos ao equilíbrio de Hardy-Weinberg após correção sequencial de Bonferroni.

Populações Alelos										
	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8	LN1	LN2
PGM-1										
N	48*	42*	28	11	20	20	38	24*	26*	21
1	0,063	0,036	0	0	0,075	0,025	0,053	0,354	0,096	0,262
2	0,875	0,857	0,929	0,864	0,900	0,875	0,908	0,646	0,712	0,738
3	0,063	0,095	0,036	0,091	0,025	0,100	0,039	0	0,173	0
4	0	0,012	0,036	0,045	0	0	0	0	0,019	0
PGM-2										
N	43	45	27	11	20	20	36	27	31*	21
1	0,023	0	0	0	0	0	0	0	0,161	0,024
2	0,023	0,022	0	0	0	0	0	0	0,210	0,095
3	0,919	0,911	0,963	1,000	1,000	0,975	0,875	0,944	0,613	0,714
4	0,035	0,067	0,037	0	0	0,025	0,125	0,056	0,016	0,167
PGI-1										
N	37	49*	28	11	19	21	41	28	32*	20
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0,082	0	0,364	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0,018	0	0	0	0	0	0,125	0
4	1,000	0,898	0,911	0,636	1,000	0,976	0,988	0,964	0,563	0,725
5	0	0	0,036	0	0	0,024	0,012	0,036	0	0,225
6	0	0	0,036	0	0	0	0	0	0,313	0,050
7	0	0,020	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos										
	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8	LN1	LN2
PGI-2										
N	53	44*	28	11	16	21	41*	27*	30*	18*
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,019	0	0,036	0	0,031	0	0,061	0,093	0,033	0
3	0,981	0,841	0,964	0,818	0,969	0,976	0,354	0,796	0,900	0,778
4	0	0,159	0	0,182	0	0,024	0,220	0,111	0,067	0,222
5	0	0	0	0	0	0	0,366	0	0	0
EST-2										
N	51	30	10	4	20	20	42*	23*	27	18
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0,037	0
2	0,108	0,117	0,050	0,125	0,375	0,050	0,107	0,065	0,111	0,056
3	0,853	0,833	0,900	0,625	0,550	0,825	0,655	0,761	0,852	0,861
4	0,039	0,050	0,050	0,250	0,075	0,125	0,238	0,174	0	0,083
EST-1										
N	55*	31*	10	4	20	21*	42*	28*	28*	19
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,036	0	0	0	0	0	0,024	0	0	0
3	0,636	0,839	0,850	0,500	0,900	0,524	0,619	0,857	0,714	1,000
4	0,327	0,161	0,150	0,500	0,100	0,476	0,357	0,143	0,286	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos										
	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8	LN1	LN2
G3PDH										
N	55*	44	25	11	20	21	40*	27	19*	14
1	0	0	0	0	0	0	0,025	0	0	0
2	0,127	0,023	0,020	0	0	0	0,025	0	0,053	0
3	0,873	0,977	0,940	1,000	0,800	1,000	0,825	0,926	0,789	1,000
4	0	0	0,040	0	0,175	0	0,113	0,074	0,158	0
5	0	0	0	0	0,025	0	0,013	0	0	0
LAP										
N	51*	43*	26*	11	19	18	42	28	31*	20*
1	0	0,047	0,077	0	0	0	0	0	0	0
2	0,147	0,105	0,250	0	0	0	0	0	0,016	0
3	0,373	0,453	0,269	0,182	0,237	0,056	0,119	0,232	0,339	0,225
4	0,412	0,326	0,404	0,727	0,500	0,722	0,690	0,482	0,097	0,175
5	0,049	0,070	0	0,091	0,237	0,222	0,143	0,250	0,371	0,575
6	0,020	0	0	0	0,026	0	0,048	0,036	0,177	0,025

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos										
	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8	LN1	LN2
PEP										
N	53	38	27	10	18	21	41	26	35	21
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,934	0,987	0,944	0,900	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
3	0,066	0,013	0,037	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0,100	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0,019	0	0	0	0	0	0	0
ME										
N	44	31*	19	7	7	21	21	13	11	12
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1,000	0,935	1,000	1,000	0,929	1,000	1,000	1,000	0,909	1,000
3	0	0,065	0	0	0,071	0	0	0	0,091	0
GDH										
N	20	35*	21*	11	20	21	19*	27*	34*	21*
1	0,050	0	0	0	0	0	0,053	0,037	0,029	0
2	0,950	0,786	0,667	1,000	1,000	0,952	0,763	0,778	0,882	0,905
3	0	0,014	0,190	0	0	0,048	0,184	0,185	0,088	0,095
4	0	0,200	0,143	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos										
	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8	LN1	LN2
AK-1										
N	32	45	28	7	20	19	42	28	35	21
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,952
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,048
AK-2										
N	30*	45*	28	7	20	21	34	28	35	19
1	0	0	0	0	0	0	0,044	0	0	0
2	0,867	0,956	1,000	1,000	1,000	1,000	0,956	1,000	1,000	1,000
3	0,133	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0,044	0	0	0	0	0	0	0	0
IDH										
N	20*	36*	22*	8	17*	18	37*	10	23	21
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,350	0	0	0	0,059	0,139	0,041	0,100	0,043	0,095
3	0,600	0,542	0,682	0,188	0,500	0,833	0,635	0,900	0,957	0,810
4	0,050	0,458	0,318	0,813	0,382	0,028	0,324	0	0	0,095
5	0	0	0	0	0,059	0	0	0	0	0

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos										
	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8	LN1	LN2
6PGD										
N	17	49	28	11	19	15	40*	28*	34*	21*
1	0	0	0	0	0	0	0,025	0,036	0,044	0,143
2	1,000	0,980	1,000	1,000	1,000	1,000	0,925	0,929	0,897	0,714
3	0	0,020	0	0	0	0	0,050	0,036	0,059	0,143
G6PDH										
N	0	25*	22	11	12	7	31*	13*	9	20
1		0,020	0,023	0	0	0	0	0	0	0
2		0,040	0	0,182	0	0,143	0	0,077	0	0,075
3		0,720	0,955	0,818	0,167	0,857	0,855	0,615	0,833	0,825
4		0,220	0,023	0	0,833	0	0,145	0,308	0,167	0,100
DIA										
N	2	27*	14	11	20*	21*	42	28	29	20
1	0	0,074	0,071	0	0	0	0	0	0,086	0
2	1,000	0,870	0,929	1,000	0,700	0,524	1,000	1,000	0,914	0,950
3	0	0,056	0	0	0,300	0,476	0	0	0	0,050
ACPH										
N	2	7	0	0	20	21	21	21*	15*	11
1	0	0			0	0	0	0,143	0	0
2	1,000	1,000			1,000	0,905	0,952	0,667	0,733	0,909
3	0	0			0	0,095	0,048	0,190	0,267	0,091

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos										
	LRA1	LRA2	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
PGM-1										
N	50*	32*	35*	21	17	7	26	22	22	13
1	0,060	0,156	0,086	0,119	0,059	0	0,019	0	0	0
2	0,760	0,781	0,814	0,881	0,882	1,000	0,885	0,841	0,750	0,769
3	0,170	0,063	0,100	0	0,059	0	0	0,159	0,205	0,231
4	0,010	0	0	0	0	0	0,096	0	0,045	0
PGM-2										
N	47*	30*	36	21	20	7	27	28	27	18
1	0,287	0	0	0	0	0	0,074	0	0	0
2	0,479	0,350	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0,223	0,633	1,000	1,000	1,000	1,000	0,926	1,000	1,000	1,000
4	0,011	0,017	0	0	0	0	0	0	0	0
PGI-1										
N	50*	35	37	21*	18	5	27*	28	29*	18*
1	0,060	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0,122	0,190	0	0	0,148	0,071	0,017	0
4	0,840	0,971	0,851	0,810	0,972	1,000	0,648	0,929	0,362	0,778
5	0,050	0,029	0,027	0	0,028	0	0,204	0	0,086	0,222
6	0,020	0	0	0	0	0	0	0	0,534	0
7	0,030	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos	LRA1	LRA2	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
PGI-2										
N	48*	29*	30*	21	20*	12	23	21	28*	17
1	0	0,086	0	0,071	0	0	0	0	0	0
2	0,115	0,069	0,067	0,048	0,150	0,083	0,152	0	0,071	0,118
3	0,854	0,810	0,900	0,881	0,725	0,917	0,848	0,905	0,804	0,882
4	0,031	0,034	0,033	0	0,125	0	0	0,095	0,125	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
EST-2										
N	49*	30*	26	19	15	12	16	28	24	18
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0,235	0,267	0,115	0	0,067	0	0,063	0,125	0,063	0
3	0,704	0,550	0,788	0,974	0,900	1,000	0,938	0,875	0,917	0,944
4	0,061	0,183	0,096	0,026	0,033	0	0	0	0,021	0,056
EST-1										
N	50*	35	28	12	15	8	30	18	18	18
1	0	0	0	0	0	0	0,050	0	0	0
2	0,010	0,043	0	0	0	0	0,067	0	0,111	0
3	0,570	0,957	1,000	1,000	0,933	1,000	0,883	1,000	0,889	1,000
4	0,400	0	0	0	0,067	0	0	0	0	0
5	0,020	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos										
	LRA1	LRA2	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
G3PDH										
N	54*	29*	13*	21	21	10	0	0	0	0
1	0	0	0	0	0	0				
2	0,565	0,172	0,154	0	0,048	0				
3	0,417	0,793	0,577	1,000	0,905	1,000				
4	0,019	0,034	0,269	0	0,048	0				
5	0	0	0	0	0	0				
LAP										
N	51*	33*	35*	15	15*	12	28	26*	25	17
1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0,015	0,029	0,133	0,100	0	0	0	0	0
3	0,010	0,061	0,314	0,433	0,233	0,375	0,196	0,115	0	0,147
4	0,706	0,636	0,657	0	0,333	0,625	0,804	0,750	0,940	0,853
5	0,176	0,288	0	0,433	0,300	0	0	0,135	0,060	0
6	0,108	0	0	0	0,033	0	0	0	0	0

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos										
	LRA1	LRA2	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
PEP										
N	53	35	23	21	19	10	30	28	27	15
1	0	0	0,022	0	0	0	0	0	0	0
2	0,991	1,000	0,978	1,000	0,921	0,950	0,967	1,000	1,000	0,900
3	0,009	0	0	0	0,079	0,050	0,033	0	0	0,100
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ME										
N	27	30	34	7	17	12	28	28	27	18
1	0	0	0	0	0	0	0,018	0	0	0
2	1,000	0,933	1,000	1,000	1,000	1,000	0,982	0,946	0,944	0,944
3	0	0,067	0	0	0	0	0	0,054	0,056	0,056
GDH										
N	50*	35*	37*	21*	17	12	24*	28*	29	18
1	0,400	0	0,095	0,048	0	0,167	0,042	0	0	0,056
2	0,540	0,943	0,743	0,905	0,853	0,833	0,875	0,893	1,000	0,944
3	0,060	0,057	0,162	0,048	0,147	0	0,083	0,107	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos	LRA1	LRA2	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
AK-1										
N	49	35	37	21	21	12	30	28	29*	18
1	0	0	0,027	0	0	0	0	0,036	0,655	0
2	1,000	1,000	0,973	1,000	1,000	1,000	1,000	0,964	0,345	1,000
3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
AK-2										
N	41*	35	32	21	21	12	17	13	29	13
1	0,085	0	0,016	0	0	0	0	0	0	0
2	0,915	1,000	0,953	1,000	1,000	1,000	0,941	1,000	1,000	1,000
3	0	0	0,031	0	0	0	0,059	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IDH										
N	25*	6	34	21	18*	12	22	22	4	0
1	0	0	0,029	0	0	0	0	0	0	
2	0	0	0,015	0	0	0,042	0	0	0	
3	0,840	1,000	0,868	1,000	0,667	0,958	1,000	0,386	1,000	
4	0,160	0	0,088	0	0,333	0	0	0,614	0	
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	

Tabela 3. (continuação).

Populações Alelos										
	LRA1	LRA2	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
6PGD										
N	53*	14	36	21	21	12	20	14	22*	0
1	0	0	0,042	0	0,095	0	0,150	0	0,068	
2	0,830	0	0,931	1,000	0,905	1,000	0,850	0,286	0,750	
3	0,170	1,000	0,028	0	0	0	0	0,714	0,182	
G6PDH										
N	12*	0	34	12	18	7	17	26	20	0
1	0		0	0	0	0	0	0	0	
2	0,417		0,015	0,042	0,111	0	0,029	0,154	0,150	
3	0,583		0,897	0,958	0,889	1,000	0,971	0,846	0,850	
4	0		0,088	0	0	0	0	0	0	
DIA										
N	54	35*	37*	21	14	12	30	28	29*	18
1	0,009	0	0,122	0	0	0	0,150	0,107	0,052	0
2	0,991	0,914	0,878	1,000	1,000	1,000	0,850	0,857	0,483	1,000
3	0	0,086	0	0	0	0	0	0,036	0,466	0
ACPH										
N	47	35	0	9	11	0	21*	24*	15	18
1	0	0		0	0		0	0	0,067	0
2	1,000	1,000		1,000	1,000		0,810	0,125	0,867	0,722
3	0	0		0	0		0,190	0,875	0,067	0,278

Tabela 4. Parâmetros de variabilidade genética em quatro espécies de *Lychnophora* e resultado das análises de variância de alguns desses parâmetros entre as espécies. Os desvios padrões das estimativas estão representados entre parênteses.

População	Nº médio de indivíduos por loco	Nº médio de alelos por loco (A)	% locos polimórficos (P)	Heterozigosidade média	
				Observada (H_o)	Esperada por HdyWbg (H_e)
<i>L. rupestris</i>	197,8 (10)	3,7 (0,3)	72,2	0,057 (0,020)	0,236 (0,044)
<i>L. nanuzae</i>	45,7 (2,5)	2,9 (0,3)	77,8	0,093 (0,026)	0,269 (0,045)
<i>L. ramosissima</i>	75,2 (4,9)	2,9 (0,3)	66,7	0,057 (0,017)	0,297 (0,050)
<i>L. granmogolense</i>	157,7 (7,7)	3,3 (0,2)	72,2	0,058 (0,010)	0,220 (0,033)
ANOVA	-	F = 2,095 p = 0,1082	-	-	F = 2,447 p = 0,8656

Tabela 5. Parâmetros populacionais de variabilidade genética em *L. rupestris* (LR), *L. nanuzae* (LN), *L. ramosissima* (LRA) e *L. granmogolense* (LG) e resultados das análises de variância de alguns desses parâmetros entre as populações. Os desvios padrões dessas estimativas estão representados entre parênteses.

População	Nº médio de indivíduos por loco	Nº médio de alelos por loco (A)	% locos polimórficos (P)	Heterozigosidade média	
				Observada (H_o)	Esperada por HdyWbg (H_e)
LR1	32,6 (4,5)	1,8 (0,2)	44,4	0,042 (0,025)	0,154 (0,048)
LR2	37,0 (2,5)	2,6 (0,2)	66,7	0,049 (0,016)	0,221 (0,044)
LR3	21,8 (1,9)	2,3 (0,2)	55,6	0,055 (0,015)	0,168 (0,047)
LR4	8,8 (0,7)	1,7 (0,2)	50	0,047 (0,020)	0,195 (0,053)
LR5	18,2 (0,8)	1,9 (0,2)	50	0,075 (0,030)	0,193 (0,055)
LR6	19,3 (0,8)	1,9 (0,2)	44,4	0,049 (0,021)	0,165 (0,043)
LR7	36,1 (1,9)	2,5 (0,3)	61,1	0,068 (0,023)	0,244 (0,052)
LR8	24,1 (1,4)	2,2 (0,2)	66,7	0,068 (0,029)	0,233 (0,051)
<i>L. rupestris</i>	24,82 (3,5)	2,11 (0,12)	54,86	0,057 (0,004)	0,197 (0,012)
LN1	26,9 (2,0)	2,6 (0,3)	77,8	0,095 (0,028)	0,282 (0,05)
LN2	18,8 (0,7)	2,2 (0,2)	66,7	0,087 (0,026)	0,231 (0,046)
<i>L. nanuzae</i>	22,85 (4,0)	2,4 (0,2)	72,25	0,091 (0,004)	0,256 (0,025)
LRA1	46,6 (2,9)	2,7 (0,3)	72,2	0,070 (0,022)	0,296 (0,052)
LRA2	28,6 (2,5)	2,1 (0,2)	50	0,035 (0,015)	0,177 (0,049)
<i>L. ramosissima</i>	37,6 (9,0)	2,4 (0,3)	61,1	0,053 (0,017)	0,237 (0,06)
LG1	30,3 (2,3)	2,4 (0,2)	61,1	0,065 (0,016)	0,200 (0,042)
LG2	18,1 (1,1)	1,6 (0,2)	27,8	0,028 (0,015)	0,094 (0,039)
LG3	17,7 (0,7)	2,1 (0,2)	61,1	0,034 (0,012)	0,179 (0,048)
LG4	9,7 (0,8)	1,3 (0,1)	22,2	0,015 (0,008)	0,062 (0,031)
LG5	23,2 (1,7)	2,1 (0,2)	66,7	0,067 (0,017)	0,175 (0,033)
LG6	22,8 (1,7)	1,8 (0,1)	66,7	0,074 (0,024)	0,180 (0,037)
LG7	22,5 (2,0)	2,1 (0,2)	66,7	0,072 (0,020)	0,214 (0,048)
LG8	13,4 (1,7)	1,5 (0,1)	50	0,035 (0,014)	0,118 (0,035)
<i>L. granmogolense</i>	19,71 (2,3)	1,86 (0,13)	52,79	0,049 (0,008)	0,153 (0,019)
ANOVA	-	F = 3,0337 p=0,001	-	-	F = 1,7092 p = 0,0328

Tabela 6. Representação dos resultados significativos ($p < 0,05$) dos testes simultâneos de Bonferroni (células em negrito) para o número médio de alelos por locos (A) entre as populações das espécies *L. rupestris* (LR), *L. nanuzae* (LN), *L. ramosissima* (LRA), *L. granmogolense* (LG).

	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8	LN1	LN2	LRA1	LRA2	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
LR1																				
LR2																				
LR3																				
LR4																				
LR5																				
LR6																				
LR7																				
LR8																				
LN1																				
LN2																				
LRA1																				
LRA2																				
LG1																				
LG2																				
LG3																				
LG4																				
LG5																				
LG6																				
LG7																				
LG8																				

Tabela 7. Representação dos resultados significativos ($p < 0,05$) dos testes simultâneos de Bonferroni (células em negrito) para as estimativas de heterozigosidade esperada (H_e) entre as amostras das espécies *L. rupestris* (LR), *L. nanuzae* (LN), *L. ramosissima* (LRA), *L. granmogolense* (LG).

	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8	LN1	LN2	LRA1	LRA2	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
LR1																				
LR2																				
LR3																				
LR4																				
LR5																				
LR6																				
LR7																				
LR8																				
LN1																				
LN2																				
LRA1																				
LRA2																				
LG1																				
LG2																				
LG3																				
LG4																				
LG5																				
LG6																				
LG7																				
LG8																				

Tabela 8. Parâmetros de variabilidade genética por região para *L. granmogolense* e resultado das análises de comparação de médias entre elas.

População	Nº médio de alelos por loco (A)	% locos polimórficos (P)	Heterozigosidade média
			Esperada por HdyWbg (H_e)
<i>Minas Gerais</i>	2,014	54,2	0,208
<i>Bahia</i>	1,569	51,4	0,136
Teste t	-	t = 0,2072 p = 844	-
Teste t pareado	t = 3,1888 p = 0,0053	-	t = 2,5875 p = 0,191

Tabela 9. Estrutura da variabilidade genética intrapopulacional de *L. rupestris* (LR), *L. nanuzae* (LN), *L. ramosissima* (LRA), *L. granmogolense* (LG) (f, Weir and Cockerham. 1984).

Populações	F_{IS}	Intervalo de confiança (95%)*
LR1	0,733	0,361-0,939
LR2	0,780	0,648-0,866
LR3	0,681	0,327-0,794
LR4	0,774	0,446-0,926
LR5	0,617	0,397-0,722
LR6	0,707	0,402-0,854
LR7	0,723	0,540-0,825
LR8	0,712	0,517-0,900
<i>L. rupestris</i>	0,734	0,619-0,857
LN1	0,667	0,454-0,791
LN2	0,627	0,442-0,738
<i>L. nanuzae</i>	0,648	0,534-0,784
LRA1	0,767	0,640-0,874
LRA2	0,806	0,672-0,916
<i>L. ramosissima</i>	0,788	0,689-0,888
LG1	0,679	0,498-0,788
LG2	0,712	0,598-0,950
LG3	0,813	0,658-0,910
LG4	0,770	0,016-1,0
LG5	0,624	0,425-0,779
LG6	0,595	0,383-0,779
LG7	0,669	0,406-0,746
LG8	0,711	0,539-0,870
<i>L. granmogolense</i>	0,675	0,598-0,746

bootstrapping sobre os locos

Tabela 10. Teste de heterogeneidade para os valores de F_{is} (f, Weir & Cockerham, 1984) entre os locos nas populações das espécies *L. rupestris* (LR), *L. nanuzae* (LN), *L. ramosissima* (LRA), *L. granmogolense* (LG). F_{is} *valor obtido a partir do coeficiente de correlação correspondente ao z médio calculado.

População	χ^2	p	z médio	F_{is} *
LR1	307,448	0,000	0,313	0,300
LR2	229,203	0,000	0,168	0,170
LR3	410,545	0,000	1,066	0,790
LR4	41,208	0,000	0,409	0,390
LR5	81,352	0,000	0,268	0,260
LR6	258,246	0,000	0,777	0,650
LR7	241,976	0,000	0,232	0,230
LR8	196,221	0,000	0,321	0,310
LN1	234,190	0,000	0,306	0,300
LN2	0,292	1,000	0,032	0,030
LRAM1	595,987	0,000	0,417	0,390
LRAM2	0,262	1,000	0,015	0,010
LG1	131,957	0,000	0,159	0,160
LG2	134,640	0,000	0,609	0,540
LG3	177,490	0,000	0,472	0,440
LG4	69,409	0,000	0,996	0,760
LG5	347,973	0,000	0,610	0,540
LG6	154,770	0,000	0,299	0,290
LG7	198,355	0,000	0,362	0,350
LG8	1,164	0,997	0,081	0,080

Tabela 11. Teste de heterogeneidade para os valores de F_{IS} (f, Weir & Cockerham, 1984) dos locos analisados entre as populações das espécies *L. rupestris* e *L. granmogolense*. F_{IS}^* valor obtido a partir a partir do coeficiente de correlação correspondente ao z médio calculado.

loco	<i>L. rupestris</i>				<i>L. granmogolense</i>			
	x^2	p	z médio	F_{IS}^*	x^2	p	z médio	F_{IS}^*
PGM-1	149,093	0,000	0,362	0,350	3,375	0,760	0,109	0,110
PGM-2	219,460	0,000	0,614	0,550	-	-	-	-
PGI-1	277,339	0,000	1,347	0,870	93,851	0,000	0,271	0,260
PGI-2	354,562	0,000	0,990	0,760	0,625	0,999	0,045	0,050
EST-2	45,761	0,000	0,154	0,150	229,737	0,000	1,236	0,840
EST-1	0,166	1,000	0,006	0,010	-	-	-	-
G3PDH	0,011	1,000	0,005	0,000	-	-	-	-
LAP	290,795	0,000	0,766	0,640	1,165	0,979	0,041	0,040
PEP	-	-	-	-	66,308	0,000	2,274	0,980
ME	-	-	-	-	115,153	0,000	0,872	0,710
GDH	0,015	1,000	0,008	0,010	0,014	1,000	0,006	0,010
AK-2	0,048	0,997	0,013	0,010	-	-	-	-
IDH	46,285	0,000	0,144	0,140	49,921	0,000	0,454	0,430
6PGD	108,523	0,000	0,488	0,450	1,825	0,768	0,086	0,090
G6PDH	0,013	1,000	0,006	0,010	126,095	0,000	0,567	0,510
DIA	-	-	-	-	0,190	0,979	0,029	0,030
ACPH	-	-	-	-	68,685	0,000	0,483	0,450

Estrutura genética populacional e relações interespecíficas

A diferenciação genética entre as amostras de *Lychnophora granmogolense*, *L. rupestris* e *L. ramosissima* estimada pelo θ foi de moderada a alta (Wright, 1978; Tabela 12). O maior valor encontrado para esse parâmetro, levando em consideração a amplitude do seu intervalo de confiança, pertence à espécie *L. granmogolense*. *Lychnophora nanuzae* apresenta uma diferenciação populacional baixa (Wright, 1978).

Algumas amostras de *Lychnophora rupestris* e *L. ramosissima*, de populações muito próximas geograficamente, apresentam frequências alélicas invertidas ou muito diferenciadas para alguns dos locos analisados (Figura 5).

Os valores de F_{ST} par a par apresentam uma correlação baixa, no entanto, significativa com a distância geográfica entre as amostras de *Lychnophora rupestris* e *L. granmogolense* (*L. rupestris*: $R = 0,292$, $p = 0,013$; *L. granmogolense*: $R = 0,294$, $p = 0,018$; Tabelas 13 e 14).

As distâncias genéticas (Nei, 1978) entre as amostras das quatro espécies de *Lychnophora* analisadas foram muito pequenas (Tabelas 15 e 16).

Entre os alelos exclusivos, apenas um, de *Lychnophora rupestris*, possui frequência acima de 5%. Não há diferenças fixadas entre as espécies e em 16 dos 18 locos analisados, o alelo mais frequente é o mesmo para todas as amostras.

Como consequência da pouca diferenciação interespecífica encontrada, a análise de UPGMA forma muitas vezes grupos de amostras de espécies diferentes, sendo estes agrupamentos pouco sustentados estatisticamente (Figura 6).

A análise de ordenação linear separa as amostras de *Lychnophora ramosissima* daquelas das outras espécies, principalmente com relação aos dois primeiros eixos de variação. Estes explicam, respectivamente, 20% e 15% da variação total nas frequências

alélicas entre as amostras (Figura 7 e Tabela 17). Esses dois eixos também indicam uma maior similaridade entre as amostras de *L. granmogolense* da Bahia (LG5, LG6 e LG8) e a amostra de Botumirim (LG7, região norte de Minas Gerais). Esse grupo de amostras de *L. granmogolense* é o mais diferenciado, estando as outras amostras dessa espécie (Minas Gerais) muito próximas de *L. rupestris* e *L. nanuzae*. De maneira geral, *L. rupestris* e *L. nanuzae* não são diferenciadas por essa análise. A baixa porcentagem de variação explicada pelos três primeiros eixos da análise de PCA (porcentagem de variação acumulada = 49,283%) indica novamente uma alta similaridade genética entre as amostras dessas espécies.

Tabela 12. Estruturação populacional de 4 espécies de *Lychnophora* (θ , Weir and Cockerham, 1984).

Espécies	Nº de populações	F_{ST}	Intervalo de confiança
			(95%)
<i>L. rupestris</i>	8	0,1139	0,070-0,165
<i>L. nanuzae</i>	2	0,0460	0,016-0,078
<i>L. ramosissima</i>	2	0,2213	0,076-0,389
<i>L. granmogolense</i>	8	0,2157	0,118-0,317

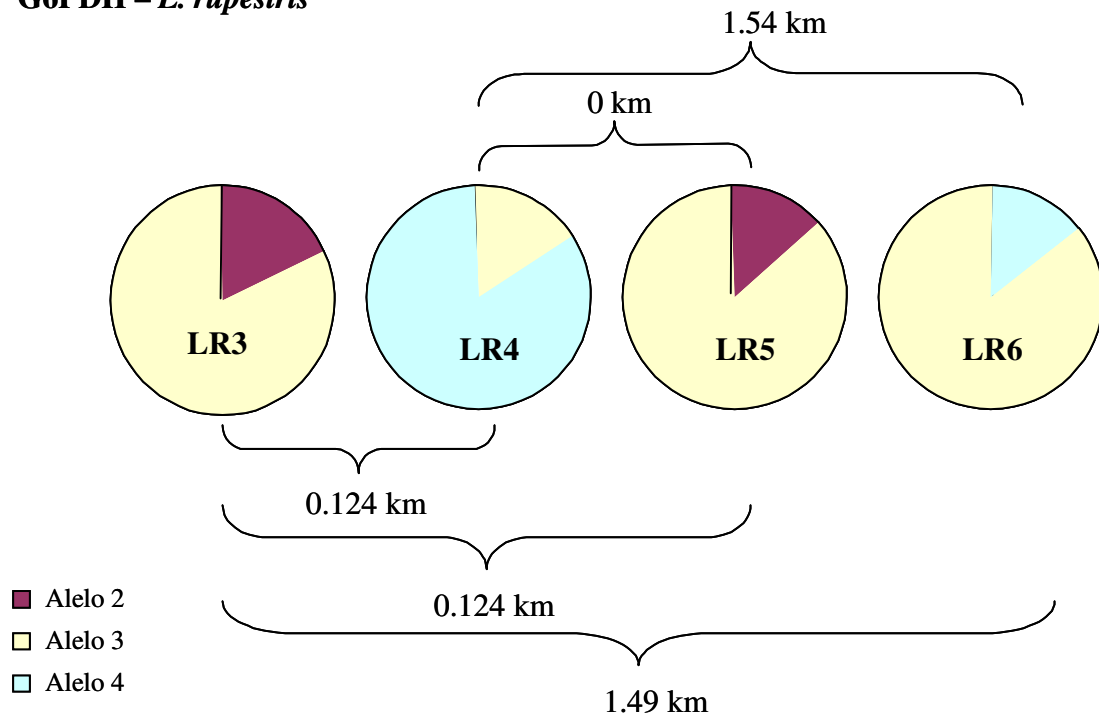
Tabela 13. Valores do parâmetro F_{ST} entre as populações de *L. granmogolense* (LG)

Populações	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
LG1	0							
LG2	0,143	0						
LG3	0,055	0,065	0					
LG4	0,035	0,137	0,049	0				
LG5	0,021	0,164	0,091	0,027	0			
LG6	0,191	0,438	0,294	0,266	0,286	0		
LG7	0,229	0,347	0,251	0,268	0,192	0,344	0	
LG8	0,032	0,229	0,103	0,032	0,007	0,156	0,239	0

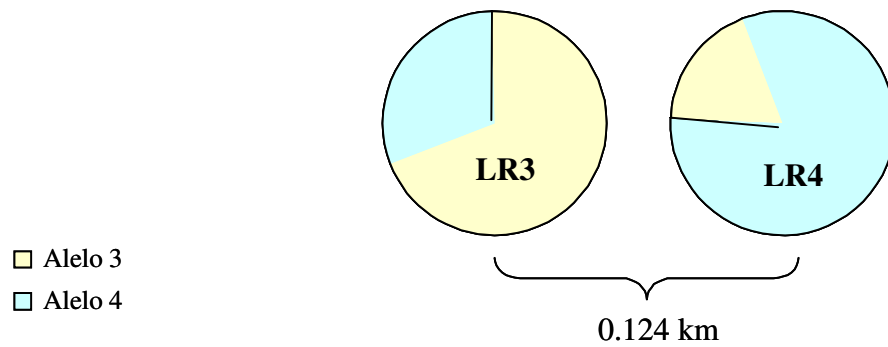
Tabela 14. Valores do parâmetro F_{ST} entre as populações de *L. rupestris* (LR).

Populações	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8
LR1	0							
LR2	0,071	0						
LR3	0,059	0,013	0					
LR4	0,185	0,081	0,144	0				
LR5	0,089	0,114	0,21	0,222	0			
LR6	0,062	0,122	0,127	0,185	0,221	0		
LR7	0,136	0,088	0,093	0,087	0,190	0,126	0	
LR8	0,076	0,069	0,076	0,193	0,136	0,112	0,084	0

G6PDH – *L. rupestris*



IDH – *L. rupestris*



6PGD – *L. ramosissima*

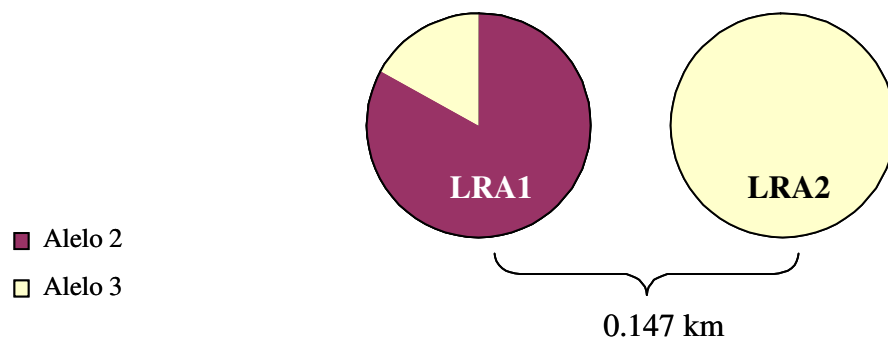


Figura 5. Diferenciação local. Frequências alélicas invertidas ou muito diferentes em alguns locos de populações muito próximas geograficamente de *L. rupestris* e *L. ramosissima*.

Tabela 15. Distância genética (Nei 1978) entre amostras de *L. rupestris* (LR), *L. nanuzae* (LN), *L. ramosissima* (LRA) e *L. granmogolense* (LG).

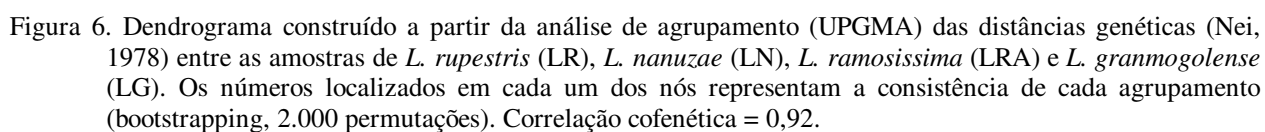
	LR1	LR2	LR3	LR4	LR5	LR6	LR7	LR8	LN1	LN2	LRA1	LRA2	LG1	LG2	LG3	LG4	LG5	LG6	LG7	LG8
LR1	0																			
LR2	0,024	0																		
LR3	0,016	0,007	0																	
LR4	0,051	0,031	0,043	0																
LR5	0,075	0,041	0,067	0,079	0															
LR6	0,030	0,043	0,035	0,056	0,069	0														
LR7	0,041	0,034	0,033	0,037	0,074	0,044	0													
LR8	0,033	0,030	0,029	0,076	0,051	0,039	0,035	0												
LN1	0,042	0,044	0,041	0,095	0,090	0,055	0,067	0,031	0											
LN2	0,042	0,033	0,035	0,084	0,079	0,056	0,054	0,021	0,023	0										
LRA1	0,098	0,102	0,093	0,115	0,138	0,096	0,088	0,097	0,086	0,106	0									
LRA2	0,111	0,118	0,108	0,160	0,154	0,114	0,109	0,097	0,106	0,074	0,118	0								
LG1	0,028	0,028	0,015	0,070	0,064	0,044	0,038	0,024	0,043	0,041	0,080	0,089	0							
LG2	0,030	0,029	0,023	0,092	0,087	0,056	0,063	0,029	0,023	0,015	0,123	0,108	0,032	0						
LG3	0,020	0,010	0,006	0,042	0,060	0,039	0,025	0,021	0,037	0,016	0,093	0,093	0,018	0,014	0					
LG4	0,018	0,023	0,011	0,070	0,077	0,035	0,040	0,024	0,043	0,034	0,095	0,094	0,011	0,020	0,013	0				
LG5	0,035	0,041	0,024	0,075	0,093	0,036	0,048	0,029	0,042	0,037	0,102	0,093	0,018	0,035	0,027	0,011	0			
LG6	0,130	0,109	0,108	0,118	0,153	0,124	0,123	0,102	0,129	0,110	0,197	0,107	0,118	0,142	0,100	0,114	0,096	0		
LG7	0,114	0,113	0,100	0,136	0,145	0,073	0,123	0,105	0,107	0,101	0,180	0,140	0,086	0,111	0,101	0,083	0,063	0,155	0	
LG8	0,036	0,043	0,028	0,075	0,094	0,038	0,049	0,026	0,046	0,042	0,107	0,100	0,021	0,040	0,028	0,012	0,005	0,089	0,068	0

Tabela 16. Distância genética (Nei, 1978) entre as espécies de *Lychnophora*.

	<i>L. rupestris</i>	<i>L. nanuzae</i>	<i>L. ramosissima</i>	<i>L. granmogolense</i>
<i>L. rupestris</i>	-			
<i>L. nanuzae</i>	0,029	-		
<i>L. ramosissima</i>	0,058	0,058	-	
<i>L. granmogolense</i>	0,018	0,027	0,065	-

Tabela 17. Resultado da análise de ordenação linear (PCA) baseada nas frequências alélicas das populações de quatro espécies de *Lychnophora*.

Eixos	Autovalores	% de variância	% de variância acumulada
1	46984,900	20,915	20,915
2	38689,550	17,222	38,137
3	25039,890	11,146	49,283
4	18602,200	8,281	57,564
5	16959,080	7,549	65,113
6	15331,150	6,825	71,938
7	10869,530	4,838	76,776
8	9356,141	4,165	80,941
9	7704,288	3,429	84,370
10	7175,300	3,194	87,564



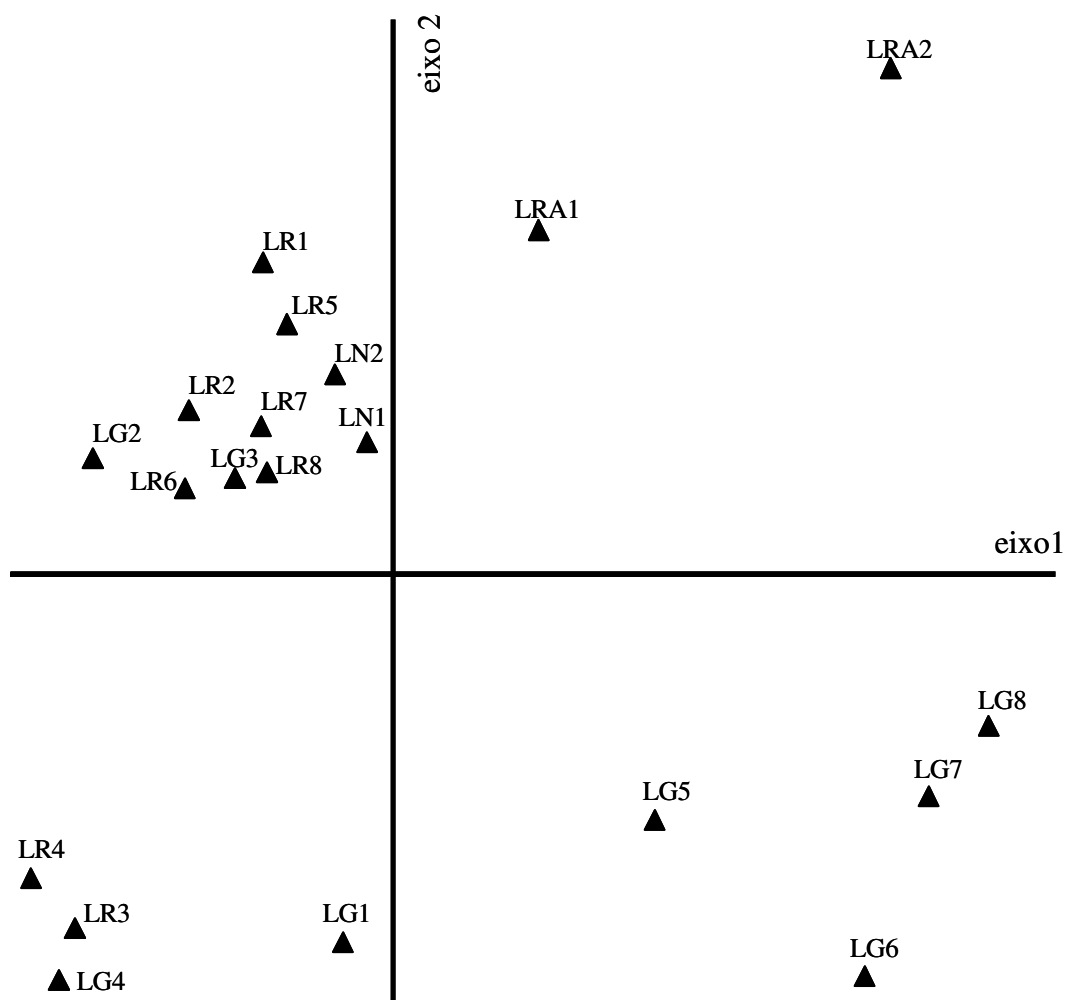


Figura 7. Representação gráfica do posicionamento das amostras de *L. rupestris* (LR), *L. nanuzae* (LN), *L. ramosissima* (LRA) e *L. granmogolense* (LG) em relação aos dois primeiros eixos de variação resultantes da análise de PCA.

Discussão

Distribuição geográfica e padrões de variabilidade genética

Predições sobre as causas ou consequências genéticas de uma distribuição geográfica restrita estão baseadas em teorias genéticas para pequenas populações ocupando ambientes específicos. Assim, é esperado que plantas geograficamente restritas possuam baixos níveis de variabilidade genética intrapopulacional e intraespecífica, devido, principalmente, à ação da seleção natural, da deriva genética e do endocruzamento (Gottlieb, 1981; Loveless and Hamrick, 1988; Barret e Kohn, 1991; Ellstrand e Elam, 1993).

No entanto, as estimativas de variabilidade genética para as espécies e amostras de *Lychnophora* analisadas são altas, sendo semelhantes às aquelas obtidas para espécies e populações com ampla distribuição geográfica (Hamrick et al., 1979; Hamrick e Godt, 1989; Hamrick et al., 1991; Hamrick e Godt, 1996).

Este resultado corrobora a inexistência de um valor padrão de variabilidade genética para espécies de plantas restritas geograficamente (Stebbins, 1980; Karron, 1987; Gitzendanner e Soltis, 2000; Coates, 2003). Segundo Gitzendanner e Soltis (2000), existe uma grande amplitude de valores para essas estimativas e estes estão altamente correlacionados com o gênero ao qual pertence a(s) espécie(s) analisada(s). Esses autores ressaltam que apenas comparações entre espécies congêneres deveriam ser consideradas para verificar a adequação do padrão teórico proposto para o nível de variabilidade genética em espécies de plantas com distribuição geográfica restrita.

Comparações entre espécies congêneres evidenciaram, novamente, a adequação da teoria para a compreensão dos baixos níveis de variabilidade genética encontrados na maioria das espécies com distribuição geográfica restrita investigadas (Karron, 1987; Gitzendanner e Soltis, 2000).

Entretanto, no presente estudo, não foram encontradas diferenças significativas nas estimativas de variabilidade genética entre as espécies analisadas. No entanto, há indicações de menor variabilidade genética em amostras de *Lychnophora granmogolense*, a espécie com a distribuição geográfica mais ampla.

Segundo Kruckeberg e Rabinowitz (1985), espécies restritas geograficamente exibem grande variação nos seus tamanhos populacionais e especificidades ao habitat. Provavelmente, essas e outras características associadas à ecologia e a eventos históricos são mais importantes para a compreensão dos padrões de variabilidade genética em plantas do que a amplitude de distribuição geográfica. Assim, possíveis causas e/ou consequências de uma distribuição restrita não podem ser definidas através de uma base teórica apoiada em padrões "clássicos", a menos que as espécies apresentem um conjunto de características e evidências que permitam e corroborem essas conclusões.

As quatro espécies do complexo analisado são perenes, com indivíduos vivendo por dezenas e possivelmente centenas de anos. Assim, um mesmo genótipo é mantido na população durante muitos eventos reprodutivos, amenizando os efeitos da deriva genética e, portanto, mantendo altos níveis de variabilidade genética (Hamrick, 1979; Loveless e Hamrick, 1984; Azevedo et al., 2001; Borba et al., 2001). Além disso, a observação no campo de indivíduos jovens em muitas populações, sendo uma delas constituída inteiramente por plântulas, pode indicar a capacidade dessas espécies em formarem bancos de sementes, o que também amenizaria os efeitos da deriva genética, devido, novamente ao acúmulo de gerações, mantendo a variabilidade genética intrapopulacional (Levin, 1990; Edwards e Sharitz, 2000).

Além disso, três outras hipóteses podem ser levantadas quanto à alta variabilidade genética das espécies geograficamente mais restritas (*Lychnophora rupestris*, *L. nanuzae* e

L. ramosissima): a fragmentação relativamente recente (Karron, 1991); a origem recente das espécies a partir de um ancestral com altos níveis de variabilidade genética (Gottlieb et. al., 1985); e a sua origem híbrida (Smith e Pham, 1996). Com relação à hipótese de fragmentação recente, algumas especulações podem ser feitas. O relevo acidentado da cadeia do Espinhaço reflete a ação de um longo processo erosivo e da tectônica mais recente do Terciário (Giulietti, 1987; Giulietti e Pirani, 1988; Harley, 1995). Considerando uma origem recente dessas espécies, é possível que elas tenham se diferenciado em ambientes já fragmentados, o que naturalmente limitaria a sua extensão geográfica, sendo pouco provável que a restrição geográfica de *Lychnophora nanuzae*, *L. ramosissima* e *L. rupestris* seja posterior ao processo de especiação. A hipótese de um ancestral comum altamente variável será discutida adiante. Sobre a terceira hipótese, não foram encontradas evidências que corroborem a origem híbrida dessas espécies.

A menor variabilidade genética média encontrada em *Lychnophora granmogolense*, provavelmente também não está relacionada apenas à ação da deriva genética, já que esta possui tamanhos populacionais semelhantes aos das outras espécies, é perene e apresenta indícios de formação de bancos de sementes. No entanto, se considerarmos a ação da deriva genética ao longo de um gargalo populacional, é possível que esta força seja a responsável pelos padrões evidenciados. Enquanto todos os componentes da diversidade genética são afetados pelo pequeno tamanho populacional, um gargalo genético possui um efeito imediato sobre a diversidade alélica (A), maior do que sobre a porcentagem de locos polimórficos (P) e a heterozigosidade esperada (H_e , Nei, 1975; Leberg, 1992; Merilä, 1996).

A maioria das diferenças entre as amostras de *Lychnophora granmogolense* e as das outras espécies é encontrada com relação ao número médio de alelos por loco, sendo as estimativas para *L. granmogolense* sempre menores. Essas diferenças ocorrem

principalmente entre pares de amostras que incluem amostras de *L. granmogolense* da Bahia, sugerindo nelas a ocorrência de gargalo(s) genético(s). Além disso, quando a análise é feita entre regiões (Bahia e Minas Gerais), as amostras de *Lychnophora granmogolense* da Bahia apresentam menor número médio de alelos por loco.

Esses resultados estão de acordo com a hipótese de Semir (1991) de que as espécies de *Lychnophora* do estado da Bahia teriam se originado a partir de populações de Minas Gerais. Essa hipótese está baseada em diferenças na quantidade de espécies e no nível de endemismo entre esses dois estados (76,5 % das 68 espécies do gênero e 50% das espécies endêmicas encontram-se em Minas Gerais).

No entanto, no presente estudo não podemos descartar a ação da seleção natural sobre as populações das espécies analisadas, que pode estar relacionada com a menor variabilidade genética encontrada em algumas amostras de *Lychnophora granmogolense*.

O endocruzamento também pode ser importante na definição da quantidade de variabilidade genética de uma espécie. Apesar de não ser responsável por mudanças nas frequências alélicas, ele pode intensificar a ação de outras forças evolutivas, desta forma contribuindo indiretamente para a evolução das populações. No entanto, desvios significativos ao esperado pelo equilíbrio de Hardy-Weinberg e altos valores de F_{IS} médios foram encontrados em todas as amostras analisadas, não havendo indícios de que o endocruzamento seja um fator importante na definição das diferenças no nível de variabilidade genética observadas nas espécies do complexo analisado.

De maneira geral, em espécies de plantas, é comum a ocorrência de altos valores de F_{IS} , que são explicados, principalmente, pela autofecundação ou fecundação entre indivíduos aparentados.

Não há estudos sobre a biologia reprodutiva e o sistema de cruzamento das espécies

de *Lychnophora* deste trabalho. No entanto, há alguns estudos sobre aspectos reprodutivos de espécies de Asteraceae de campos rupestres, que possibilitam algumas especulações sobre o padrão encontrado.

Faria (1994) e Barbosa (1997) estudando a biologia de comunidades de plantas de campos rupestres em Uberlândia (MG) e na Serra do Cipó (MG) observaram que a grande maioria das espécies de Asteraceae é polinizada por abelhas. De acordo com Barbosa (1997), esses polinizadores são geralmente abelhas pequenas ou médias, que tendem a explorar a maior parte do recurso disponível em uma inflorescência antes de se mover para a próxima. Espera-se que esse comportamento cause desvios ao equilíbrio de Hardy-Weinberg por aumentar as chances de auto-polinização ou polinização entre organismos próximos e possivelmente aparentados, desde que haja algum grau de auto-compatibilidade (que ocorre na maioria das espécies de Asteraceae analisadas por esta autora). Se as características reprodutivas das espécies de *Lychnophora* estudadas forem semelhantes, poderiam explicar os valores de F_{IS} encontrados.

No entanto, como o endocruzamento afeta todos os locos igualmente, é pouco provável que ele seja o único responsável pelo padrão de estruturação genética intrapopulacional dessas espécies, já que os valores de F_{IS} entre os locos são heterogêneos para a maioria das amostras de *Lychnophora* estudadas. O efeito Wahlund (Wahlund, 1928), poderia também ser responsável, ao menos em parte, pelos altos valores de F_{IS} encontrados, embora também não explique a heterogeneidade encontrada entre os locos. A seleção contra heterozigotos agindo em apenas alguns locos, assim como a presença de alelos nulos, são hipóteses plausíveis à heterogeneidade dos valores para esse parâmetro (Gaffney et al, 1990).

Além disso, a heterogeneidade entre as amostras dos valores de F_{IS} por loco

provavelmente está relacionada à ação de forças evolutivas locais, enfatizando a sua importância na evolução das espécies nesse ambiente.

Diferenciação populacional.

Enquanto a redução na diversidade genética é freqüente em espécies geograficamente restritas quando comparadas com as estimativas para espécies com distribuição mais ampla, a tendência de uma menor estruturação genética não é geralmente observada (Hamrick e Godt, 1989, 1996; Young e Brown, 1996; Gitzendanner e Soltis, 2000). De modo semelhante, não foi detectado nenhuma relação entre os valores de F_{ST} e a amplitude de distribuição geográfica das espécies de *Lychnophora* analisadas.

Uma influência maior do sistema de cruzamento e do modo de dispersão dos frutos e sementes das espécies de plantas sobre os níveis de estruturação populacional foi sugerida por alguns autores (Hamrick e Godt, 1989; Edwards e Wyatt, 1994; Purdy et al., 1994), sendo, portanto, o fluxo gênico considerado a principal força evolutiva relacionada a esse parâmetro.

Em plantas, o fluxo gênico pode ocorrer através do pólen, das sementes e das plântulas. Não há informação sobre as plântulas das espécies aqui analisadas, no entanto, através das descrições morfológicas das suas flores, frutos e sementes, e da biologia reprodutiva de outras espécies de Asteraceae (Faria, 1994; Barbosa, 1997), é possível considerar algumas hipóteses.

O fluxo gênico, através do pólen, nessas espécies, provavelmente é localizado, concentrando-se dentro das populações, como discutido anteriormente. Da mesma forma, a dispersão dos frutos, provavelmente, predominantemente barocórica (Semir, comunicação pessoal), também é localizada.

O fluxo gênico localizado aumenta a possibilidade de uma diferenciação populacional maior. Dada a alta semelhança morfológica das estruturas reprodutivas entre as espécies de *Lychnophora* estudadas, esperava-se que essas apresentassem padrões de diferenciação populacional semelhantes. No entanto, a diferenciação populacional foi baixa em *Lychnophora nanuzae*, e de moderada a alta nas outras três espécies do complexo.

Em *Lychnophora rupestris* e *L. ramosissima*, as populações, apesar de espacialmente separadas, são muito próximas geograficamente, não sendo esperado valores tão altos de F_{ST} , como os verificados. Frequências gênicas muito diferentes e até mesmo invertidas entre amostras muito próximas de ambas as espécies (Figura 5) podem ser explicadas apenas pela limitação ou quase ausência de fluxo gênico entre elas (Jesus, 2001). No entanto, apesar de todas as análises realizadas aqui considerarem a neutralidade dos locos estudados, não se pode descartar totalmente a influência da seleção natural. Segundo Nevo (1988) e Linhart e Grant (1996) existem evidências de que a seleção natural seja uma força genética importante na diferenciação de locos isozímicos entre populações e espécies.

Outra hipótese para a alta diferenciação encontrada entre amostras muito próximas de *Lychnophora ramosissima* e *L. rupestris* é a ocorrência de eventos de colonização independentes em uma mesma localidade. Populações espacialmente próximas umas das outras e com maior diferenciação genética do que populações mais distantes podem sugerir que estas tenham sido fundadas por indivíduos vindos de populações diferentes (Costich e Meagher, 1992). Um estudo filogeográfico dessas espécies seria um complemento interessante para verificar a probabilidade de ocorrência dessa hipótese (Thompson, 1999).

Os valores de F_{ST} par a par encontrados entre as amostras de *Lychnophora rupestris* e *L. granmogolense* estão correlacionados significativamente com a distância geográfica, indicando a ocorrência de isolamento por distância.

As populações de *Lychnophora granmogolense* encontram-se mais distanciadas umas das outras do que as das outras espécies, podendo dificultar o fluxo gênico e promover um aumento da diferenciação populacional. Isso seria suficiente para a compreensão da alta estruturação genética encontrada nessa espécie, embora não possamos descartar a ação de forças seletivas.

Um padrão interessante dos valores de F_{ST} entre as amostras de *Lychnophora granmogolense* é encontrado quando analisamos esse parâmetro, par a par, entre as amostras da Bahia e entre as populações de Minas Gerais. Em geral, valores mais altos do F_{ST} são encontrados entre as amostras da Bahia e entre estas e as amostras de Minas Gerais. Alguns autores afirmam que populações colonizadas mais recentemente apresentam menor variabilidade genética e maiores valores de F_{ST} (Glover e Barrett, 1987; McCauley et al., 1995; Ledig, 2000), como é observado em amostras de *L. granmogolense* da Bahia. Esses resultados corroboram a hipótese proposta por Semir (1991) sobre a origem das populações e espécies de *Lychnophora* do estado da Bahia através da dispersão de indivíduos vindos de populações de Minas Gerais.

Em *Lychnophora nanuzae*, a menor estruturação populacional encontrada, pode ser resultado de características dessa espécie que aumentem o fluxo gênico entre as suas populações ou da ação, menos evidente ou até mesmo ausente, de forças evolutivas locais.

Relações interespecíficas

De modo geral, os coeficientes de distância genética interpopulacionais e interespecíficos das espécies estudadas são muito baixos, semelhantes aos encontrados entre populações coespecíficas de plantas (van der Bank, 2001), corroborando a hipótese de que elas seriam muito próximas, podendo ser caracterizadas como constituintes de um complexo.

Na maioria dos casos, os agrupamentos na análise de UPGMA não correspondem à designação taxonômica e nem à localidade geográfica das populações, além de não possuir consistência estatística. Isso se deve à alta similaridade genética entre essas espécies, que pode ser devida a uma origem recente dessas taxa.

Origem recente é a principal hipótese utilizada para explicar as altas identidades genéticas verificadas entre espécies de plantas continentais (Gottlieb, 1973, 1974; Soltis, 1982, 1985; Crawford et al., 1983; Crawford et al. 1985; Gottlieb et al., 1985; Ranker e Schnabel, 1986; Loveless e Hamrick, 1988; Pleasants e Wendel, 1989; Sherman-Broyles et al., 1992; Baskauf et al., 1994; Edwards e Wyatt, 1994; McClintock e Waterway, 1994; Purdy et al., 1994; Kadereit et al., 1995; Edwards e Sharitz, 2000).

Nesses estudos tem sido estabelecida a possibilidade de verificação de uma relação de ancestralidade direta entre duas ou mais espécies, identificando as espécies ancestrais e derivadas através dos parâmetros genéticos estimados pela análise de locos isozímicos. Em geral, a menor variabilidade apresentada pelas espécies derivadas é atribuída à passagem de suas populações por gargalos genéticos durante o processo de especiação. Desta forma, elas teriam sempre uma alta identidade genética, sendo as espécies derivadas constituídas por uma pequena amostra da diversidade genética presente na espécie ancestral, com nenhum ou poucos alelos novos (Lowrey e Crawford, 1985; Francisco–Ortega et al., 1996; Garnatje

et al., 1998).

A menor variabilidade genética encontrada em *Lychnophora granmogolense*, sendo a sua composição genética, de maneira geral, um subconjunto da apresentada pelas outras espécies analisadas, com a presença de raros alelos exclusivos, podem levar à sugestão da origem de *L. granmogolense* a partir de alguma das outras espécies do complexo, o que contraria a hipótese de Semir (1991), que a caracteriza como espécie ancestral do complexo devido ao seu alto polimorfismo morfológico e à sua distribuição geográfica mais ampla.

A análise de PCA evidencia uma diferenciação maior das amostras de *Lychnophora ramosissima*, a espécie que possui as maiores diferenças morfológicas em relação às demais (Figura 7). Esse resultado sugere a existência de dois grupos genéticos no complexo, sendo um deles *L. ramosissima* e o outro formado por *L. granmogolense*, *L. nanuzae* e *L. rupestris*. O nível taxonômico desses grupos merece maiores investigações.

Conclusão

A análise de um complexo de espécies, além de possibilitar a realização de estudos comparativos da relação entre variabilidade genética e amplitude de distribuição geográfica, permitiu a formulação de algumas hipóteses sobre a origem dessas espécies. O estudo desses complexos promove oportunidades raras para a compreensão dos processos microevolutivos.

Os resultados aqui apresentados corroboram a hipótese proposta por Semir (1991), de que a origem do gênero seria em Minas Gerais e que as localidades da Bahia, provavelmente foram ocupadas em eventos de dispersão. Por outro lado, a origem ancestral de *Lychnophora granmogolense* não pode ser apoiada com os resultados obtidos assim como a suposição de que a quantidade de variabilidade genética em uma espécie está

diretamente relacionada à sua distribuição geográfica. A partir dos resultados da análise de ordenação é possível sugerir a existência de dois grupos genéticos no complexo, sendo um deles *L. ramosissima* e o outro formado por *L. granmogolense*, *L. nanuzae* e *L. rupestris*. O nível taxonômico desses grupos merece maiores investigações.

Referências Bibliográficas

Ayres, M., M. Ayres Jr., D. L. Ayres, A. S. Santos. 2003. Bioestat. Versão 3.0. Sociedade Civil Mamirauá. MCT – CNPq. Belém.

Archie, J. W. 1985. Statistical analysis of heterozygosity data: independent sample comparisons. Evolution, 39: 623 – 637.

Azevedo, M. T. A., V. N. Solferini, E.L. Borba, J. Semir. 2001. Estruturação genética em orquídeas miófilas de campos rupestres. Anais do 47º Congresso Nacional de Genética, Águas de Lindóia, São Paulo. pp 360.

Barbosa, A. A. A. 1997. Biologia reprodutiva de uma comunidade de campo sujo, Uberlândia/MG. Tese de Doutorado, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Barret, S. C. H., J. R. Kohn. 1991. Genetic and evolutionary consequences of small population size in plants. Implications for conservation. In: Genetics and Conservation of Rare Plants (eds., Falk D. A., K. E. Holsinger). pp. 3 – 30. Oxford University Press. New York.

Baskauf, C., D. E. McCauley, W. G. Eickmeier. 1994. Genetic analysis of a rare and a widespread species of *Echinaceae* (Asteraceae). Evolution, 48: 180 – 188.

Batista, F., A. Bañares, J. Caujapé-Castells, E. Carqué, M. Marrero – Gómez, P. A. Sosa. 2001. Allozyme diversity in three endemic species of *Cistus* (Cistaceae) from the Canary Island: intraspecific and interspecific comparison and implications for genetic conservation. American Journal of Botany, 88: 1582 – 1592.

Borba, E. L., J. M. Felix, V. N. Solferini, J. Semir. 2001. Fly- Pollinated *Pleurothallis* (Orchidaceae) species have High genetic variability: evidence from isozyme markers. American Journal of Botany, 88: 419-428.

Brune, W., Alfenas A. C., Junghans T. G. 1998. Identificações específicas de enzimas em géis. Em: Eletroforese de isoenzimas e proteínas afins (eds. A. C. Alfenas). pp. 201-328. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa.

Chang, C. S., H. Kim, T. Y. Park. 2003. Patterns of allozyme diversity in several selected rare species in Korea and implications for conservation. Biodiversity and Conservation, 12: 529 – 544.

Coates, D. J., S. Carstairs, V. L. Hamley. 2003. Evolutionary patterns and genetic structure in localized and widespread species in the *Stylidium caricifolium* complex (Stylidiaceae). American Journal of Botany, 90: 997 – 1008.

Corrias, B., W. Rossi, P. Arduino, R. Cianchi, L. Bullini. 1991. *Orchis longicornu* Poiret in Sardinia: genetic, morphological and chorological data. Webbia, 45: 71 - 101.

Costich, D. E., T.R. Meagher. 1992. Genetic variation in *Ecballium elaterium* (Cucurbitaceae): breeding system and geographical distribution. Journal of Evolutionary Biology, 5: 589 – 601.

Crawford, D. J. 1983. Phylogenetic and systematic inferences from electrophoretic studies. Em: Isozymes in plant genetics and breeding (eds., Tanksley S. O. e T. J. Orton), pp. 257-287. Elsevier. Amsterdam.

Crawford, D. J., R. Ornduff, M. C. Vasey. 1985. Allozyme variation within and between *Lasthenia minor* and its derivative species *L. maritima* (Asteraceae). American Journal of Botany, 72: 1177 – 1184.

Crow, J., M. Kimura. 1970. An Introduction to population genetics theory. pp. 61 – 111. Harper & Row, New York.

Edwards, A. L., R. Wyatt. 1994. Population genetics of the rare *Asclepias texana* and its widespread sister species *A. perennis*. Systematic Botany, 19: 291 – 307.

Edwards, A. L., R. R. Sharitz. 2000. Population genetics of two rare perennials in isolated wetlands: *Sagittaria isoetiformis* and *S. teres* (Alismataceae). American Journal of Botany, 87: 1147 – 1158.

Ellstrand, N. C., D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: implication for plant conservation. Annual Review of Ecological Systematics, 24: 217 – 242.

Faria, G. M. 1994. A flora e a fauna apícola de um ecossistema de campo rupestre,

Serra do Cipó – MG, Brasil: Composição, fenologia, e suas interações. Tese de Doutorado. Instituto de Biociências. Universidade Estadual Paulista. Rio Claro.

Felsenstein, J. 1985. Phylogenies and the comparative method. American Naturalist, 125: 1 – 15.

Francisco-Ortega, J., D. J. Crawford, A. Santos-Guerra, J. A. Carvalho. 1996. Isozyme differentiation in the endemic genus *Argyranthemum* (Asteraceae: *Anthemideae*) in the Macaronesian Islands. Plant Systematics and Evolution, 202: 137 – 152.

Gaffney, P.G., T. M. Scott, R. K. Koehn e W. J. Diehl. 1990. Interrelationships of heterozygosity growth rate and heterozygote deficiencies in the Coot Clam, *Mulinia lateralis*. Genetics, 124: 687-699.

Garnatje, T., A. Susanna, R. Messeguer. 1998. Isozyme studies in the genus *Cheirolophus* (Asteraceae: *Cardueae-Centaureinae*) in the Iberian Peninsula, North Africa and the Canary Islands. Plant Systematics and Evolution, 213: 57 – 70.

Gitzendanner, M. A., P. S. Soltis. 2000. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. American Journal of Botany, 87: 783 – 792.

Giulietti, A. M., N. L. Menezes, J. R. Pirani, M. Meguro, M. G. L. Wanderley. 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Caracterização e lista de espécies. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo, 9: 1 – 152.

Giulietti, A. M., J. R. Pirani, R. M. Harley. 1997. Espinhaço range region. Em: Centres of Plant Diversity. A Guide and Strategy for their conservation. Vol 3: The Americas (eds., Davis S. D., V. H. Heywood, O. Herrera-MacBryde, J. Villa-Lobos, A. C. Hamilton). pp. 397 – 404. WWF/IUCN. Cambridge.

Glover, D. E., S. C. H. Barret. 1987. Genetic variation in continental and island populations of *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae). Heredity, 59: 7 – 17.

Godt, M. J., J. L. Hamrick. 1998. Allozyme diversity in the endangered pitcher plant *Sarracenia rubra ssp. alabamensis* (Sarraceniaceae) and its close relative *S. rubra ssp. rubra*. American Journal of Botany, 85: 802 – 810.

Gottlieb, L. D. 1973. Genetic differentiation, sympatric speciation, and the origin of a diploid species of *Stephanomeria*. American Journal of Botany, 60: 545 – 553.

Gottlieb, L. D. 1974. Genetic confirmation of the origin of *Clarkia lingulata*. Evolution, 28: 244 – 250.

Gottlieb, L. D. 1981. Electrophoretic evidence and plant populations. Progress in Phytochemistry, 7: 1 – 45.

Gottlieb, L. D., S. I. Warwick, V. S. Ford. 1985. Morphological and electrophoretic divergence between *Layia discoidea* and *L. glandulosa*. Systematic Botany, 10: 484 – 495.

Guo, S. W. E. A. Thompson. 1992. Performing the exact test of Hardy-Weinberg proportion for multiple alleles. Biometrics, 48: 361-372.

Hamrick, J. L., Y. B. Linhart, J. B. Mitton. 1979. Relationships between life history characteristics and electrophoretically detectable genetic variation in plants. Annual Review of Ecology and Systematics, 10: 173-200.

Hamrick, J. L., J. W. Godt. 1989. Allozymes diversity in plant species. In: Plant population genetics, breeding and genetic resources (eds., Brown A. H. D., M. T. Clegg, A. L. Kahler, B. S. Weir). pp. 43 – 63. Sinauer, Sunderland. Massachusetts.

Hamrick, J. L., M. J.W. Godt, D. A. Murawski, M. D. Loveless. 1991. Correlations between species traits and allozymes diversity. In: Genetics and Conservation of Rare Plants (eds., Falk D. A., K. E. Holsinger). pp. 75 – 86. Oxford University Press. New York.

Hamrick, J. L., J. W. Godt. 1996. Conservation genetics of endemic plant species. In: Conservation genetics: case histories from nature (eds., Avise J. C., J. L. Hamrick). pp. 281 – 304. Chapman and Hall. New York.

Harley, R. M. 1995. Introduction. In: Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia (eds., Stannard B. L.). pp. 1 – 10. Royal Botanic Gardens. Kew.

Hoebee, S., A. G. Young. 2001. Low neighbourhood size and high interpopulation differentiation in the endangered shrub *Grevillea iaspicula* Mc Gill (Proteaceae). Heredity, 86: 489 – 496.

Holsinger, K. E., L. D. Gottlieb. 1991. Conservation of rare and endangered plants: principles and prospects. Oxford University Press. New York.

James, F. C., C. E. McCulloch. 1990. Multivariate analysis in ecology and systematics: Panacea or Pandora's box?. Annual Review of Ecology and Systematics, 21: 129 – 166.

Jesus, F. F., V. N. Solferini, J. Semir, P. I. Prado. 2001. Local genetic differentiation in *Proteopsis argentea* (Asteraceae), a perennial herb endemic in Brazil. Plant Systematics and Evolution, 226: 59 – 68.

Kadereit, J. W., H. P. Comes, D. J. Curnow, J. A. Irwin, R. J. Abbot. 1995. Chloroplast DNA and isozyme analysis of the progenitor-derivative species relationship between *Senecio nebrodensis* and *S. viscosus* (Asteraceae). American Journal of Botany, 82: 1179 – 1185.

Karron, J. D. 1987. A comparison of levels of genetic polymorphism and self – compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners. Evolutionary Ecology, 1: 47 – 58.

Karron, J. D. 1991. Patterns of genetic variation and breeding systems in rare plant species. Em: Genetics and conservation of rare plants (eds., Falk D. A., K. E. Holsinger), pp. 87 – 98. Oxford University Press. New York.

Kruckeberg, A. R., D. Rabinowitz. 1985. Biological aspects of endemism in higher plants. Annual Review of Ecology and Systematics, 16: 447 – 479.

Leberg, P. L. 1992. Effects of population bottlenecks on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. Evolution, 46: 477 – 494.

Ledig, F. T. 2000. Founder effects and the genetic structure of coulter pine. The Journal of Heredity, 91:307 – 315.

Levin, D. A. 1990. The seed bank as a source of genetic novelty in plants. American Naturalist, 135: 563 – 572.

Linhart, Y. B., M. C. Grant. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. Annual Review of Ecology and Systematics, 27: 237 – 277.

Loveless, M. D., J. L. Hamrick. 1984. Ecological determinants of genetic structure in plant populations. Annual Review of Ecology and Systematics, 15: 65 – 95.

Loveless, M. D., J. L. Hamrick. 1988. Genetic organization and evolutionary history in two North American species of *Cirsium*. Evolution, 42: 254 – 265.

Lowrey, T. K., D. J. Crawford. 1985. Allozyme divergence and evolution in *Tetramolopium* (Compositae: Astereae) on the Hawaiian Islands. Systematic Botany, 10: 64 – 72.

Maki, M., Y. Asada. 1998. High genetic variability revealed by allozymic loci in the narrow endemic fern *Polystichum otomasui* (Dryopteridaceae). Heredity, 80: 604 – 610.

Martius, C. F. P. 1822. Novum plantarum genus *Lychnophora*. Denkschr. K. Bayer. Bot. Ges. Regensb, 2: 148 – 159.

Mateu-Andrés, I., J. G. Segarra-Moragues. 2000. Population subdivision and genetic diversity in two narrow endemics of *Antirrhinum* L. Molecular Ecology, 9: 2081- 2087.

Mateu-Andrés, I., J. G. Segarra-Moragues. 2003. Patterns of genetic diversity in related taxa of *Antirrhinum* L. assessed using allozymes. Biological Journal of the Linnean Society, 79: 299-307.

McCauley, D. E., J. Raveill, J. Antonovics. 1995. Local founding events as determinants of genetic structure in a plant metapopulation. Heredity, 75: 630 – 636.

McClintock, K. A., M. J. Waterway. 1994. Genetic differentiation between *Carex lasiocarpa* and *C. pellita* (Cyperaceae) in North America. American Journal of Botany, 81: 224 – 231.

McCune, B., M. J. Mefford. 1997. Multivariate analysis of ecological data. Version 3.11. MjM Software Glendeden Beach, Oregon.

Merilä, J., M. Björkund, A. J. Baker. 1996. The successful founder: genetics of introduced *Carduelis chloris* (greenfinch) populations in New Zealand. Heredity, 77: 410 – 422.

Miller, M. P. 1997. Tools for population genetics analysis (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Distributed by the author.

Neel, M. C., N. C. Ellstrand. 2001. Patterns of allozyme diversity in the threatened plant *Erigeron parishii* (Asteraceae). American Journal of Botany, 88: 810 – 818.

Nei, M., T. Maruyama, R. Chakraborty. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. Evolution, 29: 1 – 10.

Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. Genetics, 89: 583-590.

Nevo, E., A. Beiles, T. Krugman. 1988. Natural selection of allozyme polymorphisms: a microgeographical differentiation by edaphic, topographical, and temporal factors in wild emmer wheat (*Triticum dicoccoides*). Theoretical and Applied Genetics, 76: 737 – 752.

Pleasants, J. M., J. F. Wendel. 1989. Genetic diversity in a clonal narrow endemic, *Erythronium propullens*, and its progenitor, *Erythronium albidum*. American Journal of Botany, 81: 904 – 911.

Premoli, A. C., C. P. Souto, T. R. Allnutt, A. C. Newton. 2001. Effects of population disjunction on isozyme variation in the widespread *Pilgerodendron uviferum*. Heredity, 87: 337 – 343.

Purdy, B. G., R. J. Bayer, S. E. MacDonald. 1994. Genetic variation, breeding system evolution, and conservation of narrow sand dune endemic *Stellaria arenicola* and the widespread *S. longipes* (Caryophyllaceae). American Journal of Botany, 81: 904 – 911.

Ranker, T. A., A. F. Schnabel. 1986. Allozymic and morphological evidence for progenitor – derivative species pair in *Camassia* (Liliaceae). Systematic Botany, 11: 433 – 445.

Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. Evolution, 43: 223 – 225.

Segarra – Moragues, J. G., P. Catalán. 2002. Low allozyme variability in the critically endangered *Borderea chouardii* and its congener *Borderea pyrenaica* (Dioscoreaceae), two paleoendemics relicts from the central Pyrenees. International Journal of Plant Sciences, 163: 159 – 166

Semir, J. 1991. Revisão Taxonômica de *Lychnophora* Mart. (Vernonieae: Compositae). Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas. São Paulo.

Sheldon, J. C., F. M. Burrows. 1973. The dispersal effectiveness of the achene-pappus units of selected Compositae in steady winds with convection. New Phytologist, 72: 665 – 675.

Sherman-Broyles, S.L., J. P. Gibson, J. L. Hamrick, M. A. Bucher, M. J. Gibson. 1992. Comparisons of allozyme diversity among rare and widespread *Rhus* species. Systematic Botany, 17: 551 – 559.

Silvertown, J., M. Dodd. 1996. Comparing plants and connecting traits. Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, 351: 1233 – 1239.

Sneath, P. H., Sokal, R. R. 1973. Numerical taxonomy. The principles and practice of numerical classification. W. H. Freeman and Co., San Francisco.

Sokal, R.R., F.J. Rohlf. 1995. Biometry: The Principles and Practice of Statistics in Biological Research. 3rd ed. WH Freeman Company, New York.

Soltis, D. E. 1982. Allozymic variability in *Sullivantia* (Saxifragaceae). Systematic Botany, 7: 26 – 34.

Soltis, D. E., C. H. Haufler, D.C. Darrow, G. J. Gastony. 1983. Starch gel electrophoresis of ferns: a compilation of grinding buffers, gel and electrode buffers and staining schedules. American Fern Journal, 73: 9-27.

Soltis, D. E. 1985. Allozymic differentiation among *Heuchera americana*, *H. parviflora*, *H. pubescens*, and *H. villosa* (Saxifragaceae). Systematic Botany, 10: 193 – 198.

Stebbins, G. L. 1980. Rarity of plant species: a synthetic viewpoint. Rhodora, 82: 77 – 86.

Sun, M., F. R. Gardens. 1990. Outcrossing rates and allozyme variation in rayed and rayless morphs of *Bidens pilosa*. Heredity, 64: 139-143.

Thompson, J. D. 1999. Population differentiation in Mediterranean plants: insights into colonization history and the evolution and conservation of endemic species. Heredity, 82: 229 – 236.

van der Bank, H., M. van der Bank and B. van Wyk. 2001. A review of the use of allozymes electrophoresis in plant systematics. Biochemical Systematics and Ecology, 29: 469-483.

Wahlund, S. 1928. Zusammensetzung von Populationen und Korrelationserscheinungen vom Standpunkt der Vererbungslehre aus betrachtet. Hereditas, 11:65-106.

Weir, B. S., C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. Evolution, 38: 1358 – 1370.

Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability within and among natural populations. University of Chicago Press. Chicago

Young, A. G., H. D. Brown. 1996. Comparative populations genetic structure of the rare woodland shrub *Daviesia suaveolens* and its common congener *D. mimosoides*. Conservation Biology, 10: 1220 – 1228.

Zar, J.H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice Hall, New Jersey.

Capítulo II

METABÓLITOS SECUNDÁRIOS COMO MARCADORES TAXONÔMICOS E EVOLUTIVOS EM ESPÉCIES DE *LYCHNOPHORA* MART.

Resumo

Lychnophora rupestris, *L. nanuzae*, *L. ramosissima* e *L. granmogolense* (Asteraceae), apresentam características morfológicas muito semelhantes e pertencem ao mesmo complexo de espécies. Apesar de terem sido encontradas diferenças no nível de variabilidade genética entre as espécies, a baixa distância genética não permite uma distinção dessas taxa. Tem sido demonstrado que compostos do metabolismo secundário das plantas, em especial os terpenos, são úteis como marcadores taxonômicos e para a inferência de processos evolutivos em diversos níveis hierárquicos. A análise da composição de terpenos dessas quatro espécies evidenciou uma grande diversidade de compostos, principalmente em *Lychnophora ramosissima* (72), cuja distribuição é restrita a poucas localidades do estado de Minas Gerais. Essa espécie apresentou 32 compostos exclusivos, o que permitiu diferenciá-la das demais. *Lychnophora rupestris*, *L. granmogolense* e *L. nanuzae*, apresentam uma maior similaridade química, concordando com a análise morfológica. Algumas hipóteses sobre a evolução desse complexo são discutidas.

Palavras chaves: campos rupestres, *Lychnophora*, terpenos, complexo de espécies, evolução.

Introdução

O gênero *Lychnophora* Mart. (Asteraceae, Vernoniaeae, Lychnophorinae) foi estabelecido por Martius (1822), revisto e ampliado por vários autores. Em uma revisão recente (Semir, 1991) considerou a existência de 68 espécies distribuídas em 6 seções: *Lychnophora*, *Lychnophoriopsis*, *Lychnophorioides*, *Lychnocephaliopsis*, *Sphaeranthus* e *Chronopappus*.

As seções *Lychnophora* e *Lychnophorioides* são as maiores do gênero, ambas sendo compostas por 25 espécies. A seção *Lychnophora* apresenta um grupo de cinco espécies (*Lychnophora granmogolense*, *Lychnophora rupestris*, *Lychnophora nanuzae*, *Lychnophora ramosissima* e *Lychnophora goiana*) de difícil separação devido a alta similaridade morfológica, sendo considerado um complexo de espécies (Prof. Dr. João Semir, comunicação pessoal).

Lychnophora granmogolense (Duarte) Semir in Hind é amplamente distribuída, ocorrendo em várias localidades dos estados da Bahia (Chapada Diamantina) e Minas Gerais (região norte do estado). *Lychnophora rupestris* Semir & Leitão-Filho inédito, possui uma distribuição restrita a Serra do Cipó, região central do estado de Minas Gerais, onde é encontrada em um grande número de populações. *Lychnophora nanuzae* Semir & Leitão-Filho inédito, ocorre em algumas poucas localidades próximas da cidade de Diamantina, no Planalto de Diamantina, norte do estado de Minas Gerais. *Lychnophora ramosissima* (Gardner) é encontrada em apenas duas localidades próximas da cidade de Diamantina, no Planalto de Diamantina, norte do estado de Minas Gerais, sendo a que mais se diferencia das outras espécies do complexo. *Lychnophora goiana* Semir & Leitão-Filho inédito apresenta também distribuição muito restrita, sendo encontrada em apenas uma população localizada próxima do município de Posse, no estado de Goiás (Semir, 1991).

Com exceção de *Lychnophora goiana*, todas as outras espécies ocorrem nos complexos vegetacionais rupestres de Minas Gerais e Bahia.

Os complexos vegetacionais rupestres, mais conhecidos como campos rupestres, são caracterizados por uma vegetação de altitude (900 a 1800 metros acima do nível do mar), com predomínio de arbustos e subarbustos, crescendo em solos rasos e arenosos. É uma vegetação típica da Cadeia do Espinhaço, que se estende de Minas Gerais até a Bahia (Giulietti et al., 1987; Harley, 1995; Giulietti et al., 1997).

Os padrões genéticos encontrados para as quatro espécies desse complexo que ocorrem nos estados de Minas Gerais e Bahia, indicam: i) alta variabilidade genética intrapopulacional, os menores valores sendo encontrados em *Lychnophora granmogolense*; ii) estruturação genética de moderada a alta (com exceção de *L. nanuzae*), inclusive entre populações muito próximas geograficamente; e iii) baixos coeficientes de distância genética entre as espécies e populações (ver Capítulo I).

Substâncias do metabolismo secundário das plantas mostram-se úteis como marcadores taxonômicos nos diferentes níveis da hierarquia, inclusive, na investigação de problemas taxonômicos e evolutivos infraespecíficos (Mabry, 1970; Turner, 1970; Crawford, 1978; Gottlieb e Kubitzki, 1984; Rudloff e Lapp, 1992; Adams et al., 1993; Grayer et al., 1999; Harborne, 2000; Trigo et al. 2003).

Dentre os metabólitos secundários, os terpenóides são considerados o grupo mais diverso, sendo encontrados em todas as famílias de plantas (Buckingham, 1998; Theis e Lerda, 2003). Essa classe de compostos tem sido utilizada com sucesso em estudos que investigam as relações taxonômicas e evolutivas nos mais diversos níveis hierárquicos, inclusive questões sobre a origem híbrida de alguns taxa (Harbone e Turner, 1984; Skoula et al., 1999).

Os terpenóides (mono-, sesqui-, di- e triterpenóides) são particularmente abundantes em algumas famílias de dicotiledôneas, sendo bem representados em Asteraceae (Charlwood e Banthorpe, 1991), onde se destacam juntamente com poliacetilenos, flavonóides, cumarinas, benzofuranos e benzopiranos (Seaman et al., 1990; Hertz, 1996; Emerenciano et al, 1998).

Em *Lychnophora*, muitas espécies já foram submetidas a estudos químicos, sendo identificados para o gênero, até o momento, sesqui-, di- e triterpenos, lactonas sesquiterpênicas, flavonóides, esteróides e poliacetilenos (Bhardwaj et al., 1978; Bohlmann et al., 1980; Bohlmann et al., 1982; King, 1986; Costa et al., 1993; Cunha et al., 1995; De Oliveira et al., 1996; Miguel et al., 1996; Borella et al., 1998; Grael et al., 2000; Sartori et al., 2002; Takeara et al., 2003; Sakamoto et al., 2003; Kaneshiro et al., 2004). Um dos grandes interesses na caracterização química das espécies desse gênero está na descoberta de princípios ativos de uso medicinal, já que algumas espécies de *Lychnophora* são muito utilizadas na medicina popular como agentes antiinflamatórios, analgésicos e antimicrobianos (De Oliveira et al., 1996; Miguel et al., 1996; Grael et al., 2000; Takeara et al., 2003; Kaneshiro et al., 2004). Desta forma, apesar dos muitos estudos químicos já realizados, a análise desses compostos como ferramentas para a compreensão das relações interespecíficas no gênero foi pouco explorada.

O presente estudo pretende utilizar a composição química dos extratos diclorometânicos de *Lychnophora granmogolense*, *L. nanuzae*, *L. ramosissima* e *L. rupestris* (os quais apresentam majoritariamente triterpenóides) como ferramenta para elucidar as relações taxonômicas e evolutivas entre essas espécies.

Material e Métodos

Folhas jovens não danificadas de diferentes populações de *Lychnophora ramosissima*, *L. granmogolense*, *L. rupestris* e *L. nanuzae*, foram coletadas nos estados de Minas Gerais e Bahia (Tabela 1, Figura 1). Foram amostrados no mínimo cinco indivíduos por população, considerando uma distância de pelo menos 3 metros entre eles. A identificação do material foi realizada pelo Prof. Dr João Semir (Departamento de Botânica, IB, UNICAMP). Os materiais testemunhos de todas as coletas serão depositados no Herbário da UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas).

As folhas foram colocadas em frascos com 30 ml de CH₂Cl₂, os quais foram mantidos em gelo durante a coleta e a -15°C em um congelador até o momento da extração dos compostos. Para a extração dos compostos, o solvente foi filtrado e quando necessário, teve seu volume reduzido para aproximadamente 1,0 ml em fluxo de N₂.

O extrato de diclorometano foi analisado por Cromatografia Gasosa – Espectrometria de Massas (CG-EM) em um sistema Hewlett Packard-6890 GC com uma coluna de sílica capilar fundida (30m x 0,25mm x 0,25µm, HP-5MS, Crossbond 5%-phenyl-95%-dimethylpolysiloxane) acoplada diretamente a um detector de massas seletivo Hewlett Packard 5973. As condições de injeção, adaptadas de Adams (1995), foram: temperatura de injeção, 240°C; temperaturas da coluna, 60°C-300°C, 3°C/min, 300°C; injeção sem divisão (splitless) durante 1,50 minutos; gás de arraste He 1mL/min, fluxo constante; volume injetado de cada amostra, 0,2 ou 1µL. Os índices de retenção (IRs) foram calculados de acordo com van den Dool e Kratz (1963) para a região de eluição com gradiente de temperatura e Heath e Dueben (1998) para a região isotérmica. Os compostos foram caracterizados através da comparação do seu padrão de fragmentação de massas com aqueles presentes na biblioteca de espectros de massa (HP Mass Spectral Libraries NIST 1998).

As relações interespecíficas foram determinadas através do método de agrupamento de UPGMA, utilizando como coeficiente de distância a diferença total dos caracteres calculada a partir de uma matriz de presença e ausência dos compostos detectados. Essas análises foram realizadas através do programa PAUP* 4.0b10 (Swofford, 2002).

Índices de Diversidade de Shannon foram calculados para os compostos presentes em cada uma das espécies analisadas, sendo estes comparados através do teste t de Shannon (Legendre e Legendre 1998). A correção sequencial de Bonferroni foi aplicada para corrigir erros tipo I introduzidos na análise pela utilização de testes múltiplos (Rice, 1989). Essas análises, com exceção da correção sequencial de Bonferroni, foram realizadas através do programa PAST, versão 0.94 (Hammer e Harper, 2002).

Análises estatísticas das diferenças na composição química entre as populações de uma mesma espécie não foram realizadas devido ao baixo número de indivíduos coletados.

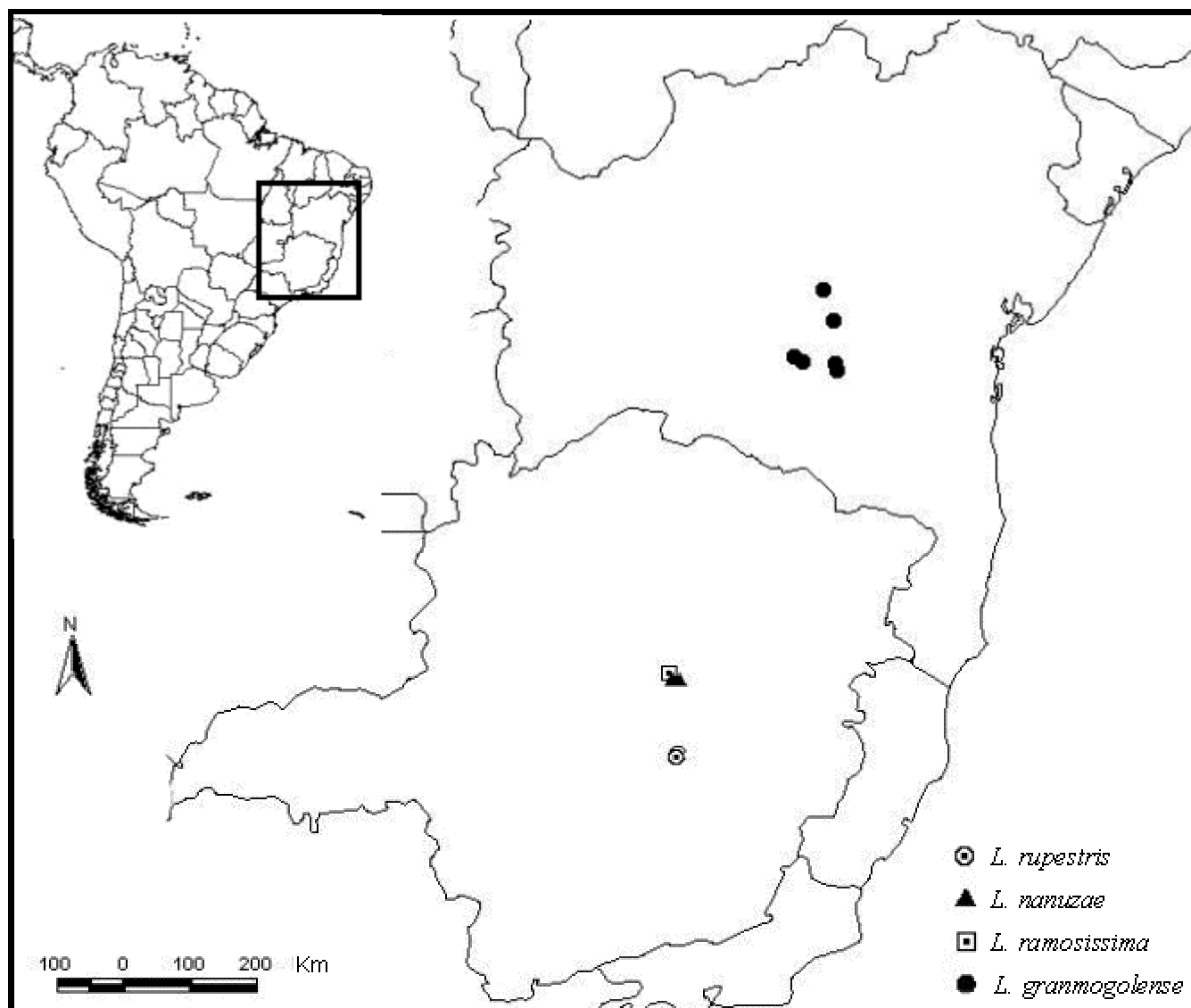


Figura 1. Localização das populações das espécies de *Lychnophora* amostradas.

Tabela 1. Localização das populações das espécies de *Lychnophora* amostradas.

Espécie	Localidade	Amostra	Latitude (S)	Longitude (W)
<i>L. granmogolense</i>	Barra da Estiva/BA	LG1	13°42'600"	41°18'200"
	Barra da Estiva/BA	LG2	13°37'240"	41°20'130"
	Mucugê/BA	LG3	12°59'230"	41°20'940"
	Palmeiras/BA	LG4	12°33'170"	41°30'870"
	Rio de Contas/BA	LG5	13°34'800"	41°48'670"
	Rio de Contas/BA	LG6	13°31'190"	41°56'040"
<i>L. rupestris</i>	Serra do Cipó/MG	LR1	19°18'730"	43°37'510"
		LR2	19°17'705"	43°36'060"
		LR3	19°17'661"	43°35'851"
		LR4	19°15'844"	43°35'398"
		LR5	19°18'73"	43°37'51"
<i>L. nanuzae</i>	Diamantina/MG	LN1	18°12'019"	43°42'329"
		LN2	18°13'020"	43°35'560"
<i>L. ramosissima</i>	Diamantina/MG	LRA1	18°07'856"	43°43'743"
		LRA2	18°07'857"	43°43'799"

Resultados

Nas espécies analisadas, setenta e dois compostos foram detectados na região de eluição cromatográfica característica de triterpenos (Patitucci et al., 1995). Desses 72 compostos, 60 estiveram presentes em *Lychnophora ramosissima*, 29 em *L. granmogolense*, 30 em *L. rupestris* e 22 em *L. nanuzae* (Tabela 2 e 3).

Lychnophora ramosissima possui 31 compostos exclusivos (Tabela 2). *L. granmogolense* e *L. rupestris* possuem, respectivamente, quatro e três compostos exclusivos (Tabela 2 e 3). Catorze compostos são comuns a todas as espécies (Tabela 2 e 3). Em *L. nanuzae*, o composto com índice de retenção 2662 está presente apenas em uma das populações coletadas.

Diferenças significativas foram encontradas entre o índice de diversidade de Shannon calculado para *Lychnophora ramosissima* e aqueles obtidos para as outras espécies do complexo (*L. ramosissima* e *L. granmogolense*, $t = -10,043$, $p < 0,0001$; *L. ramosissima* e *L. rupestris*, $t = -11,167$, $p < 0,0001$; *L. ramosissima* e *L. nanuzae*, $t = -11,073$, $p < 0,0001$) (Tabela 4).

A análise de agrupamento diferencia dois principais grupos de espécies: no primeiro, estão agrupados todos os indivíduos de *Lychnophora ramosissima*; e no segundo, encontram-se agrupados os indivíduos de *L. rupestris*, *L. nanuzae* e *L. granmogolense*. Apenas os indivíduos da amostra 1 de *L. nanuzae* encontram-se agrupados (Figura 2).

Tabela 2. Presença dos compostos caracterizados para as espécies de *Lychnophora ramosissima* e *L. granmogolense* (IR – índice de retenção)..

IRs	<i>Lychnophora ramosissima</i>		<i>Lychnophora granmogolense</i>					
	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3	Amostra 4	Amostra 5	Amostra 6
2397	X	X						
2429		X						
2430								
2436								
2440		X						
2460	X	X						
2468	X							
2472	X	X						
2484								X
2492	X	X						
2504	X							
2518	X	X						
2520	X	X						
2528			X		X	X		
2533	X							
2537								
2541		X						
2548	X	X						
2557	X	X						
2570	X	X						
2582	X	X				X		
2599	X							
2603	X		X		X	X		
2607	X	X						

Tabela 2 (continuação).

<i>IR</i>	<i>Lychnophora ramosissima</i>		<i>Lychnophora granmogolense</i>					
	Pop1	Pop2	Pop1	Pop2	Pop 3	Pop 4	Pop 5	Pop 6
2616	X	X						
2633						X		
2654	X							
2662	X							
2667		X						
2675						X		
2680	X	X						X
2710	X							
2727	X		X			X		
2745	X	X						
2767	X	X						
2776	X	X						X
2790		X						
2803	X	X	X	X		X	X	
2812		X						
2815					X	X		X
2831						X		
2858	X	X						
2877	X	X	X	X	X	X	X	X
2961	X			X	X	X	X	X
2976	X	X			X	X	X	X
3005		X						
3049								
3073	X	X	X	X	X	X	X	X

Tabela 2 (continuação).

<i>IR</i>	<i>Lychnophora ramosissima</i>		<i>Lychnophora granmogolense</i>					
	Pop1	Pop2	Pop1	Pop2	Pop 3	Pop 4	Pop 5	Pop 6
3093	X							
3103	X	X	X	X	X		X	
3113		X	X	X	X	X	X	X
3138	X	X						
3169	X	X			X	X	X	X
3184	X	X						
3215	X	X			X	X	X	X
3257	X	X						
3262			X	X	X	X	X	X
3278			X	X				
3283	X	X	X	X	X	X	X	X
3310	X	X						X
3326	X	X						
3353	X	X	X	X	X	X	X	X
3391	X	X						
3407	X	X	X	X	X	X	X	X
3435	X	X	X	X	X	X	X	X
3503	X	X	X	X	X	X	X	X
3541	X	X						
3558	X	X		X	X	X	X	X
3574		X						
3590	X	X						
3611	X	X					X	
3643		X						

Tabela 3. Presença dos compostos caracterizados para as espécies de *Lychnophora rupestris* e *L. nanuzae* (IR – índice de retenção)..

IR	<i>Lychnophora rupestris</i>					<i>Lychnophora nanuzae</i>	
	Pop 1	Pop 2	Pop3	Pop 4	Pop 5	Pop 1	Pop 2
2397							
2429							
2430			X				
2436			X	X			
2440							
2460	X						
2468							
2472							
2484							
2492	X	X		X		X	
2504							
2518							
2520							
2528		X	X	X	X		
2533							
2537			X			X	
2541							
2548							
2557							
2570							
2582	X	X	X	X	X		
2599							
2603			X	X	X		
2607							

Tabela 3 (continuação).

IR	<i>Lychnophora rupestris</i>					<i>Lychnophora nanuzae</i>	
	Pop 1	Pop 2	Pop3	Pop 4	Pop 5	Pop 1	Pop 2
2616			X				
2633							
2654							
2662	X					X	
2667							
2675			X				
2680							
2710							
2727							
2745						X	
2767							
2776							
2790							
2803	X		X	X	X		X
2812						X	
2815							
2831							
2858							
2877	X	X	X	X	X	X	X
2961							X
2976	X	X	X	X		X	
3005							
3049			X				
3073	X	X	X	X	X	X	X

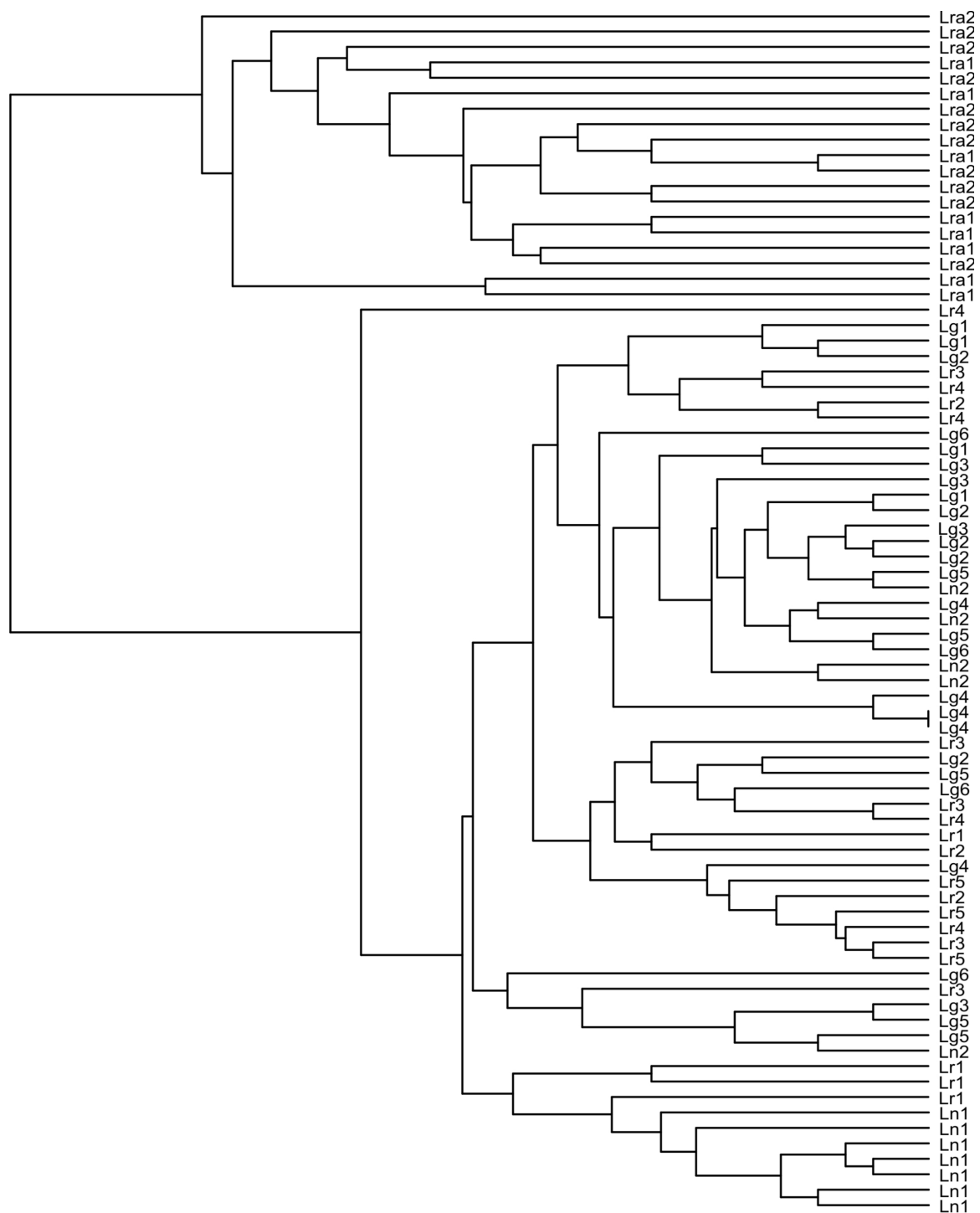
Tabela 3 (continuação).

IR	<i>Lychnophora rupestris</i>					<i>Lychnophora nanuzae</i>	
	Pop 1	Pop 2	Pop3	Pop 4	Pop 5	Pop 1	Pop 2
3093							
3103	X	X	X	X	X	X	X
3113					X		
3138							
3169			X				X
3184							
3215	X	X	X			X	X
3257							
3262	X	X	X	X	X	X	X
3278			X			X	
3283	X	X	X	X	X	X	X
3310							X
3326							
3353	X	X	X	X	X	X	X
3391							
3407	X	X	X	X	X	X	
3435	X	X	X	X	X	X	X
3503	X	X	X	X	X	X	X
3541							
3558	X	X	X	X	X	X	X
3574							
3590							
3611	X	X			X	X	
3643					X		

Tabela 4. Índice de diversidade de Shannon das espécies analisadas do gênero *Lychnophora*.

Espécies	Diversidade	Índice de Shanon	Intervalo de
			confiança*
<i>L. rupestris</i>		2,964	3,257/3,499
<i>L. granmogolense</i>		2,928	3,303/3,515
<i>L. nanuzae</i>		2,862	3,142/3,463
<i>L. ramosissima</i>		3,663	3,36/3,54

*bootstrapping 95%



0.1
 Figura 2. Dendrograma definido pelo método de UPGMA, utilizando a diferença total dos compostos caracterizados para quatro espécies de *Lychnophora*.

Discussão

Lychnophora rupestris, *L. granmogolense* e *L. nanuzae*, distantes geograficamente, são mais semelhantes quimicamente entre si do que *L. ramosissima* e *L. nanuzae*, espécies que ocorrem na mesma região, em localidades muito próximas (Figura 1). Esse padrão de distribuição e diversidade dos terpenos sugere que este seja determinado geneticamente, não sendo apenas respostas fenotípicas a fatores ambientais locais (plasticidade fenotípica).

Mabry (1970) encontrou um padrão semelhante durante o seu estudo sobre a composição de terpenos em espécies de *Ambrosia* (Asteraceae), propondo a existência de um controle genético direto sobre a variação intraespecífica. Os resultados apresentados por Vourc'h et al. (2002), que estudaram a influência da herbivoria sobre a produção de terpenos em espécies de Cupressaceae, também indicam uma grande influência genética sobre a produção desses compostos.

Em geral, as enzimas (sintases) envolvidas na produção dos terpenóides do metabolismo secundário são muito variáveis (Lichtenthaler et al., 1997; Buckingham, 1998; Theis e Lerdau, 2003). Mesmo quando os genes dessas enzimas apresentam similaridades muito altas (70 a 80%), eles são capazes de codificar enzimas funcionalmente diferentes, que produzem diferentes compostos terpênicos (Bohlmann et al, 1997; Bohlmann et al., 1998). Desta forma, sugere-se que a diversidade de terpenos encontrada em uma espécie esteja diretamente relacionada à sua diversidade de sintases que, por sua vez, está relacionada à sua diversidade genética.

Todas essas considerações a respeito da influência da variação genética sobre a diversidade dos compostos terpênicos possibilitam a análise dos resultados aqui apresentados considerando a base teórica da genética de populações. Isso permitirá uma

comparação dos padrões químicos com os padrões encontrados através da análise da variação alélica de locos isoenzimáticos dessas mesmas espécies (Capítulo I).

De maneira geral, espécies com uma ampla distribuição geográfica possuem níveis de variabilidade genética maiores do que espécies com uma distribuição mais restrita, inclusive quando apenas comparações congêneres são consideradas (Karron, 1987; Hamrick e Godt, 1996; Gitzendanner e Soltis, 2000). Como a diversidade de terpenos está diretamente relacionada à diversidade genética, espera-se uma maior diversidade de compostos terpênicos em espécies com uma distribuição geográfica mais ampla. No entanto, *Lychnophora granmogolense*, apesar de possuir a maior distribuição geográfica das espécies analisadas, não apresentou a maior diversidade de compostos. Esse resultado é semelhante ao apresentado pela análise dos locos isozímicos, através da qual as menores estimativas de variabilidade foram encontradas nessa espécie (Capítulo 1).

No entanto, para as isozimas, uma relação entre a distribuição geográfica e a variabilidade genética foi encontrada: as espécies com distribuições geográficas mais restritas (*Lychnophora rupestris*, *L. nanuzae* e *L. ramosissima*) apresentaram variabilidade genética maior do que a da espécie de distribuição mais ampla (*L. granmogolense*). Na análise química, não foi possível estabelecer uma relação entre a diversidade de compostos e a amplitude de distribuição geográfica, já que espécies com amplitudes de distribuição diferentes (*L. granmogolense*, *L. rupestris* e *L. nanuzae*) apresentaram níveis de diversidade semelhantes e inferiores ao observado em *L. ramosissima*.

É possível que as populações de *Lychnophora granmogolense*, *L. rupestris* e *L. nanuzae* tenham passado por um ou mais eventos de gargalo populacional, o que explicaria a menor diversidade química encontrada (Ellstrand e Elam, 1993). No entanto, com gargalos populacionais, seria esperado maiores diferenças na composição química entre

essas espécies do que as verificadas (Figura 2). Assim, é improvável que a deriva genética, devido a ocorrência de flutuações demográficas populacionais no passado, seja a única força evolutiva envolvida na determinação da diversidade de terpenos de *Lychnophora granmogolense*, *L. rupestris* e *L. nanuzae*.

As diferenças na composição de terpenos entre as espécies de *Lychnophora* analisadas definem dois principais grupos: o primeiro é representado pelos indivíduos de *L. ramosissima*, e o segundo pelos indivíduos de *L. rupestris*, *L. granmogolense* e *L. nanuzae* (Figura 2). Esses dois grupos estão de acordo com as diferenças no nível de diversidade química encontradas, através da qual também podem ser definidos dois grupos: o primeiro, com maior diversidade, formado por *L. ramosissima*, e o segundo, com menor diversidade, formado pelas outras três espécies. Além disso, esses dois principais grupos corroboram os resultados das análises morfológicas realizadas por Semir (1991), que destaca características mais diferenciadas para *Lychnophora ramosissima* em relação às outras espécies do complexo.

Essa sobreposição de padrões sugere como hipótese plausível para compreender a distribuição dos terpenos entre essas espécies a ocorrência de um ancestral comum mais recente entre *L. granmogolense*, *L. rupestris* e *L. nanuzae*, com uma diversidade de compostos terpênicos menor do que a observada em *L. ramosissima*.

Mabry et al. (1975), analisando a composição de flavonóides em espécies de *Vernonia*, sugeriu que ao longo da evolução, haveria uma tendência à simplificação dos caminhos biosintéticos, acarretando menor diversidade desses compostos em taxa mais derivados. Considerando que os flavonóides são, da mesma forma que os terpenos, compostos do metabolismo secundário das plantas, os resultados aqui apresentados podem

ser interpretados de acordo com essa proposta. Assim, *L. rupestris*, *L. gramogolense* e *L. nanuzae* poderiam ser identificadas como mais derivadas do que *L. ramosissima*.

No entanto, King (1986) considera essa interpretação inapropriada para espécies do gênero *Lychnophora*. Segundo esse autor, a evolução em *Lychnophora* é melhor representada por um padrão de radiação adaptativa ao invés de uma filogenia dicotômica. Uma análise filogenética das espécies de *Lychnophora* aqui estudadas, seguida pelo mapeamento dos terpenos já caracterizados em cada ramo, considerando as suas possíveis rotas biosintéticas, é necessária para que a hipótese acima sobre a evolução desse complexo seja testada.

Nos campos rupestres, uma grande diversidade de condições ambientais (tipos de solo, clima e composição vegetacional), cujas variações são observadas a pequenas distâncias, promovem um cenário propício para a ação da seleção natural. Assim, devemos considerar também a possibilidade de influência dessa força evolutiva tanto nos níveis de diversidade química encontrados, quanto nas semelhanças entre a composição química de *Lychnophora rupestris*, *L. gramogolense* e *L. nanuzae*, apesar da distância geográfica entre elas.

A maior diversidade química encontrada em *Lychnophora ramosissima* apóia parcialmente a hipótese de Semir (1991) de que o Planalto de Diamantina (região onde *Lychnophora ramosissima* e *L. nanuzae* ocorrem) seria o centro de origem mais provável do gênero *Lychnophora*. A Serra do Cipó (local de ocorrência de *L. rupestris*) e os campos rupestres baianos (*L. gramogolense*) seriam locais de dispersão e possível diferenciação das espécies.

De maneira geral, da mesma forma que na análise morfológica, as diferenças químicas são muito pequenas e indicam maior similaridade entre *Lychnophora rupestris*, *L.*

nanuzae, e *L. granmogolense*. O agrupamento dessas espécies no dendrograma sugere a existência de dois grupos químicos no complexo, sendo um deles *L. ramosissima* e o outro formado por *L. granmogolense*, *L. nanuzae* e *L. rupestris*. O nível taxonômico desses grupos merece maiores investigações.

Segundo Semir (1991) existem outras espécies no gênero morfologicamente semelhantes às espécies analisadas. É possível que a análise dessas outras espécies e de *L. goiana* (integrante do complexo) seja necessária para uma melhor compreensão das relações taxonômicas e evolutivas nesse complexo.

Referências Bibliográficas

- Adams, R. P., T. Demeke, H. A. Abulfatih. 1993. RAPD DNA fingerprints and terpenoids: clues to past migrations of *Juniperus* in Arabia and east Africa. Theoretical and Applied Genetics, 87: 22 – 26.
- Bhardwaj, D. K., A. K. Gupta, R. K. Jain, G. C. Sharma. 1978. Flavone from *Lychnophora affinis* – synthetic study. Current Science, 47: 424 - 428.
- Bohlmann, F., C. Zdero, H. Robinson, R. M. King. 1980. Caryophyllene derivatives and a heliangolide from *Lychnophora* species. Phytochemistry, 19: 2381 – 2385.
- Bohlmann, F., C. Zdero, H. Robinson, R. M. King. 1982. α – Humulene derivatives including a sesquiterpene acid with a rearranged carbon skeleton from *Lychnophora columnaris*. Phytochemistry, 21: 685 – 689.
- Bohlmann, J., C. L. Steele, R. Croteau. 1997. Monoterpenes synthases from Grand fir (*Abies grandis*): cDNA isolation, characterization, and functional expression of myrcene synthase, (-) (4S)-limonene synthase, and (-)-(1S,5S)-pinene synthase. Journal of Biological Chemistry, 272: 21784 – 21792.
- Bohlmann, J., G. Meyer-Gauen, R. Croteau. 1998. Plant terpenoid synthases: Molecular biology and phylogenetic analysis. Proceedings of the National Academy of Science, 95: 4126 – 4133.
- Borella, J. C., J. L. C. Lopes, W. Vichnewski, W. R. Cunha, W. Herz. 1998. Sesquiterpene lactones, triterpenes and flavones from *Lychnophora ericoides* and *Lychnophora pseudovillosissima*. Biochemical Systematics and Ecology, 26: 671 – 676.
- Buckingham, J. 1998. Dictionary of natural products on CD-ROM. Chapman & Hall, London.
- Charlwood, B. V., D. V. Banthorpe (eds). 1991. Methods in Plant Biochemistry, vol 7. Terpenoids. London.
- Costa, F. B., D. A. Dias, J. L. C. Lopes, W. Vichnewski. 1993. Flavonoids and heliangolides from *Lychnophora diamantinana*. Phytochemistry, 34: 261 – 263.
- Crawford, D. J. 1978. Flavonoid chemistry and Angiosperm evolution. The Botanical Review, 44: 431 – 456.

Cunha, W. R., J. L. C. Lopes, W. Viechnewski, J. G. Diaz, W. Herz. 1995. Eremantholides and a guaianolide from *Lychnophora rupestris*. Phytochemistry, 39: 387 - 389.

De Oliveira, A. B., D. A. Saúde, K. S. P. Perry, D. S. Duarte, D. S. Raslan, M. A. D. Boaventura, E. Chiari. 1996. Trypanocidal sesquiterpenes from *Lychnophora* species. Phytotherapy Research, 10: 292 - 295.

Ellstrand, N. C., D. R. Elam. 1993. Population genetic consequences of small population size: implication for plant conservation. Annual Review of Ecological Systematics, 24: 217 - 242.

Emerenciano, V. P., G. V. Rodrigues, S. A. V. Alvarenga, P. A. T. Macari. 1998. Um novo método para agrupar parâmetros quimiotaxonômicos. Química Nova, 21: 125 - 129.

Gitzendanner, M. A., P. S. Soltis. 2000. Patterns of genetic variation in rare and widespread plant congeners. American Journal of Botany, 87: 783 - 792.

Giulietti, A. M., N. L. Menezes, J. R. Pirani, M. Meguro, M. G. L. Wanderley. 1987. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: Caracterização e lista de espécies. Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo, 9: 1 - 152.

Giulietti, A. M., J. R. Pirani, R. M. Harley. 1997. Espinhaço range region. Em: Centres of Plant Diversity. A Guide and Strategy for their conservation. Vol 3: The Americas (eds., Davis S. D., V. H. Heywood, O. Herrera-MacBryde, J. Villa-Lobos, A. C. Hamilton). pp. 397 - 404. WWF/IUCN, Cambridge.

Gottlieb, O. R., K. Kubitzki. 1984. Micromolecular patterns and the evolution and major classification of angiosperms. Taxon, 33: 375 - 391.

Grael, C. F. F., W. Viechnewski, G. E. P. Souza, J. L. C. Lopes, S. Albuquerque, W. R. Cunha. 2000. A study of the trypanocidal and analgesic properties from *Lychnophora granmogolense* (Duarte) Semir & Leitão Filho. Phytotherapy Research, 14: 203 - 206.

Grayer, R. J., M. W. Chase, M. S. J. Simmonds. 1999. A comparison between chemical and molecular characters for the determination of phylogenetic relationships among plant families: an appreciation of Hegnauer's "Chemotaxonomie der Pflanzen". Biochemical Systematics and Ecology, 27: 369 - 393.

Hammer, O., D. A. T. Harper. 2002. PAST version 0.94. <http://folk.uio.no/ohammer/past>.

Hamrick, J. L., J. W. Godt. 1996. Conservation genetics of endemic plant species. Em: Conservation genetics: case histories from nature (eds., Avise J. C., J. L. Hamrick), pp. 281 – 304, Chapman and Hall, New York.

Harborne, J. B., B. L. Turner. 1984. Plant chemosystematics. London.

Harborne, J. B. 2000. Arsenal for survival: secondary plant products. Taxon, 49: 435 – 449.

Harley, R. M.. 1995. Introduction. Em: Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia (eds., Stannard B. L.). pp. 1 – 10. Royal Botanic Gardens, Kew.

Heath, R. R., B. D. Duben. 1998. Analytical and preparative gas chromatography. In: Methods in chemical ecology (eds. Millar J. G., K. F. Haynes). pp. 85 - 126. Chapman and Hall. New York.

Hertz, W. 1996. A review of the terpenoid chemistry of the Vernonieae. Em: Compositae: systematics. (eds., D.J.N. Hind, H.J Beentje). pp 229–251. Whitstable Litho Printers Ltd, London.

Kaneshiro, A., K. M. Kabeya, A. C. M. Polizello, N. P. Lopes, J. L. C. Lopes, Y. M. Lucisano – Valim. 2004. Inhibitory activity of flavonoids from *Lychnophora* sp on generation of reactive oxygen species by neutrophils upon stimulation by immune complexes. Phytotherapy Research, 18: 61 – 65.

Karron, J. D., 1987, A comparison of levels of genetic polymorphism and self – compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners, Evolutionary Ecology, 1: 47 – 58.

King, B. L. 1986. A systematic survey of the leaf flavonoids of *Lychnophora* (Asteraceae: Vernonieae). Systematic Botany, 11: 403 – 414.

Legendre, P.,L. Legendre. 1998. Numerical Ecology. 2nd Edition. Elsevier. New York.

Lichtenthaler, H. K., M. Rohmer, J. Schwender. 1997. Two independent biochemical pathway for isopentenyl diphosphate and isoprenoid biosynthesis in higher plants. Physiology Plant, 101: 643 – 652.

Mabry, T. J. 1970. Intraspecific variation of Sesquiterpene lactones in *Ambrosia* (Compositae): applications to evolutionary problems at the populational level. Chapter 13. Em: Phytochemical Phylogeny Proceedings (ed. J. B. Harbone).pp. 269 – 298. Academic Press Inc. London.

Mabry, T. J., Z. Abedel-Baset, W. G. Padolina, S. B. Jones. 1975. Systematic implications of flavonoids and sesquiterpene lactones in species of *Vernonia*. Phytochemistry, 2: 185 – 192.

Martius, C. F. P. 1822. Novum plantarum genus *Lychnophora*. Denkschr. K. Bayer. Bot. Ges. Regensb, 2: 148 – 159.

Miguel, O. G., E. O. Lima, V. M. F. Morais, S. T. A. Gomes, F. D. Monache, A. B. Cruz, R. C. B. Druz, V. Cechinel Filho. 1996. Antimicrobial activity of constituents isolated from *Lychnophora salicifolia* (Asteraceae). Phytotherapy Research, 10:694 - 696.

Patitucci, M. L., V. F. Veiga Jr., A. C. Pinto, M. G. B. Zoghbi, J. R. A. Silva. 1995. Utilização de cromatografia gasosa de alta resolução na detecção de classe de terpenos em extratos brutos vegetais. Química Nova, 18: 262 – 266.

Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. Evolution, 43: 223 – 225.

Rudloff, E.V., M. S. Lapp. 1992. Chemosystematic studies in the genus *Pinus*. VII. The leaf oil terpene composition of ponderosa pine, *Pinus ponderosa*. Canadian Journal of Botany, 70: 374 – 378.

Sakamoto, H. T., D. Flausino, E. E. Castellano, C. B. W. Satrk, P. J. Gates, N. P. Lopes. 2003. Sesquiterpene lactones from *Lychnophora ericoides*. Journal of Natural Products, 66: 693 – 695.

Sartori, F. T., A. C. Barrachi, C. Sacilotto, J. L. C. Lopes, N. P. Lopes, W. Viechnewski. 2002. Phytochemical study of *Lychnophora markgravii* (Asteraceae), Biochemical Systematics and Ecology. 30: 609 – 612.

Seaman, F., Bohlmann, F., Zdero, C., Mabry, T. J. 1990. Diterpenes in flowering plants; Compositae (Asteraceae). Heidelberg. Berlin.

Semir, J. 1991. Revisão Taxonômica de *Lychnophora* Mart. (Vernonieae: Compositae). Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

Skoula, M., P. Gotsiou, P. Naxakis G., C. B. Johnson. 1999. A chemosystematic investigation of the mono- and sesquiterpenoids in the genus *Origanum*. Phytochemistry, 52: 649 – 657.

Swofford, D. L., PAUP*. Phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods). Sinauer Associates, Sunderland, MA.

Takeara, R., S. Albuquerque, N. P. Lopes, J. L. C. Lopes. 2003. Trypanocidal activity of *Lychnophora staavioides* Mart. (Vernonieae, Asteraceae). Phytomedicine, 10: 490 – 493.

Theis, N., M. Lerdau. 2003. The evolution of function in plant secondary metabolites. International Journal of Plant Science, 164: S93 – S102.

Trigo, J. R., I. R. Leal, N. I. Matzenbacher, T. M. Lewinsohn. 2003. Chemotaxonomic value of pyrrolidine alkaloids in southern Brazil *Senecio* (Senecioneae: Asteraceae). Biochemical Systematic Ecology, 31: 1011 – 1022.

Turner, B. L. 1970. Molecular approaches to populational problems at the infraspecific level. Chapter 10. Em: Phytochemical Phylogeny Proceedings (ed. J. B. Harbone), pp. 187 – 204. Academic Press Inc. London.

van den Dool, H., P. D. Kratz. 1963. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. Journal of Chromatography, 11: 463 – 471.

Vourc'h, G., J. Russell, J. L. Martin. 2002. Linking deer browsing and terpene production among genetic identities in *Chamaecyparis nootkatensis* and *Thuja plicata* (Crupeaceae). The Journal of Heredity, 93: 370 – 376.

Zar, J.H. 1999. Biostatistical analysis. Prentice Hall, New Jersey.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

- *Lychnophora granmogolense*, a espécie com distribuição geográfica mais ampla, não apresentou os maiores níveis de diversidade genética e química, contrariando a suposição de que a quantidade de variabilidade genética em uma espécie está diretamente relacionada à sua distribuição geográfica.
- *Lychnopora ramosissima*, uma das espécies analisadas com distribuição geográfica restrita, apresentou a maior diversidade de compostos químicos.
- Na análise química, não foi possível estabelecer uma relação entre a diversidade de compostos e a amplitude de distribuição geográfica, já que espécies com amplitudes de distribuição diferentes (*L. granmogolense*, *L. rupestris* e *L. nanuzae*) apresentaram níveis de diversidade semelhantes e inferiores ao observado em *L. ramosissima*.
- Os padrões de variabilidade genética são melhor compreendidos se características ecológicas e da história evolutiva das espécies são analisadas como possíveis fatores relacionados a esses padrões. Entre essas características podemos citar: a duração do ciclo de vida das plantas; a possível formação de bancos de sementes; a ocorrência de gargalos genéticos em algumas populações e a ação da seleção natural.
- A menor diversidade de terpenos em *Lychnophora granmogolense*, *L. rupestris* e *L. nanuzae*, não pode ser explicada apenas pela ocorrência de gargalos populacionais. A ocorrência de um ancestral comum mais recente entre elas, com uma diversidade de compostos terpênicos menor do que a observada em *L. ramosissima* é a hipótese plausível para a compreensão desses resultados.
- Além do fluxo gênico, a ação de forças seletivas locais pode ser levantada como plausível para a compreensão da alta diferenciação genética encontrada entre

populações muito próximas geograficamente de *L. rupestris* e *L. ramosissima*. A origem dessas populações através de diferentes eventos de colonização é uma explicação alternativa para o padrão encontrado.

- Os coeficientes de distância genética são muito pequenos, concordando com a caracterização das espécies como um complexo.
- A composição química e isozímica de *Lychnophora ramosissima* confirma a sua maior diferenciação em relação às outras espécies do complexo, já evidenciada por Semir (1991) através de análises morfológicas.
- Alguns dos resultados aqui apresentados, tanto pela análise dos locos isozímicos quanto pela análise dos compostos terpênicos, corroboram a hipótese de Semir (1991) de que a origem do gênero está em Minas Gerais e que as localidades da Bahia, provavelmente foram ocupadas após eventos de dispersão. No entanto, a origem ancestral de *Lychnophora granmogolense*, também proposta por esse autor, não pode ser apoiada pelos resultados obtidos.