

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

ESTUDO CITOTAXONÔMICO DE ESPÉCIES DO GÊNERO
***LYCHNOPHORA* MART.**
(ASTERACEAE: VERNONIEAE: LYCHNOPHORINAE)

MARIANA ESTEVES MANSANARES

ORIENTADORA: PROF^a. DR^a. ELIANA REGINA FORNI MARTINS

Tese de doutorado apresentada ao Instituto de Biologia, da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal.

Campinas
2004

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

M817e

Mansanares, Mariana Esteves

Estudo citotaxonômico de espécies do gênero *Lychnophora* Mart.
(Asteraceae: Vernonieae: Lychnophorinae) / Mariana Esteves Mansanares.
-- Campinas, SP: [s.n.], 2004.

Orientadora: Eliana Regina Forni Martins
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia.

1. Asteraceae. 2. Cromossomo. 3. Citotaxonomia das plantas.
I. Martins, Eliana Regina Forni. II. Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia. III. Título.

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ângela Maria Vitorino e Luiz Esteves Mansanares, à minha avó Lourdes de Abreu Vitorino, e às minhas irmãs Giuliana e Ísis.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a. Dr^a. Eliana Regina Forni Martins, por todo o ensinamento, paciência, pelas oportunidades oferecidas e principalmente por ter acreditado no meu trabalho, além de nos presentear por ser esta pessoa tão doce e compreensiva.

À FAPESP pela bolsa de estudos concedida para realização deste estudo.

Ao CNPq por parte da bolsa de estudos e diversas colaborações junto ao Laboratório de Biosistemática.

Ao Departamento de Botânica pela estrutura que me permitiu aprender e crescer profissionalmente.

Ao Laboratório de Biosistemática do Departamento de Botânica/IB/UNICAMP pela estrutura oferecida para a realização deste trabalho.

Ao Laboratório de Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas (LABRE), do departamento de Biologia Geral da Universidade Estadual de Londrina e ao Prof. Dr. André Luís Laforga Vanzela pela estrutura oferecida para realização de parte deste estudo.

Ao Laboratório de Citogenética do Departamento de Biologia Celular do Instituto de Biologia/UNICAMP e à Prof^a. Dra. Shirlei Maria Recco Pimentel pela estrutura oferecida para realização de parte deste estudo.

Aos professores do Departamento de Botânica da UNICAMP por todo ensinamento e paciência que tiveram comigo, além dos valiosos conselhos.

Ao Prof. Dr. João Semir pela intensa participação no trabalho, tanto através de discussões, correções e sugestões, como também por me ensinar muito sobre a taxonomia do grupo.

Aos membros da pré-banca pela análise prévia da tese, Julie H. A. Dutilh, André L. L. Vanzela e João Semir pelas correções e sugestões ao trabalho.

Aos funcionários do Departamento de Botânica/IB/UNICAMP pelas várias colaborações.

Ao IBAMA e ao IEF- MG pelas autorizações de coletas e trabalho nos diversos Parques e Áreas de Proteção Ambiental.

Aos colegas do curso de Pós-graduação em Biologia Vegetal pela convivência.

Aos amigos Fábio Vitta, Leonardo Dias Meireles, Cristiano Franco Verola, Maria Tereza Almeida, Júlia Yamaguish Costa pelas incansáveis horas de estrada para a coleta dos materiais estudados.

Ao amigo Itayguara Ribeiro da Costa por toda paciência, amizade e ajudas infindáveis em todos os momentos.

À amiga Marta Scott por tanto carinho, incentivo e pelas infinitas horas de hibridações *in situ*.

Às amigas Lidyanne Aona, Vanessa Mancuso, Carolina Scatolin e Ana Paula Gonçalves ouvir tanto nas horas boas como nos desabafos.

Ao meu companheiro Luís Pedro da Costa Pinto de Figueiredo e Almeida pela paciência, carinho e respeito, e por entender os longos dias de ausência porque eu estava no campo ou em Londrina por causa do trabalho.

Aos amigos Daian Alberto Pamplona, Carolina de Medeiros Rimkus, Luís Guilherme Misorelli, por sempre estarem presentes, e, acima de tudo pela amizade.

Ao meu amigo e acupunturista Ephraim Medeiros por tudo.

Aos membros da banca examinadora, desde já pela disposição em ler este estudo e pelas críticas que contribuirão muito nas publicações.

***“Triste não é mudar de idéias. Triste
é não ter idéias para mudar”.***

(Barão de Itararé)

SUMÁRIO

Capítulo 01- Introdução Geral e Objetivos.....	01
1.1 Taxonomia da subtribo Lychnophorinae.....	02
1.2 Citotaxonomia.....	12
1.3 Estudos cromossômicos na tribo Vernonieae.....	18
1.4 Objetivos.....	22
1.5 Referências bibliográficas.....	24
Capítulo 02 – Citotaxonomia de espécies do gênero <i>Lychnophora</i> Mart. (Asteraceae: Vernonieae: Lychnophorinae).....	32
2.1 Introdução.....	33
2.2 Material e Métodos.....	37
2.3 Resultados.....	40
2.4 Discussão.....	42
2.5 Referências bibliográficas.....	57
Capítulo 03 – Citotaxonomia de espécies das seções <i>Lychnophoriopsis</i> e <i>Sphaeranthus</i> do gênero <i>Lychnophora</i> Mart. (Asteraceae: Vernonieae: Lychnophorinae).....	61
3.1 Introdução.....	62
3.2 Material e Métodos.....	66
3.3 Resultados e Discussão.....	68
3.4 Referências bibliográficas.....	78
Capítulo 04 - Citotaxonomia de espécies dos gêneros <i>Proteopsis</i> Mart. & Zucc. ex Schultz-Bip., <i>Heterocoma</i> DC. e <i>Minasia</i> H.Rob. (Asteraceae: Vernonieae:Lychnophorinae).....	81
4.1 Introdução.....	82
4.2 Material e Métodos.....	85
4.3 Resultados e Discussão.....	86
4.4- Referências bibliográficas.....	93

Capítulo 05 - Microsporogênese em espécies de *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernonieae: Lychnophorinae).....96

5.1	Introdução.....	97
5.2	Material e Métodos.....	100
5.3	Resultados.....	101
5.4	Discussão.....	103
5.5	Referências bibliográficas.....	116

Capítulo 06 – Distribuição de rDNA 45S (FISH) em espécies de dois gêneros da subtribo Lychnophorinae: *Lychnophora* Mart. e *Minasia* H. Rob. (Asteraceae: Vernonieae: Lychnophorinae).....118

6.1	Introdução.....	119
6.2	Material e Métodos.....	121
6.3	Resultados.....	122
6.4	Discussão.....	124
6.5	Referências bibliográficas.....	131

Considerações Finais.....	133
Considerações Finais.....	134

Lista de Figuras

Capítulo 01- Introdução Geral e Objetivos

Figura 1.1- Representantes das seis seções do gênero <i>Lychnophora</i>	22
Figura 1.2- Gêneros da subtribo Lychnophorinae analisados	23

Capítulo 02 – Citotaxonomia de espécies do gênero *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Figura 2.1-Mapa com as regiões de coleta das espécies de <i>Lychnophora</i>	52
Figura 2.2- Ideogramas das espécies de <i>Lychnophora</i> analisadas.....	53
Figura 2.3- Dispersão cariotípica das espécies de <i>Lychnophora</i>	53
Figura 2.4- Metáfases em espécies de <i>Lychnophora</i>	54
Figura 2.5- Metáfases em espécies de <i>Lychnophora</i>	55
Figura 2.6- Metáfases em espécies de <i>Lychnophora</i>	56

Capítulo 03 – Citotaxonomia de espécies das seções *Lychnophoriopsis* e *Sphaeranthus* do gênero *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Figura 3.1- Ideogramas das espécies da seção <i>Sphaeranthus</i>	75
Figura 3.2- Dispersão cariotípica das espécies da seção <i>Sphaeranthus</i>	75
Figura 3.3- Metáfases em espécies de <i>Lychnophora</i>	76
Figura 3.4- Metáfases em espécies de <i>Lychnophora</i>	77

Capítulo 04 - Citotaxonomia de espécies dos gêneros *Proteopsis* Mart. e *Zucc. ex Schultz-Bip.*, *Heterocoma* DC. E *Minasia* H.Rob. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Figura 4.1- Espécies de <i>Proteopsis</i> , <i>Heterocoma</i> e <i>Minasia</i>	91
Figura 4.2- Metáfases em espécies de <i>Proteopsis</i> , <i>Heterocoma</i> e <i>Minasia</i>	92

Capítulo 05 - Microsporogênese em espécies de *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Figura 5.1- Microsporogênese em espécies de <i>Lychnophora</i>	113
Figura 5.2- Microsporogênese em espécies de <i>Lychnophora</i>	114
Figura 5.3- Microsporogênese em espécies de <i>Lychnophora</i>	115

Capítulo 06 – Distribuição de DNAr 45S (FISH) em espécies de dois gêneros da subtribo Lychnophorinae: *Lychnophora* Mart. e *Minasia* H. Rob. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Figura 6.1- FISH com sonda 45S em espécies de <i>Lychnophora</i>	129
Figura 6.2- FISH com sonda 45S espécies de <i>Lychnophora</i> e <i>Minasia</i>	130

LISTA DE TABELAS

Capítulo 02 – Citotaxonomia de espécies do gênero *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Tabela 2.1- Espécies e populações de <i>Lychnophora</i> analisadas com respectivas populações e materiais-testemunho.....	50
Tabela 2.2- Números cromossômicos para espécies da subtribo Lychnophorinae.....	50
Tabela 2.3- Números cromossômicos, fórmulas cariotípicas, variação do tamanho cromossômico e índices de assimetria intra e intercromossômicos.....	52

Capítulo 03 – Citotaxonomia de espécies das seções *Lychnophoriopsis* e *Sphaeranthus* do gênero *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Tabela 3.1- Espécies e populações analisadas com respectivas populações e materiais-testemunho.....	73
Tabela 3.2- Números cromossômicos para espécies das seções <i>Lychnophoriopsis</i> e <i>Sphaeranthus</i> analisadas.....	73
Tabela 3.3- Números cromossômicos, fórmulas cariotípicas, variação do tamanho cromossômico e índices de assimetria intra e intercromossômicos.....	74

Capítulo 04 - Citotaxonomia de espécies dos gêneros *Proteopsis* Mart.e Zucc. ex Schultz-Bip., *Heterocoma* DC. E *Minasia* H.Rob. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Tabela 4.1 Espécies e populações de <i>Proteopsis</i> , <i>Heterocoma</i> e <i>Minasia</i> analisadas, com respectivas populações e materiais-testemunho.....	90
Tabela 4.2- Números cromossômicos para espécies de <i>Proteopsis</i> , <i>Heterocoma</i> e <i>Minasia</i> analisadas.....	90

Capítulo 05 - Microsporogênese em espécies de *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Tabela 5.1- Espécies e populações analisadas com respectivas populações e materiais-testemunho e números cromossômicos.....	111
Tabela 5.2-Normalidade de tétrades em espécies de <i>Lychnophora</i> analisadas..	111
Tabela 5.3-Viabilidade dos grãos-de-pólen em espécies de <i>Lychnophora</i> analisadas.....	112

Capítulo 06 – Distribuição de DNAr 45S (FISH) em espécies de dois gêneros da subtribo Lychnophorinae: *Lychnophora* Mart. e *Minasia* H. Rob. (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae)

Tabela 6.1- Números cromossômicos, números de sítios marcadas com a sonda de DNAr 45S (FISH) em espécies de <i>Lychnophora</i> e <i>Minasia</i>	128
---	-----

Resumo

A subtribo Lychnophorinae abrange nove gêneros, encontrados nos campos rupestres nos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás, tendo, a maioria das espécies, alto grau de endemismo. Um desses gêneros é *Lychnophora*, o qual apresenta discordância entre diferentes autores quanto ao seu limite e número de espécies (desde 68 a apenas 11). Essa diferença de interpretação baseia-se na sinonimização e na transferência de diversas espécies para gêneros próximos, como *Lychnophoriopsis* e *Paralychnophora*. Além disso, há dificuldades na delimitação de outros gêneros da subtribo Lychnophorinae, como *Minasia*, *Proteopsis* e *Heterocoma*. Foi iniciado o estudo citotaxonômico de espécies de *Lychnophora* e de outros gêneros da subtribo, objetivando a análise de características cromossômicas que pudessem ser úteis ao entendimento taxonômico do grupo como um todo. Foram determinados números cromossômicos de cerca de 49 espécies, constatando-se $2n=34$, 36 ou 38. Esses números cromossômicos distribuem-se entre espécies de diversas seções de *Lychnophora* e também nos gêneros próximos, de forma que não podem ser usados como caracteres distintivos nos níveis intergenéricos e infragenéricos. Entretanto, números cromossômicos são muito importantes na diferenciação de algumas espécies de *Lychnophora*, cujos limites taxonômicos têm sido questionados. Por exemplo, no taxon sinonimizado como *L. ericoides*, diferentes números cromossômicos foram encontrados, sugerindo a validade das antigas espécies: $2n=34$ para *L. ericoides* e *L. pinaster*, $2n=36$ para *L. gardneri* e $2n=38$ para *L. pseudovillosissima*. Outros caracteres cariotípicos foram analisados em sete espécies da subtribo, como tamanho e morfologia dos cromossomos, evidenciando uma relativa constância. Os cromossomos são pequenos, medindo entre 1,10 e 2,58 μ m, e são predominantemente metacêntricos, embora alguns submetacêntricos também tenham sido observados em algumas espécies. Estudos envolvendo a hibridação *in situ*, com a sonda de rDNA 45S, têm demonstrado grande diversidade nos resultados, com variação de dois a dez sítios de hibridação entre espécies. Assim, a comparação desses marcadores cromossômicos poderá trazer novos subsídios para a taxonomia de *Lychnophora* e de gêneros de Lychnophorinae. Adicionalmente, a análise da microsporogênese revelou a existência de algumas anormalidades meióticas em algumas espécies.

Abstract

The subtribe Lychnophorinae is composed by 9 genera, most of them endemic to the Brazilian "campos rupestres" of Minas Gerais, Bahia and Goiás, with high degree of endemism in many species. In one genus, *Lychnophora*, there is disagreement between different authors regarding the species limit and number (from 11 to 68). This interpretation difference is based in sinonimization and in the transference of several species to closely related genera, like *Lychnophoriopsis* and *Paralychnophora*. Besides, there are difficulties in the delimitation of other genera of Lychnophorinae, like *Minasia*, *Proteopsis* and *Heterocoma*. The cytotaxonomic study of species of *Lychnophora* and of other genera of the subtribe was made, aiming out at increasing the knowledge of chromosome characteristics that could be useful to the understanding of the taxonomy of the group as a whole. Chromosome numbers of about 49 species were determined, with $2n=34$, 36 or 38. These chromosome numbers were distributed among species of several sections of *Lychnophora* and also closely related genera, so that they can't be used as distinctive characters in the intergeneric and infrageneric levels below section level. However, chromosome numbers were very important for the differentiation of some species of *Lychnophora*, with taxonomic limits have been questioned. For example, in *L. ericoides*, in which some species were sinonimized, different chromosome numbers were found, suggesting the validity of the previous species: $2n=34$ to *L. ericoides* and *L. pinaster*, $2n=36$ to *L. gardneri* and $2n=38$ to *L. pseudovillosissima*. Other karyotype characters were analyzed in seven species of the subtribe, like chromosomes size and morphology, showing constancy of these characters. The chromosomes are small, with 1,0 to 2,58 μm , and they are mainly metacentric, however some submetacentrics were observed. Studies involving DNA *in situ* hybridization, with 45S rDNA, have demonstrated great diversity between species, with variation from two to ten hybridization sites. Thus, comparison of these chromosome molecular markers can bring new subsidies for the taxonomy of *Lychnophora* and Lychnophorinae. Microsporogenesis analysis revealed the existence of meiotic abnormalities in some species.

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Autores: Mansanares, M.E.; Forni-Martins, E.R. e Semir, J.

1. Introdução

1.1. Taxonomia da subtribo Lychnophorinae

Asteraceae Dumortier, pertence à ordem Asterales e é a maior família em número de espécies entre as eudicotiledôneas (CHASE *et al.* 1993; JUDD *et al.* 1999). Segundo BREMER (1994), esta família compreende 1.535 gêneros e cerca de 23.000 espécies, amplamente distribuídas nas regiões tropicais, subtropicais e temperadas. Seus representantes ocupam com sucesso os mais diversos habitats, entretanto são mais abundantes nas regiões semi-áridas dos trópicos e subtropicais (CRONQUIST 1981, 1988; BREMER 1994). No Brasil, são registrados para a família cerca de 180 gêneros (BARROSO 1986). Entretanto, se considerarmos os desmembramentos de *Eupatorium* L. e *Vernonia* Schreb. em vários outros gêneros efetuados por KING e ROBINSON (1969, 1970, 1980, 1987) e ROBINSON (1999a), este número pode ser aumentado. A ocorrência de muitas Asteraceae filogeneticamente consideradas basais na América do Sul, como os representantes da subfamília Barnadesioideae, sugere que a origem da família tenha ocorrido neste continente. A história da área do Pacífico pode ter influenciado a distribuição das Asteraceae, mas a separação dos continentes, a Gondwana, provavelmente ocorreu muito antes deste evento geológico para afetar a distribuição dessa família (BREMER 1994).

Tradicionalmente a família Asteraceae era subdividida em duas subfamílias, como no sistema clássico de BENTHAM (1873a, b) e HOFFMANN (1894). Estudos cladísticos como os de BREMER e JANSEN (1992), consideraram que a família está subdividida em três subfamílias: Barnadesioideae, Cichorioideae e Asteroideae. Segundo BREMER

(1994), na família são reconhecidas dezessete tribos: Barnadesieae na subfamília Barnadesioideae, Mutisieae, Cardueae, Lactuceae, Vernonieae, Liabeae e Arctoteae em Cichorioideae, e Inuleae, Plucheeae, Gnaphalieae, Calendulaceae, Astereae, Anthemideae, Senecioneae, Helenieae, Heliantheae e Eupatorieae em Asteroideae. Recentemente, outro estudo envolvendo dados moleculares foi realizado por PANERO e FUNK (2002), que sugeriram para a família onze subfamílias e trinta e cinco tribos; entretanto esta ainda é uma discussão bastante controversa e pouco aceita entre os asterólogos.

A tribo Vernonieae Cass. foi estabelecida por CASSINI (1817), sendo revista globalmente por LESSING (1829, 1831a, b), DE CANDOLLE (1836), BENTHAM (1873a, b) e HOFFMANN (1894). Vernonieae é diferenciada das outras tribos de Asteraceae pelo seu capítulo homógamo, de flores hermafroditas, corolas tubulosas e os ramos do estilete longos e agudos. Dentre as tribos da família Asteraceae, Vernonieae provavelmente é uma das tribos menos estudadas. Possui distribuição pantropical, apresentando muitas vezes espécies com um endemismo pronunciado para uma dada localidade (JONES 1977; BARROSO 1986; SEMIR 1991; BREMER 1994). No Brasil, a tribo Vernonieae (*sensu* BENTHAM) foi revista por BAKER (1873) e está representada por cerca de 40 gêneros e 450 espécies (JONES 1977; BARROSO 1986). Em 1977, JONES relacionou cerca de 70 gêneros e 1.456 espécies na tribo Vernonieae, sendo que somente o gênero *Vernonia* Schreb. contribuiria com cerca de 1.000 espécies, formando o núcleo central da tribo. Os outros gêneros são oligotípicos e muitas vezes monotípicos (SEMIR 1991).

A tribo Vernonieae, desde seu estabelecimento, permanece com poucas modificações na sua circunscrição (BAKER 1873; BENTHAM 1873a, b; HOFFMANN 1894; HEYWOOD *et al.* 1977). Apesar de ser considerada morfológicamente monofilética e bem

estabelecida, as classificações propostas para a tribo Vernonieae não definem claramente os limites genéricos, que são tênues, imprecisos, tornando difícil a separação de suas espécies (BREMER 1994). Assim, o número de gêneros, com suas respectivas espécies, gera dúvida e posições conflitantes. Mais recentemente, ROBINSON (1999a), após vários estudos, considerou que os tradicionais gêneros que compunham esta tribo até então deveriam ser agrupados ou segregados em outros, sendo a sua proposição nem sempre bem aceita. Vários estudos com representantes da tribo, principalmente com o gênero *Vernonia*, efetuados por ROBINSON (1987a, b, c, 1988a, b, 1989, 1990a, b, 1992a), culminaram com o desmembramento deste em 10 gêneros (BREMER 1994; ROBINSON 1999a).

ROBINSON (1989) subdividiu a tribo Vernonieae em várias subtribos e, mais recentemente, ROBINSON (1999a) publicou sua classificação para os representantes americanos desse taxon, onde distribui os gêneros em 10 subtribos: Leiboldiinae H. Rob., Vernoniinae Less., Piptocarphinae H. Rob., Chrestinae H. Rob., Centratherinae H. Rob., Lychnophorinae Benth., Sipolisiinae H. Rob., Elephantopodinae Less., Rolandrinae Less. e Trichospirinae Less. Logo a seguir, ROBINSON (1999b) propôs mais duas novas subtribos para Vernonieae: Stokesiinae e Pacouruninae. Dentre estas subtribos, ROBINSON (1999a) caracterizou as Lychnophorinae principalmente pelas inflorescências em glomérulos (sincefalia) e cipselas com *pappus* normalmente espiralado decíduo ou subpersistente. Em relação ao número cromossômico, considerou para esta subtribo $n=15, 17$ e 18 (ROBINSON 1999a).

Como originalmente descrita por BENTHAM (1873a, b), a subtribo Lychnophorinae consta de taxa com capítulos com uma ou poucas flores, densamente agregados em glomérulos e com *pappus* simples bisseriados e paleáceos.

Existem diferentes opiniões sobre os limites e a circunscrição de Lychnophorinae, sendo o conceito subtribal melhor definido por ROBINSON (1980, 1996a, b, 1999a). Este autor considerou os seguintes gêneros na subtribo: *Chronopappus*, *Eremanthus* (*Sphaeophora*, *Paralychnophora*, *Vanillosmopsis*), *Lychnophora* (*Haplostephium*), *Lychnophoriopsis* (*Episcothamnus*), *Prestelia*, *Anteremanthus*, *Minasia*, *Piptolepis* e *Proteopsis* (ROBINSON 1999a). Anteriormente, SEMIR (1991), havia proposto a sinonimização de *Chronopappus*, *Lychnophoriopsis* e *Paralychnophora* sob *Lychnophora*. Entretanto, ROBINSON (1992b, 1996b, 1999a) reconheceu *Lychnophoriopsis* como um gênero válido e incluiu *Paralychnophora* como sinônimo do gênero *Eremanthus*. As considerações de ROBINSON e BRETTELL (1973) e ROBINSON (1996a) quanto aos gêneros que compõem a subtribo Lychnophorinae foram aceitas na maioria das vezes pelos diversos autores. BREMER (1994) considerou *Paralychnophora* como um grupo distinto de *Eremanthus*, e por sua vez, HIND (1995, 2000a, b) considerou *Eremanthus*, *Paralychnophora* e *Lychnophora* como três gêneros distintos.

O gênero *Lychnophora* foi descrito pela primeira vez por MARTIUS (1822), que considerou, no seu estabelecimento, como características diferenciais, a presença de inflorescências em glomérulo e cipselas com os *pappus* caducos. Posteriormente, o gênero foi tratado sem revisões taxonômicas formais, como as de LESSING (1829, 1831a, b) e DE CANDOLLE (1836). Em seguida, SCHULTZ-BIPONTINUS (1863) e BAKER (1873) realizaram as primeiras revisões do gênero, onde relacionaram as espécies já descritas por MARTIUS (1822) e outras que tinham sido descritas após este estabelecimento. Os trabalhos seguintes a respeito do gênero apenas descreveram novas espécies, tendo sido realizados por GLAZIOU (1909), BEAUVERD (1913), MATTFELD

(1923), KRASCHENINNIKOV (1927), BARROSO (1956), ROBINSON (1980a, b, 1981, 1983a, b, 1992) e HIND (1995, 2000b).

COILE e JONES (1981) revisaram *Lychnophora*, relacionando todas as espécies até então descritas desde seu estabelecimento. Consideraram o gênero com apenas 11 espécies perfeitamente estabelecidas, sinonimizaram algumas espécies e deslocaram alguns taxa para outros gêneros da tribo Vernonieae. Posteriormente, SEMIR (1991) realizou uma outra revisão de *Lychnophora*, com resultados na maioria das vezes discrepantes das posições taxonômicas de COILE e JONES (1981), considerando então 68 espécies. SEMIR (1991) não aceitou a maioria das sinonimizações feitas por COILE e JONES (1981) e ampliou a circunscrição, englobando outros gêneros sob *Lychnophora*. SEMIR (1991) reconheceu um amplo conceito de *Lychnophora*, incluindo *Chronopappus*, *Lychnophoriopsis*, *Episcothamnus* e *Paralychnophora* como sinônimos. ROBINSON (1999a), em sua sinopse para espécies americanas da tribo Vernonieae, considerou para o gênero *Lychnophora* 34 espécies, aceitando algumas espécies sugeridas por SEMIR (1991), e considerando outras como sinônimos. Recentemente, HIND (2000b) propôs ainda uma nova espécie para o gênero, *Lychnophora sericea*.

Segundo SEMIR (1991), o gênero *Lychnophora* está dividido em 6 seções: *Lychnophora*, *Lychnophoriopsis*, *Lychnophorioides*, *Lychnocephaliopsis*, *Sphaeranthus* e *Chronopappus* (Figura 1.1) O autor separou tentativamente estas seções baseando-se em diferenças referentes às inflorescências e presença ou ausência de bainhas ou pecíolos nestes taxa.

O gênero *Lychnophoriopsis* foi descrito por SCHULTZ-BIPONTINUS (1863), considerando para este estabelecimento uma única espécie, *Lychnophoriopsis heterotheca*, tendo como característica diferencial genérica a presença de cipselas

dimorfas. No mesmo trabalho, descreveram *Lychnophora candelabrum* a partir de um material estéril, espécie que posteriormente foi excluída de *Lychnophora* por BAKER (1873) e COILE e JONES (1981), que consideraram esta como sinônimo de *L. heterotheca*. ROBINSON (1981) combinou *Lychnophora candelabrum* em seu novo gênero *Episcothamnus*, caracterizado por suas cipselas homomórficas. COILE e JONES (1981) sinonimizaram o gênero *Lychnophoriopsis* sob *Lychnophora*. Esta sinonimização também foi aceita por SEMIR (1991), que manteve *Lychnophoriopsis* como uma seção de *Lychnophora*.

Segundo ROBINSON (1992a), as relações entre *Lychnophoriopsis* e *Lychnophora* são bem estreitas, pois estes dois gêneros apresentam o mesmo tipo de cipsela, apenas diferenciados pelo carpopódio de *Lychnophora*, que apresenta células alongadas. ROBINSON (1992a) sugere que estes dois gêneros podem ser combinados, entretanto alguns caracteres dos capítulos, como por exemplo, inflorescências mais alongadas e ausência de capítulos secundários, podem ser caracteres que separam suas espécies. Esta última diferença foi enfatizada por LEITÃO FILHO e SEMIR (1979) quando estes autores removeram *L. damazioi* de *Lychnophora*, transferindo-o para *Vernonia* e recentemente considerada sob *Lychnophoriopsis* por ROBINSON (1992a).

O gênero *Paralychnophora* foi proposto por MACLEISH (1984) como um nome novo para o gênero monotípico *Sphaeophora* estabelecido por SCHULTZ-BIPONTINUS (1863), com a espécie *S. bicolor*. Posteriormente, este gênero foi considerado por BAKER (1873) como uma seção dentro de *Eremanthus* e BARROSO (1956) descreveu uma outra espécie para esta seção *Sphaeranthus*, denominada *Eremanthus reflexo-auriculatus*. Assim, na sua revisão de *Eremanthus*, MACLEISH (1984, 1987), separou e considerou as duas espécies da seção *Sphaeranthus* de *Eremanthus* (ROBINSON 1996b) como

Paralychnophora bicolor e *P. reflexoauriculata* (MACLEISH 1984, 1987). A autora considerou *Lychnophora* e *Paralychnophora* semelhantes nas ramificações candelabriformes, folhas coriáceas, indumento denso e presença de glomérulos compostos solitários.

MACLEISH (1984) distinguiu *Paralychnophora* em relação a *Lychnophora* pelas características dos elementos da série interna do *pappus* das cipselas: pouco numerosos, curtos, achatados, espiralados e decíduos em *Lychnophora*; em *Paralychnophora* são numerosos, filiformes, persistentes e sem apresentar espiralização proeminente. Segundo SEMIR (1991), estas características, em conjunto, seriam boas apenas para separar a seção por ele proposta, como *Lychnophora* sect. *Sphaeranthus*, não sendo suficientes para embasar uma separação em gêneros distintos, *Lychnophora* e *Paralychnophora*, como sugerido por MACLEISH (1984).

Na sinonimização de *Paralychnophora* sob *Eremanthus*, ROBINSON (1996b) descreveu mais duas espécies para este gênero: *Eremanthus santosii* e *E. harleyi*. Esta sinonimização não foi aceita por HIND (2000a), que considerou *Paralychnophora* como válido e descreveu e combinou as duas espécies descritas por ROBINSON (1996b) como: *Paralychnophora santosii* e *P. harleyi*, além de descrever mais duas espécies novas. Assim, HIND (2000a) considerou o gênero *Paralychnophora* com seis espécies.

SEGUNDO HIND (2000a), o gênero *Paralychnophora* também pode ser distinguido de *Lychnophora* pela presença de inflorescências freqüentemente axilares e grandes, pelos ápices com tufos de tricomas nos lobos da corola, cipselas angulares glabras e *pappus* bisseriado persistente com uma série interna filiforme.

O gênero *Minasia* (Figura 1.2) foi descrito por ROBINSON (1992a), que considerou para este três espécies. Destas, duas eram previamente conhecidas e, segundo este

autor, foram erroneamente colocadas no gênero *Vernonia* Schreb., sob os epítetos *Vernonia alpestris* e *V. scapigera* por BAKER (1873). Em 1979, JONES não incluiu estas duas espécies na sua revisão das espécies de *Vernonia* no Novo Mundo, e também não designou outra posição taxonômica para estas espécies. Posteriormente, ROBINSON (1995, 1996a) e SEMIR e JESUS (2004) descreveram outras três espécies para o gênero *Minasia*. No estabelecimento do gênero, ROBINSON (1992a) usou como características diferenciais em relação ao gênero *Vernonia*, a presença de caule encurtado, com a base das folhas alargadas circundando o caule, formando rosetas.

O gênero *Proteopsis* (Figura 1.2) foi descrito pela primeira vez por SHULTZ-BIPONTINUS (1863) a partir de indicações em manuscrito de herbário por Martius e Zuccarini, com as espécies *Proteopsis argentea* e *P. sellowii*. Em 1981, ROBINSON discutiu ser esta última a mesma entidade que *Heterocoma albida*, proposta esta também aceita por SEMIR (1991). Embora SCHULTZ-BIPONTINUS (1863) não tenha observado os receptáculos de *Proteopsis argentea*, foi constatado por SEMIR (1991) que estes eram perfeitamente alveolados, caráter muitas vezes observado no gênero *Lychnophora*. Entretanto, os capítulos com grande número de flores, hábito constituído por grandes rosetas, inflorescência escaposa, formada por capítulos grandes e pedunculados e envolvidos por folhas que compõem um involúcro, separam *Proteopsis* de *Lychnophora* (SEMIR 1991).

PHILIPSON (1938) descreveu mais duas espécies, *Proteopsis ekmaniana* e *P. insculpta*. Segundo SEMIR (1991), a primeira corresponde ao gênero *Alcantara* Glaziou. Em 1981, ROBINSON concluiu que *Proteopsis ekmaniana* e *Alcantara petroana* representavam a mesma entidade, e combinou a primeira em *Alcantara petroana*.

ROBINSON (1981) também discutiu a semelhança entre *Proteopsis argentea* e *P. insculpita*, espécie esta tratada por SEMIR (1991) como *Heterocoma albida*.

O gênero *Heterocoma* foi descrito por DE CANDOLLE (1810) com apenas uma espécie, *H. albida* (Figura 1.2). Este gênero tem como caracteres distintivos capítulos grandes, multifloros, às vezes com mais de cem flores, receptáculos paleáceos, brácteas involucrais pungentes. Recentemente, este gênero foi combinado por ROBINSON (1999a) na subtribo Sipolisiinae. Este autor usou como características diferenciais para esta nova subtribo a presença de uma camada parcialmente carbonizada (deposição de fitomelano) na parede da cipsela, além de folhas pecioladas e face adaxial das folhas glabras. SEMIR (1991) considerou *Heterocoma* como um gênero da subtribo Lychnohorinae, com o que se concorda no presente estudo.

ROBINSON (1999a) considerou para o gênero *Proteopsis* apenas uma espécie, *P. argentea* e para *Heterocoma*, *H. albida*. Estes dois gêneros podem ser diferenciados pela presença de capítulos paleáceos em *Heterocoma*, além de diferenças relacionadas ao hábito e inflorescências.

Os gêneros da subtribo Lychnophorinae apresentam um grande número de endemismos, sendo a maioria de suas espécies encontradas nos chamados campos rupestres do Brasil, nos estados de Goiás, Bahia e, principalmente em Minas Gerais. Os campos rupestres são ambientes geralmente com topografia acidentada, clima e solo secos. As regiões montanhosas onde ocorrem os campos rupestres são descontínuas; as espécies são representadas por populações disjuntas, tornando difícil a interpretação do conceito de espécie (GIULIETTI e PIRANI 1988). Ainda segundo estes autores, com a formação de barreiras geográficas, surgem obstáculos para que ocorra o fluxo gênico entre estas populações. As condições ecológicas destes ambientes

possivelmente propiciam uma especiação intensa, podendo ser um dos fatores destes endemismos e dos isolamentos encontrados em gêneros e espécies que ocupam este habitat (GIULIETTI e PIRANI 1988; SEMIR 1991).

Segundo SEMIR (1991), algumas espécies de *Lychnophora* simpátricas parecem estar originando híbridos naturais, podendo indicar que o isolamento não tenha sido bem estabelecido ainda. Embora sem um estudo biosistemático comprobatório, SEMIR (1991) comentou a possibilidade de que as espécies endêmicas tenham sido formadas como uma consequência de hibridização, pela produção de alopoliplóides de segmento. Entretanto, não descartou a possibilidade destes eventuais híbridos serem diplóides, como sugerido por GRANT (1981) e BRIGGS e WALTERS (1997). Por outro lado, LEWIS (1972) discute a formação de espécies endêmicas sem hibridização, como produtos de especiação gradual. Especiação ecológica através do isolamento cada vez maior dos ecótipos destas espécies pode ter propiciado a formação de neoendêmicos (SEMIR 1991). Também poder-se-ia cogitar a hipótese da formação inicial de autopoliplóides, embora este seja um fenômeno raro na natureza (LEWIS 1972; BRIGGS e WALTERS 1997).

1.2. Citotaxonomia

A Citogenética é uma ciência que surgiu no início do século XX, decorrente da sobreposição de conhecimentos citológicos e genéticos em uma área comum. Desde então, a Citogenética expandiu-se muito, penetrando em vários outros campos da

Biologia, como a Taxonomia, a Bioquímica, a Medicina Clínica e o Melhoramento Animal e Vegetal. Atualmente, a Citogenética compreende todo e qualquer estudo relativo ao cromossomo isolado ou em conjunto, condensado ou distendido, tanto no que diz respeito à sua morfologia, organização, função e replicação, quanto à sua variação e evolução. Historicamente, a análise Citogenética tem tido um papel importante no estabelecimento das bases físicas da Genética.

A Citotaxonomia Vegetal associa a utilização de dados cromossômicos na taxonomia de determinados grupos de plantas, em diferentes níveis hierárquicos. Assim, utilizando técnicas inerentes à Citogenética, as características estruturais e numéricas dos cromossomos podem ser aplicadas à resolução de problemas taxonômicos (GUERRA 1988; STACE 1989, 2000). Os fundamentos básicos da Citotaxonomia e a sua aplicação taxonômica foram resumidos por STEBBINS (1971) num livro amplamente citado na literatura. O caráter taxonômico mais amplamente utilizado na Citotaxonomia é o número cromossômico, seguindo-se o detalhamento cariotípico mediante o uso de técnicas simples até outras mais refinadas, como diversos tipos de bandamento cromossômico e, mais recentemente, com técnicas moleculares (STACE 2000; SUMNER 2003).

As angiospermas apresentam um elevado grau de variação de números cromossômicos. O menor número cromossômico encontrado entre as angiospermas é $n=2$, em sete espécies: duas Poaceae, *Zingeria biebersteiniana* (Claus) Smirnov e *Colpodium versicolor* (Steven) Schmalh., duas Asteraceae, *Haplopappus gracilis* (Nutt.) A. Gray e *Brachycome dichromosomatica* C.R. Carter, uma Hyacinthaceae, *Ornithogalum tenuifolium* F. Delaroche (STACE 2000), além de uma Cyperaceae, *Rynchospora tenuis* (VANZELA *et al.* 1996). Os mais altos números cromossômicos

conhecidos entre as angiospermas estão por volta de $2n=640$ em *Sedum suaveolens* Kimanach (Crassulaceae) para as dicotiledôneas e de $2n=ca.596$ em *Voanioala gerardii* (Palmae) para as monocotiledôneas (BRIGGS e WALTERS 1997; STACE 2000).

No Brasil, os números cromossômicos mais altos estão próximos a 300, como acontece em *Eriotheca pubescens* (Mart. e Zucc.) Schott e Endl. (Bombacaceae) com $2n=ca.270$ (FORNI-MARTINS *et al.* 1995) e em duas espécies de Bromeliaceae, *Bromelia laciniosa* Mart. ex Schultz e *Orthophytum maracasense* L.B.Smith, ambas com $2n=150$ (COTIAS-DE-OLIVEIRA *et al.* 2000).

O número cromossômico é uma das principais evidências biosistemáticas utilizadas na taxonomia de plantas, auxiliando na verificação da integridade de uma espécie. Nestes casos, quando as espécies de um complexo taxonômico apresentam números cromossômicos diferentes, estes podem vir a ser um caráter que as separe, especialmente se a diferença cromossômica acompanhar as variações morfológicas (SOLBRIG 1977; GUERRA 1988; STACE 1989, 2000).

A morfologia cromossômica está relacionada ao tamanho relativo e/ou absoluto, à posição centromérica e número e localização de constrições secundárias. O estudo do cariótipo de uma espécie pode auxiliar na resolução de muitos problemas taxonômicos (genéricos, seccionais e específicos) e mostrar como muitas espécies estão relacionadas evolutivamente (GUERRA 1988; STACE 1989, 2000). Uma caracterização clara e precisa do cariótipo de uma espécie também é de fundamental importância quando se quer comparar citogeneticamente indivíduos e populações de mesma espécie.

O estudo do comportamento meiótico também é de grande importância para a Citotaxonomia, pois a regularidade no pareamento e a disjunção dos cromossomos determinam não somente a fertilidade de uma planta, mas permite uma comparação do

grau de homologia entre genomas (GUERRA 1988; STACE 1989, 2000; SUZUKI *et al.* 1989).

Algumas informações taxonômicas podem ser obtidas a partir de estudos na meiose. Muitas peculiaridades do comportamento meiótico devem sua origem à existência de heterozigose, então, na meiose, é observado o pareamento de genomas distintos. As diferenças que podem existir têm surgido freqüentemente por duplicação, deleção, inversão ou translocação do material cromossômico, e as configurações meióticas geralmente provêm evidências da natureza precisa destes arranjos. A ocorrência de anormalidades no comportamento cromossômico pode significar, em alguns casos, que tenha ocorrido uma provável hibridização entre duas plantas com genomas suficientemente diferentes a ponto de causar problemas mecânicos no pareamento, embora seja conhecida a existência de genes que interferem no pareamento (GUERRA 1988; SUZUKI *et al.* 1989). Entretanto, é também como acontece com trigo comum (*Triticum aestivum*), um alopoliplóide segmentar constituído por três genomas (A, B e D), em que todos os cromossomos comportam-se com bivalentes durante a meiose. Isso se deve à existência de um gene, *Ph*, localizado no braço longo do cromossomo 5 do conjunto B, que impede o pareamento dos homeólogos e, conseqüentemente, a formação de multivalentes (SUZUKI *et al.* 1989).

A variação cromossômica pode surgir de diferentes maneiras, mas suas conseqüências evolutivas estão relacionadas à multiplicação do grupo haplóide (poliploidia) e/ou aumento ou diminuição do número cromossômico original (aneuploidia/displóidia) (GUERRA 1988, 2000; STACE 1989, 2000; SUZUKI *et al.* 1989).

As técnicas de bandamento cromossômico e de citogenética molecular (hibridação *in situ*) ampliaram os horizontes da Citotaxonomia, por permitirem a diferenciação

longitudinal dos cromossomos, contribuindo para a análise taxonômica e evolutiva de diversos grupos de angiospermas. O bandamento cromossômico evidencia a localização de segmentos heterocromáticos e de sua possível constituição (dependendo da técnica utilizada). Por outro lado, a hibridação de DNA *in situ* (FISH) permite a análise do número e localização física de determinadas seqüências gênicas no genoma de uma determinada espécie em preparações cromossômicas e em núcleos interfásicos (HESLOP-HARRISON *et al.* 1991; SNOWDON *et al.* 2001; SUMNER 2003). As principais seqüências de DNA repetitivo utilizadas na citogenética vegetal são as que codificam os genes de DNA ribossômicos 45S (18S-5,8S-26S) e 5S, de telômeros (seqüências conservadas de *Arabidopsis thaliana* – TTTAGGG_(n)) e microssatélites, além de alguns grupos de DNAs satélites. A hibridação de DNA *in situ* pode utilizar genomas inteiros de uma espécie como marcadores, sendo então denominada GISH. Essa técnica é especialmente útil na verificação de ancestralidade de espécies originadas por hibridação e poliploidia (SNOWDON *et al.* 2001; SUMNER 2003).

A heterocromatina está geralmente associada às variações qualitativa e quantitativa nos genomas vegetais. MONDIN (2003) estudou espécies de *Crotalaria* L. (Leguminosae), mediante a comparação do padrão de bandamento por fluorocromos e também de hibridação *in situ* de DNAr 45S, o que permitiu a caracterização de importantes marcadores cromossômicos para estudos da evolução dos cariótipos, sugerindo que durante a evolução destas espécies houve perda e/ou ganho de seqüências ricas em AT e GC.

As técnicas de bandamento cromossômico e de hibridação *in situ* têm facilitado a identificação de pares cromossômicos, além de possibilitar a detecção de pequenas alterações estruturais nos cromossomos e a sua localização exata, as quais não

poderiam ser identificadas pelas técnicas de coloração convencional (GUERRA 1988; D'EMÉRICO *et al.* 1999). A técnica de FISH e GISH também é extremamente eficiente na análise de introgressões, translocações intergenômicas, relações de parentesco entre genomas e espécies, bem como da evolução de genomas e de seqüências repetitivas (SNOWDON *et al.* 2001; SUMNER 2003).

Para estudos evolutivos, estas técnicas possibilitam também a observação detalhada das transformações que ocorrem em grupos de espécies próximas taxonomicamente, que apresentam cariótipos muito semelhantes (CERBAH *et al.* 1995, 1998; GUERRA 1988; SNOWDON *et al.* 2001; SUMNER 2003). Duas espécies de *Lobelia* L. (Campanulaceae), ambas com $2n=28$, e com cariótipos muito semelhantes, foram analisadas por VANZELA *et al.* (1999), que utilizaram FISH para localizar seqüências de DNA repetitivo (DNAr 18S-5,8S-26S, DNAr 5S e seqüências teloméricas). Estes autores observaram a presença de um loco simples de cada família de DNA ribossômico (45S e 5S), sugerindo que tenha ocorrido eliminação de no mínimo um loco por família durante a evolução do grupo a partir de formas tetraplóides ancestrais.

Estudos envolvendo utilização de técnicas de bandamentos por fluorocromos e de citogenética molecular (FISH) em espécies da família Asteraceae são escassos. Um dos primeiros registros na família foram efetuados por CERBAH *et al.* (1995) em espécies de *Hypochaeris* L. (tribo Lactuceae), utilizando apenas o fluorocromo CMA₃ e, posteriormente, CERBAH (1998) e WEISS-SCHNEEWEISS *et al.* (2003) incorporaram técnicas de hibridação *in situ* (FISH). Baseando-se nestes estudos citotaxonômicos de vinte espécies (CERBAH *et al.* 1995, 1998; WEISS-SCHNEEWEISS *et al.* 2003), foram apresentados cladogramas e discussões sobre a filogenia de *Hypochaeris* e sugerido um esquema hipotético da evolução cariotípica neste gênero, salientando a importância

da disploidia em espécies de Asteraceae. Também podemos citar autores como GATT *et al.* (1998, 1999), que através de localização de seqüências repetidas de DNA, analisaram dezoito espécies de *Dahlia* Cav. (tribo Heliantheae), inferindo sobre a origem das espécies poliplóides, a composição genômica destes poliplóides e de híbridos interespecíficos. VANZELA *et al.* (2002) caracterizaram a localização de seqüências repetitivas (45S e CMA₃) em dez espécies de *Helianthus* L. (tribo Heliantheae) com diferentes níveis de ploidia. Estes autores sugeriram que rearranjos envolvendo pequenos segmentos heterocromáticos e de DNAr tiveram grande importância na evolução das espécies deste taxon.

Outros estudos recentes com espécies de Asteraceae foram realizados por GARNATJE *et al.* (2004) em sete espécies de *Xeranthemum* L. e gêneros relacionados (tribo Carduceae), observando que as bandas evidenciadas por CMA₃ e os sítios de hibridação de DNAr 45S, na maioria das vezes são co-localizados, sugerindo que seqüências ribossômicas repetidas poderiam estar interespaçadas na heterocromatina e sugerindo que a disploidia descendente tem um papel proeminente na evolução do complexo estudado, assim como tem sido observado em várias outras Asteraceae. FREGONEZI *et al.* (2004) analisaram três espécies de Asteraceae, *Crepis japonica* (L.) Benth. (tribo Cichorioideae), *Galinsoga parvifolia* Cav. (tribo Heliantheae) e *Chaptalia nutans* (L.) Pol. (tribo Mutisiae), verificando que apesar das espécies analisadas apresentarem números cromossômicos e cariótipos distintos, a localização dos sítios de DNAr 45S, em todos os casos analisados, é no braço curto dos cromossomos, e as diferenças verificadas entre as espécies estão no número de sítios de hibridação e quantidade de seqüências em cada uma.

1.3. Estudos cromossômicos na tribo Vernonieae

A família Asteraceae apresenta uma grande amplitude de números cromossômicos, variando de $n=2$ em *Haplopappus gracilis* (Nutt.) Gray (tribo Astereae) e *Brachycome lineariloba* (DC.) Drake (tribo Astereae) a $n=106$ em *Werneria nebigena* Kunth. (tribo Senecioneae) e $n=110-120$ em *Melanthera aspera* (Jacq.) Rendle (tribo Heliantheae) (SOLBRIG 1977).

De acordo com SOLBRIG (1977), o número cromossômico mais comum em Asteraceae é $n=9$, sugerindo que este seja o número cromossômico básico para a família. Espécies com $n=9$ não estão distribuídas regularmente através das várias tribos e subtribos, e espécies com outros números também formam grupos modais nas tribos.

As contagens cromossômicas realizadas para espécies paleotropicals da tribo Vernonieae correspondem a $n=9$ ou $n=10$, tendo sido encontrados poucos poliplóides. O número cromossômico ancestral em Vernonieae é $x=9$ ou $x=10$, como aqueles encontrados nas espécies da África e Sudeste Asiático. No entanto, as espécies americanas desta tribo têm apresentado $n=17$, múltiplos destes e escassas contagens com $n=10$ ou múltiplos deste (GALIANO e HUNZIKER 1987). Esses números cromossômicos maiores poderiam ter sido derivados de $x=9$ por duplicação para 18 e posterior disploidia (BERNADELLO 1986; DEMATTEIS 1996, 1998, 2002; DEMATTEIS e FÉRNANDEZ 1998, 2000; JONES 1974, 1976, 1979). Uma hipótese alternativa sobre a origem do número básico das Vernonieae neotropicais foi proposta por TURNER (1981), na qual o autor sugere que o número básico $x=17$ foi derivado a partir de $x=10$, que teria sofrido duplicação para $x=20$, seguida de redução aneuplóide para 17, ou por origem alopoliplóide de $x=9+10$, seguida de redução.

Os estudos citogenéticos na tribo são principalmente referentes a *Vernonia*, com inexistência de informações para a grande maioria de espécies dos outros gêneros. Algumas espécies de *Vernonia* foram analisadas, mostrando que apesar de relativamente pequenos, os cromossomos apresentaram algumas pequenas diferenças de tamanho e morfologia (RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1996, 1998, 2002; DEMATTEIS e FERNÁNDEZ 1998, 2000). A assimetria cariotípica é pouco variável entre as espécies de *Vernonia*, sugerindo que a diversificação deste gênero foi acompanhada por pequenas alterações na constituição cariotípica das espécies (DEMATTEIS 1996, 1998, 2002; DEMATTEIS e FERNÁNDEZ 1998, 2000).

Na subtribo *Lychnophorinae* a circunscrição dos gêneros é, em alguns casos, controversa, assim como a delimitação de espécies dentro de um gênero, devido à sobreposição de diversas características morfológicas (SEMIR 1991). Há suposição de ocorrência de possíveis híbridos naturais entre espécies de *Lychnophora*, o que é apontado por COILE e JONES (1981) e SEMIR (1991) como uma dos fatores complicadores de sua taxonomia.

Estudos biosistemáticos, envolvendo diferentes enfoques, como os quimiotaxonômicos, citotaxonômicos e reprodutivos, poderiam ser extremamente úteis para o esclarecimento da taxonomia da subtribo, porém são praticamente inexistentes. Pode-se citar a análise de flavonóides em algumas espécies de *Lychnophora* e de seus supostos híbridos (KING 1986).

Antes da década de 1980, inexistiam relatos de números cromossômicos para espécies de *Lychnophora*, *sensu* SEMIR (1991). O número cromossômico inicialmente proposto foi $n=17/2n=34$, para *L. ericoides*, *L. tomentosa*, *L. heterotheca* (= *L. candelabrum*) e *L. diamantinana* (COILE e JONES 1981). Posteriormente, JONES (1982)

citou $2n=36$ para *Eremanthus reflexo-auriculatus* (= *Paralychnophora reflexo-auriculata*) e CARR *et al.* (1999) citaram um número atípico ($2n=18 +1B$) para *L. phyllicifolia*.

O estudo de MANSANARES *et al.* (2001, 2002) evidenciou variação de números cromossômicos para o gênero *Lychnophora* (*sensu* SEMIR 1991): $2n=34$, $2n=36$ e $2n=38$, distribuídos entre as dezoito espécies estudadas. Segundo MANSANARES *et al.*, (2001, 2002), os resultados obtidos confirmam, em sua maioria, a proposição taxonômica de SEMIR (1991), como acontece, por exemplo, entre as espécies *L. ericoides* e *L. gardneri* (*sensu* SEMIR 1991), que eram consideradas por COILE e JONES (1981) como sendo uma única espécie (*L. ericoides*). Segundo MANSANARES *et al.* (2001, 2002) estas espécies apresentaram números cromossomos distintos, de $2n=34$ para *L. ericoides* e de $2n=36$ para *L. gardneri*, reforçando a distinção entre estas, conforme proposto por SEMIR (1991). Os números cromossômicos não parecem constituir caracteres distintivos para separação em gêneros e seções, entretanto, são caracteres muito importantes na diferenciação de algumas espécies, cujos limites são questionados por parte de vários taxonomistas (MANSANARES *et al.* 2001, 2002).

MANSANARES (2000) observou que algumas espécies de *Lychnophora* mostraram alterações cromossômicas, como é o caso de *L. rupestris*, uma espécie microendêmica da Serra do Cipó, Minas Gerais, que apresenta inversões paracêntricas em três pares de cromossomos (observação de ponte anafásicas na meiose) e também um caso de poliploidia (tetraploidia), observado em *L. staavioides* (espécie endêmica da região de Diamantina, Minas Gerais). Estudos cromossômicos envolvendo técnicas de citogenética molecular são inexistentes, não somente para espécies da subtribo Lychnophorinae, como para a tribo Vernonieae como um todo.

Os números cromossômicos já citados previamente em literatura para espécies da subtribo Lychnophorinae sugerem que esta tenha quatro números cromossômicos básicos, $x=15, 17, 18$ e 19 (TURNER *et al.* 1979; JONES 1982; ROBINSON 1999a; DEMATTEIS 1998; CARR *et al.* 1999; MANSANARES 2000, MANSANARES *et al.* 2002).

2. OBJETIVOS

Ampliar o estudo citotaxonômico de espécies de *Lychnophora* (*sensu* SEMIR 1991), e iniciar o estudo citotaxonômico nos outros gêneros da subtribo Lychnophorinae, como *Proteopsis*, *Heterocoma* e *Minasia*, mediante a:

- determinação de seus números cromossômicos;
- caracterização, mesmo que parcial, da diversidade cariotípica de algumas espécies dos gêneros, por técnicas de coloração convencional e de citogenética molecular;
- análise da citotaxonomia de *Lychnophora* e de gêneros próximos, comparando-se os resultados cromossômicos aos arranjos taxonômicos, tentando elucidar a delimitação entre espécies e a circunscrição dos gêneros;
- avaliação da normalidade do processo reprodutivo das espécies, através de estudos meióticos.

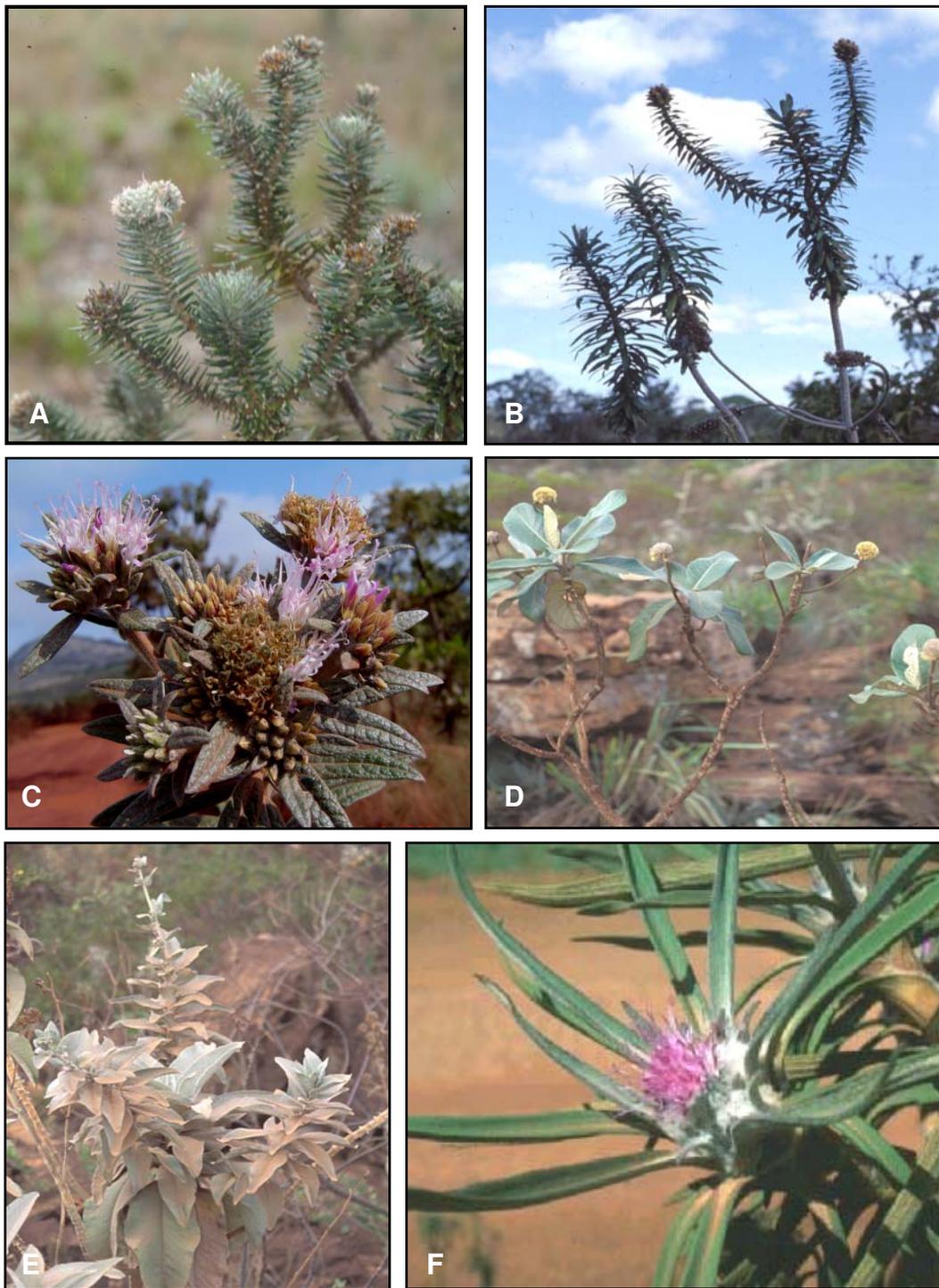


Figura 1.1. Representantes das seis seções do gênero *Lychnophora* propostas por Semir (1991). **A-** Seção *Lychnophora*, *L. gardnerii*; **B-** Seção *Lychnophoriopsis*, *L. hatschbachii*; **C-** Seção *Lychnophorioides*, *L. syncephala*; **D-** Seção *Sphaeranthus*, *L. bicolor* (*Paralychnophora bicolor*); **E-** Seção *Chronopappus*, *L. markgravii*; **F-** Seção *Lychnocephaliopsis*, *L. sellowii*.



Figura 1.2. Gêneros da subtribo Lychnophorinae analisados **A-** *Proteopsis argentea*; **B-** *Proteopsis argentea*, inflorescência; **C-** *Minasia alpestris*; **D-** *Minasia pereirae*; **E-** *Heterocoma albida*; **F-** *Heterocoma albida*, inflorescência.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BAKER, J.G. 1873. *Compositae I. Vernoniaeae*. In: Martius, c.f. e Eichler, a.g. (eds.). 6(2):1-180. **Flora brasiliensis**. Lipsiae, Monachii.
- BARROSO, G.M. 1956. *Compositae brasiliensis novae*. **Arch. Jard. Bot. Rio Jan.**, 14: 258-262.
- BARROSO, G.M. 1986. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Vol. III. Viçosa, Imp. Universitária da Univ. Federal de Viçosa, pp 326.
- BEAUVERD, G. 1913. *Um nouveau Lychnophora brésilien*. **Bol. Soc. Bot. Genève**, 5: 241- 242.
- BENTHAM, G. 1873a. *Compositae*. In: G. Bentham e J.D. Hooker (eds.). **Genera Plantarum**. London, Lovell Reeve, 2: 163-533.
- BENTHAM, G. 1873b. *Notes of the classification hystory, and geographical distribution of the Compositae*. **Jour. Linn. Soc. Bot.**, 13: 355-577.
- BERNADELLO, L.M. 1986. *Numeros cromosomicos en Asteraceae de Cordoba. Darwiniana*. 27(1-4): 169-178.
- BREMER, K. 1994. *Asteraceae – Cladistic e Classification*. Portland, Oregon, Timber Press., pp 752.
- BREMER, K. e JANSEN, R.K. 1992. *A new subfamily of the Asteraceae*. **Ann. Missouri Bot. Gard.**, 79: 414-415.
- BRIGGS, D. e WALTERS, S.M. 1997. *Plant variation and evolution*. 3^a ed. London, Cambridge University Press., pp 512.
- CARR, G.D.; KING, R.M.; POWELL, A.M. e ROBINSON, H. 1999. *Chromosome numbers in Compositae, XVIII*. **Amer. J. Bot.**, 86(7): 1003-1013.
- CASSINI, H. 1817. *Aperçu des genres nouveaux foumes par M. Henri Cassini dans la famille des Synanthérées*. Paris, **Bull. Sci. Soc. Philom**, 4: 66-68.
- CERBAH, M, COULAUD, J., GODELLE, B. e SILJAK-YAKOVLEV, S. (1995). *Genome size, fluorochrome banding, and karyotype evolution in some Hypochaeris species*. **Genome**, 38: 689-695.
- CERBAH, M., COULAUD, J. e SILJAK-YAKOVLEV, S (1998). *rDNA organization and evolutionary relationships in the Hypochaeris (Asteraceae)*. **J. Hered.** 89: 312-318.
- CHASE, M. W. AND OTHERS (1993). *Phylogenetics of seed plant: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene rbcL*. **Ann. Missouri Bot. Gard.**, 80: 528-580.

COILE, N.C. e JONES JR., S.B. 1981. *Lychnophora (Compositae: Vernonieae), a endemic genus to the Brazilian planalto*. **Brittonia**, 33: 528-542.

COTIAS-DE-OLIVEIRA, A.P., ASSIS, J.G.A. e BELLINTANI, M.C. 2000. *Chromosome numbers in Bromeliaceae*. **Genet. Mol. Biol.**, 23(1): 173-177.

CRONQUIST, A. 1981. *A integrated system of classification of flower plants*. New York, Columbia Univ. Press.

CRONQUIST, A. 1988. *The evolution and classification of flowering plants*. 2^a ed. New York, The New York Botanical Garden.

DE CANDOLLE, A.P.1810. *Recueil de mémoires sur la botanique. Observations sur les plntes Composées ou Syngénésés*. Second mémoire. **Ann. Mus. His. Nat.**, Paris, XVI: 181-208.

DE CANDOLLE, A.P.1836. *Compositae*. **Prod. Syst. Nat. Regni Veg.**, 5: 4-706.

DEMATTEIS, M. 1996. *Estudios cromosomicos en especies Argentinas de Vernonia (Asteraceae)*. **Bonplandia**, 9(1-2): 103-110.

DEMATTEIS, M. 1998. *Chromosome studies of some Vernonia species (Asteraceae)*. **Gen. Mol. Biol.**, 21: 381-385.

DEMATTEIS, M. 2002. *Cytotaxonomic analysis of South American species of Vernonia (Vernonieae: Asteraceae)*. **Bot. Jour. Linn. Soc.**, 139:401-408.

DEMATTEIS, M. e FERNÁNDEZ, A. 1998. *Karyotypes of Seven South American Species of Vernonia (Vernonieae, Asteraceae)*. **Cytologia**, 63:323-328.

DEMATTEIS, M. e FERNÁNDEZ, A. 2000. *Chromosome studies on nine South American species of Vernonia (Vernonieae, Asteraceae)*. **Caryologia**, 53(1): 55-61.

D'EMERICO, S.; GRÜNANGER, P.; SCRUGLI, A. e PIGNONE, D. 1999. *Karyomorphological parameters an C-Band distribution suggest phyletic relationships within the subtribe Limodorinae (Orchidaceae)*. **Pl. Syst. Evol.**, 217: 147-161.

FORNI-MARTINS, E.R., PINTO-MAGLIO, C.A.F. e CRUZ, N.C. 1995. *Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants*. **Rev. Brasil. Genet.**, 18(2): 281-288.

FREGONEZI, J.N.; TOREZAN, J.M.D. e VANZELA, A.L.L. 2004 (in press). *A karyotypic study of three southern Brazilian Asteraceae species using fluorescence in situ hybridization with 45S rDNA probe and C-CMA₃* **Genet. Mol. Biol.**, 27(2)- in press.

GALIANO, N.G. e HUNZIKER, J.H. 1987. *Estudios cariologicos en Compositae, IV. Vernonieae y Eupatorieae*. **Darwiniana**, 28(1-4): 1-8.

- GARNATJE, T.; VALLÈS, J.; VILATERSANA, R.; GARCIA-JACAS, N.; SUSANNA, A. e SILJAK-YAKOVLEV, S. 2004. *Molecular cytogenetics of Xeranthemum L. and related genera (asteraceae, Cardueae)*. **Plant Biol.**, 6: 140-146.
- GATT, M.; DING, H.; HAMMETT, K. e MURRAY, B. 1998. *Polyploidy and evolution in wild and cultivated Dahlia species*. **Ann. Bot.**, 81: 647-656.
- GATT, M.; HAMMETT, K. e MURRAY, B. 1999. *Confirmation of ancient polyploidy in Dahlia (Asteraceae) species using genomic in situ hybridization*. **Ann. Bot.**, 84: 39-48.
- GIULIETTI, A.M. e PIRANI, J.R. 1988. *Patterns of geografic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil*. **Acad. Brasil. Ciências**, 39-69.
- GLAZIOU, A.F.M. 1909. *Liste des plantes du Brésil Central recueillies on 1861-1895*. **Mém. Soc. Bot. Fr.**, 3: 377-383.
- GRANT, V. 1981. *Plant Speciation*. New York, Columbia Univ. Press.
- GUERRA, M. 1988. *Introdução à Citogenética Geral*. Rio de Janeiro, Guanabara, pp. 146.
- GUERRA, M. 2000. *Chromosome number variation and evolution in Monocots*. In: WILSON, K.L. and MORRISON, D.A. (eds.) *Monocots: Systematic and Evolution*. Melbourne, **CSIRO**, 127-136.
- HEEYWOOD, V.H.; HARBONE, J.B. e TURNER, B.L. 1977. *Na overture to the Compositae*. In: HEYWOOD, V.H. HARBONE, J.B. e TURNER, B.L. (eds.). *The Biology and Chemistry of the Compositae*. London, Academic Press, 1-20.
- HESLOP-HARRISON, J.S.; SCHWARZACHER, T.; ANAMTHAWAT-JONSSON, K.; LEITCH, A.R.; SHI, M. E LEITCH, I.J. 1991. *In situ hybridation with automated chromosome denaturation*. **Technique** 3:106-109.
- HIND, D.J.N. 1995. *Paralychnophora. Compositae*. In: B.L. STANNARD (ed.), *Flora of the Picoa das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil*. Kew, **Royal Bot. Gard.** 193-194.
- HIND, D.J.N. 2000a. *Two new species of Paralychnophora (Compositae: Vernonieae) from Bahia, Brazil*. **Kew Bull.**, 55: 367-379.
- HIND, D.J.N. 2000b. *A new species of Lychnophora (Compositae: Vernonieae: Lychnophorinae) from Bahia, Brazil*. **Kew Bull.**, 55: 393-397.
- HOFFMAN, C. 1894. *Vernonieae*: In: Engler, A. e Plantl, K. (eds.). *Die naturlichen Pflanzenfamilien*. Leipzig, **Wilhelm Engelmann**, 8:120-129.
- JONES, S.B. 1974. *Vernonieae (Compositae) chromosome numbers*. **Bull. Torrey Bot. Club**, 101: 31-34.

- JONES, S.B. 1976. *Revision of Vernonia (Compositae), subsection Paniculatae, series Umbelliformes of the Mexican Highlands*. **Rhodora**, 78: 180-206.
- JONES, S.B. 1977. *Vernonieae - systematic review*. In: Heywood, V.H., Harbone, J.B. e Turner, B.L. (eds.). *The biology and Chemistry of the Compositae*. London, Academic Press, 1: 503-521.
- JONES, S.B. 1979. *Chromosome numbers of Vernonieae (Compositae)*. **Bull. Torrey Bot. Club**, 106(2): 79-84.
- JONES, S.B. 1982. *IOPB Chromosome numbers reports LXIV*. **Taxon**, 31: 126-127.
- JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; KELLOGG, E.A. e STEVENS, P.F. 1999. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sinauer Associates Inc., Sunderland. Massachusetts, Publishers Sunderland, pp. 465.
- KING, B.L.. 1986. *A systematic survey of the leaf flavonoids of Lychnophora (Asteraceae: Vernonieae)*. **Syst. Bot.**, 11(3): 403-414.
- KING, R.M. e ROBINSON, H. 1969. *Studies in the Eupatorieae (Compositae), XVI: a monograph of the genus Decachaeta DC*. **Brittonia**, 21: 275-284, 397.
- KING, R.M. e ROBINSON, H. 1970. *Studies in the Eupatorieae (Asteraceae), XXVII: a monograph of the genus Tricochoronis*. **Phytologia**, 19: 497-500.
- KING, R.M. e ROBINSON, H. 1980. *Studies in the Eupatorieae (Asteraceae), Monographs in systematics botany*. **Ann. Missouri Bot. Gard.**, 22: 1-591.
- KING, R.M. e ROBINSON, H. 1987. *The genera of the Eupatorieae (Compositae), XVI: a monograph of the genus Decachaeta DC*. **Brittonia**, 21: 275-284, 397.
- KRASCHENINNIKOV, H. 1927. *Compositae austro-americanae novae. I*. **Not. Syst. Herb. Hort. Bot. Petrop.**, 3: 157-162.
- LEITÃO FILHO, H.F. e SEMIR, J. 1979. *Uma nova combinação para o gênero Vernonia Schreb. (Compositae): Vernonia damazoi (Beauverd) Leitão Filho e Semir*. **Rev. Brasil. Bot.**, 2: 113-116.
- LESSING, C.F. 1829. *De synanthereis herbarii regii berlinensis dissetationes. I – Vernoniae*. **Linn.**, 4: 240-356.
- LESSING, C.F. 1831a. *De synanthereis dissertatio quarta*. **Linn.**, 6: 240-288, 295-399.
- LESSING, C.F. 1831b. *De Synanthereis Herbarii Regii Berolinensis Dissertationes. I – Vernoniae, IV- Vernoniearum Mantissa*. **Linn.**, 6: 624-721.
- LEWIS, H. 1972. *The origin of endemism in the California flora*. In: Valentine, d.h. (ed.) *Taxonomy, Phytogeography and Evolution*. London, Academic Press.

- MACLEISH, N.F.F. 1984. *Argyrovernonia and Paralychnophora: new names in the tribe Vernonieae (Asteraceae / Compositae)*. **Taxon** 33: 105-106.
- MACLEISH, N.F.F. 1987. *Revision of Eremanthus (Compositae: Vernonieae)*. **Ann. Missouri Bot. Gard.** 74: 265-290.
- MANSANARES, M.E. 2000. *Estudo citotaxonômico de espécies do gênero Lychnophora Mart. (Asteraceae: Vernonieae) em Minas Gerais*. Tese de mestrado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.
- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2001. *IOPB Chromosome data XVII. Newsletter*, 33: 23-24.
- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2002. *Chromosome numbers in the genus Lychnophora Mart. (Lychnophorinae: Vernonieae: Asteraceae)*. **Caryologia**, 55(4): 367-374.
- MARTIUS, C.F.P. 1822. *Novum plantarum genus Lychnophora*. Denkschr. K. Bayer, **Bot. Ges. Regensb.**, 2: 148-159.
- MATTFELD, J. 1923. *Compositae*. In: Pilger, R. *Plantae luetzelbergianae brasiliensis I*. Berlin, **Notizb. Bot. Gart.**, 8: 425-451.
- MONDIN, M. 2004. *Estudos citogenéticos em espécies de Crotalaria (Leguminosae): bandamento cromossômico e análise da região organizadora do nucléolo via hibridação molecular in situ (fish)*. Piracicaba, SP, ESALQ, Tese de doutorado.
- PANERO, J.L. E FUNK, V.A. 2002. *Toward a phylogenetic subfamilial classification for the Compositae (Asteraceae)*. **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 115(4): 909-922.
- PHILIPSON, W.R. 1938. *L. – Four new species of Vernonieae collected by Glaziou in Brasil*. Kew, **Bull. Misc. Inform.** 1938 (7): 298-300.
- ROBINSON, H. 1980a. *New species of Vernonieae (Asteraceae), IV: Three additions to Vernonia from Ecuador and Peru*. **Phytologia**, 45: 158-165.
- ROBINSON, H. 1980b. *Notes on the Lychnophorine genera Chresta and Eremanthus (Vernonieae, Asteraceae)*. **Phytologia**, 45: 89-100.
- ROBINSON, H. 1981. *Episcothamnus and Bishopalea, two new genera of Vernonieae (Asteraceae) from Brazil, and the resurrection of Sipolisia*. **Phytologia**, 48(3): 209-217.
- ROBINSON, H. 1983a. *Five new species of Lychnophora from Bahia, Brazil (Vernonieae: Asteraceae)*. **Phytologia**, 53: 169-384.
- ROBINSON, H. 1983b. *Three new species of Vernonia from South America (Vernonieae: Asteraceae)*. **Phytologia**, 53: 393-400.

- ROBINSON, H. 1987a. *Studies of the Lepidaploa complex (Vernonieae: Asteraceae), I: the genus Stenocephalum Sch. Bip.* **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 100: 578-583.
- ROBINSON, H. 1987b. *Studies of the Lepidaploa complex (Vernonieae: Asteraceae), II: A new genus, Echinocoryne.* **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 100: 584-589.
- ROBINSON, H. 1987c. *Studies of the Lepidaploa complex (Vernonieae: Asteraceae), III: two new genera, Cytocymura and Eirmocephala.* **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 100: 844-855.
- ROBINSON, H. 1988a. *Studies of the Lepidaploa complex (Vernonieae: Asteraceae), IV: the new genus, Lessigenianthus.* **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 101: 929-951.
- ROBINSON, H. 1988b. *Studies of the Lepidaploa complex (Vernonieae: Asteraceae), V: the new genus, Chrysoaena.* **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 101: 952-958.
- ROBINSON, H. 1989. *Acilepidolepis, a new genus of Vernonieae from South America (Asteraceae).* **Phytologia**, 67: 289-292.
- ROBINSON, H. 1990a. *Six new combinations in Baccharioides Moench and Cyanthillium Blume (Vernonieae: Asteraceae).* **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 103: 248-253.
- ROBINSON, H. 1990b. *Studies in the Lepidaploa Complex (Vernonieae: Asteraceae), VII: the genus Lepidaploa.* **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 103: 464-498.
- ROBINSON, H. 1992a. *Notes of Lychnophorinae from Minas Gerais, Brazil, a synopsis of Lychnophoriopsis Shultz-Bip., and the new genera Anteremanthus and Minasia (Vernonieae: Asteraceae).* **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 105: 640-652.
- ROBINSON, H. 1992b. *A new genus Vernonanthuria (Vernonieae, Asteraceae).* **Phytologia**, 73: 65-76.
- ROBINSON, H. 1996a. *The status of generic and subtribal revisions in the Vernonieae.* In: Hind, d.j.n. e Beentje, h.j. 1996 (eds.). *Compositae: Systematics*. Kew, Whitstable Litho Printers Ltd., 1: 511-529.
- ROBINSON, H. 1996b. *The Paralychnophora group of Eremanthus (Vernonieae: Asteraceae).* **Rhodora** 98 (893): 85-93.
- ROBINSON, H. 1999a. *Generic and subtribal classificatio of American Vernonieae.* **Smith. Contrib. Bot.**, 89: 1-116.
- ROBINSON, H. 1999b. *Two new subtribes, Stokesiinae and Pacourinae, of the Vernonieae (Asteraceae).* **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 112(1): 216-219.
- ROBINSON, H e BRETTEL, R.D. 1973. *Tribal revisions in the Asteraceae, II: the relationship of Trichospira.* **Phytologia**, 25: 259-264.

- RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; VIEIRA, O.S.; MATZENBACHER, N.I. e MARTINS, N.S. 1991. *Cytogenetics of genus Vernonia Schreber (Compositae)*. **Cytologia**, 56: 239-247.
- SCHULTZ-BIPONTINUS, C.H. 1863. *Lychnophora Martius und einige benadrbarte gottungen*. **Jahresber. Pollichia**, 20/21: 321-439.
- SEMIR, J. 1991. *Revisão Taxonômica de Lychnophora Mart. (Vernonieae: Compositae)*. Tese de doutorado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.
- SEMIR, J. e JESUS, F.F. 2004. *A new species of Minasia (Vernonieae) from the Planalto de Diamantina, Minas Gerais, Brazil*. *Novon*, 14(2): in press.
- SNOWDON, R., KUSTERER, B. e HORN, R. 2001. *Strutural genome analysis using molecular cytogenetic techniques*. **Progr. Bot.**, 63: 55-79.
- SOLBRIG, O.T. 1977. *Chromosomal cytology and evolution in the family Compositae*. In: HEYWOOD, V.H.; HARBORNE, J.B. e TURNER, B.L. (eds.). *The Biology and Chemistry of the Compositae I*. London, Academic Press, 1: 267-281.
- STACE, C.A. 1989. *Plant Taxonomy and Biosystematics*. 2^a ed. New York, Cambridge University Press. pp. 264.
- STACE, C.A. 2000. *Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21th centuries*. **Taxon**, 49: 451-477.
- STEBBINS, G.L. 1971. *Chromosomal evolution in higher plants*. London, Edward Arnold (Publishers) Ltd., pp.216.
- SUMNER, A.T. 2003. *Chromosomes – Organization and Function*. North Berwick, United Kingdom, Blackwell Publishing, pp. 287.
- SUSUKI, D.T., GRIFFITHS, A.J.F., MILLER, J.H. e LEWONTIN, R.C. 1989. *Introdução à genética*. 4^a edição, Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan.
- TURNER, B.L. 1981. *New species and contributions in Vernonia sections Leiboldia and Lepidonia (Asteraceae), with a revisional conspectus of the groups*. **Brittonia**, 33: 401-412.
- TURNER, B.L.; BACON, J.; URBATSCH, L. e SIMPSON, B. 1979. *Chromosome numbers in South American Compositae*. **Amer. J. Bot.**, 66(2): 173-178.
- VANZELA, A.L.L., GUERRA, M. e LUCEÑO, M. 1996. *Rhyncospora tenuis Link (Cyperaceae), a species with the lowest number of holocentric chromosomes (n=2)*. **Cytobios**, 88: 213-228.
- VANZELA, A.L.L.; CUADRADO, A.; VIEIRA, A.O.S. e JOUVE, N. 1999. *Genome characterization and relationships between two species of Lobelia (Campanulaceae) determined by repeated DNA sequences*. **Pl. Syst. Evol.**, 214: 211-218.

VANZELA, A.L.L.; RUAS, C.F., OLIVEIRA, M.F. e RUAS, P.M. 2002. *Characterization of diploid, tetraploid and hexaploid Helianthus species by chromosome banding and FISH with 45S probe*. **Genetica**, 114: 105-111.

WEISS-SCHNEEWEISS, H.; STUESSY, T.F.; SILJAK-YAKOVLEV, S.; BAEZA, C.M. e PARKER, J. 2003. *Karyotype evolution in South American of Hypochaeris (Asteraceae, Lactuceae)*. **Pl. Syst. Evol.** 241: 171-184.

Capítulo 2

Citotaxonomia de espécies do gênero *Lychnophora* Mart. (Asteraceae: Vernoniaeae: Lychnophorinae)

Autores: Mansanares, M.E.; Forni-Martins, E.R. e Semir, J.S.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Lychnophora* foi descrito pela primeira vez por MARTIUS (1822), que considerou como características diferenciais, a presença de inflorescências em glomérulo e cipselas com os pappus caducos. *Lychnophora* pertence à subtribo Lychnophorinae e apresenta alguns problemas taxonômicos relacionados à sua circunscrição e à delimitação de suas espécies (COILE e JONES 1981; SEMIR 1991; ROBINSON 1999). Também há conceituações conflitantes em relação às delimitações genéricas dentro da subtribo Lychnophorinae (ROBINSON 1992, 1996a, b, 1999; COILE e JONES 1981; MACLEISH 1984, 1987; MACLEISH e SCHUMAKER 1984; SEMIR 1991, HIND 1995, 2000a, b).

COILE e JONES (1981) revisaram *Lychnophora*, relacionando todas as espécies até então descritas desde seu estabelecimento. Consideraram o gênero com apenas 11 espécies perfeitamente estabelecidas, sinonimizaram algumas espécies e deslocaram alguns taxa para outros gêneros da tribo Vernonieae. Posteriormente, SEMIR (1991) realizou uma outra revisão de *Lychnophora*, com resultados na maioria das vezes discrepantes das posições taxonômicas de COILE e JONES (1981), considerando então 68 espécies. SEMIR (1991) não aceitou a maioria das sinonimizações feitas por COILE e JONES (1981) e ampliou a circunscrição, englobando outros gêneros sob *Lychnophora*. SEMIR (1991) reconheceu um amplo conceito de *Lychnophora*, incluindo *Chronopappus*, *Lychnophoriopsis*, *Episcothamnus*, *Paralychnophora* e parte de *Piptolepis* como sinônimos. ROBINSON (1999), em sua sinopse para espécies americanas da tribo Vernonieae, considerou para o gênero *Lychnophora* 34 espécies, aceitando algumas espécies sugeridas por SEMIR (1991), e considerando outras como sinônimos. Recentemente, HIND (2000b) propôs ainda uma nova espécie para o gênero,

Lychnophora sericea.

Segundo SEMIR (1991), o gênero *Lychnophora* está dividido em seis seções: *Lychnophora*, *Lychnophoriopsis*, *Lychnophorioides*, *Lychnocephaliopsis*, *Sphaeranthus* e *Chronopappus*. O autor separou estas seções baseando-se em diferenças nas inflorescências e na presença ou ausência de bainhas ou pecíolos nestes taxons.

O gênero *Lychnophora* apresenta um grande número de endemismos, sendo encontrado somente nos chamados campos rupestres do Brasil, nos estados de Goiás, Bahia e principalmente em Minas Gerais. Os campos rupestres são ambientes geralmente com topografia acidentada, clima e solo secos. As espécies do gênero ocorrem em afloramentos de solos rasos de arenito, quartzito ou ferro, ou sobre solos profundos de arenito branco. As regiões montanhosas onde ocorrem os campos rupestres são descontínuas; as espécies são representadas por populações disjuntas, tornando difícil a interpretação do conceito de espécies (GIULIETTI e PIRANI 1988). Ainda segundo estes autores, com a formação de barreiras geográficas, surgem obstáculos para que ocorra o fluxo gênico entre estas populações. As condições ecológicas destes ambientes possivelmente propiciam uma especiação intensa, podendo ser um dos fatores destes endemismos e dos isolamentos encontrados em gêneros e espécies que ocupam este habitat (GIULIETTI e PIRANI 1988; SEMIR 1991). Um elevado grau de endemismo geralmente está correlacionado com a idade e o isolamento de uma área, da diversificação dos habitats, e como estes fatores influenciam tanto a evolução (a formação de neoendêmicos), como a sobrevivência dos endêmicos (produção de relíquias endêmicas) (KRUCKEBERG e RABINOWITZ 1985).

Há suposição de ocorrência de possíveis híbridos naturais entre espécies de *Lychnophora*, o que é apontado por COILE e JONES (1981) e SEMIR (1991) como um dos

fatores complicadores da taxonomia do gênero. SEMIR (1991), embora sem um estudo biosistemático comprobatório, comentou a possibilidade de que as espécies endêmicas tenham sido formadas como uma consequência de hibridização, que ocorreria pela produção de aloploplóides de segmento. Entretanto, não descartou a possibilidade destes possíveis híbridos serem diplóides, como sugerido por GRANT (1981) e BRIGGS e WALTERS (1997). Por outro lado, LEWIS (1972) discute a formação de espécies endêmicas sem hibridização, como produtos de especiação gradual. Especiação ecológica através do isolamento cada vez maior dos ecótipos destas espécies pode ter ocorrido, propiciando a formação de neoendêmicos (KRUCKEBERG e RABINOWITZ 1985; SEMIR 1991). Também poder-se-ia cogitar a hipótese da formação inicial de autoploplóides, embora este seja um fenômeno raro na natureza (GUERRA 1988).

Nos três estados em que as espécies de *Lychnophora* ocorrem, podemos encontrar a seguinte distribuição relativa a seções e espécies (*sensu* SEMIR 1991): em Minas Gerais estão representadas todas as seis seções do gênero, sendo encontradas 52 espécies (76,5%). Na Bahia, estão representadas 20 espécies (28%) distribuídas em três seções, e por fim em Goiás, existem duas seções, representadas com cinco espécies (7,3%) (SEMIR 1991).

No estado de Minas Gerais, o planalto de Diamantina e a Serra do Cipó (Cadeia do Espinhaço) são considerados os dois grandes centros de diversidade e endemismo para o gênero (COILE e JONES 1981; SEMIR 1991). Na Chapada Diamantina, na Bahia, podemos observar dois pequenos centros de diversidade, o primeiro compreendendo as regiões do Morro do Chapéu e o segundo as regiões de Rio de Contas e Pico das Almas. No estado de Goiás, as espécies ocorrem na Chapada dos Veadeiros (SEMIR

1991).

Antes da década de 1980, inexistiam relatos de números cromossômicos para espécies de *Lychnophora*, *sensu* SEMIR (1991). Ainda hoje, não são disponíveis outras informações cariotípicas para o grupo, envolvendo a descrição de tamanho e morfologia cromossômica. O número cromossômico inicialmente proposto foi $n=17/2n=34$, para *L. ericoides*, *L. tomentosa*, *L. heterotheca* (= *L. candelabrum*) e *L. diamantinana* (COILE e JONES 1981). Posteriormente, JONES (1982) citou $2n=36$ para *Eremanthus reflexo-auriculatus* (= *Lychnophora reflexo-auriculata*) e CARR *et al.* (1999) citaram um número atípico ($2n=18 +1B$) para *L. phyllicifolia*.

Recentemente, MANSANARES *et al.* (2001, 2002) realizaram estudos citotaxonômicos em representantes do gênero *Lychnophora* Mart. *sensu* SEMIR (1991). Os dados obtidos por estes autores evidenciaram variação de números cromossômicos com $2n=34$, $2n=36$ e $2n=38$, sendo o número $2n=34$ o mais comum entre as espécies estudadas. Segundo MANSANARES *et al.* (2001, 2002), *L. ericoides* e *L. gardneri* (*sensu* SEMIR 1991) apresentaram números cromossomos distintos ($2n=34$ e $2n=36$, respectivamente), reforçando a distinção destas espécies, Ao contrário de COILE e JONES (1981), que consideravam apenas a existência de *L. ericoides*. Os números cromossômicos relatados para o gênero não parecem constituir-se em caracteres distintivos para o reconhecimento de grupos de espécies, pois distribuem-se pelas diversas seções. Entretanto, são caracteres muito importantes na diferenciação de algumas espécies, cujos limites são questionados por parte de vários taxonomistas (MANSANARES *et al.* 2002).

MANSANARES *et al.* (2001, 2002) observaram o primeiro caso de poliploidia para o gênero *Lychnophora*, em uma das populações da espécie *L. staavioides* Mart., cujo

número cromossômico encontrado foi de $n=34$, sendo, portanto, um tetraplóide com relação à base $x=17$. Os números cromossômicos observados por MANSANARES *et al.* (2002) sugerem que os números cromossômicos básicos para o gênero *Lychnophora* seguem a série diplóide $x=17, 18$ e 19 . Estes dados, juntamente com os já citados previamente em literatura, sugerem que a subtribo Lychnophorineae tenha quatro números cromossômicos básicos, $x=15, 17, 18$ e 19 (JONES 1982; ROBINSON 1996a; CARR *et al.* 1999; MANSANARES 2000, MANSANARES *et al.* 2002).

O presente estudo teve como objetivos ampliar o conhecimento de números cromossômicos de espécies pertencentes a quatro das seis seções de *Lychnophora*, e comparar tais resultados aos diferentes arranjos taxonômicos propostos para o gênero por COILE e JONES (1981), SEMIR (1991) e ROBINSON (1999). Também objetivou-se elaborar cariótipos de algumas espécies de *Lychnophora*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram analisadas dezoito espécies do gênero *Lychnophora* (Tabela 2.1). Todas as coletas foram realizadas em campos rupestres de várias regiões do estado de Minas Gerais, como Diamantina, Montes Claros e Grão Mogol, e da Bahia, em Rio de Contas (Figura 2.1). Para algumas espécies foram analisadas mais de uma população (*L. martiana*, *L. rosmarinifolia* e *L. villosissima*). Foram coletados e herborizados ramos florais e vegetativos seguindo técnicas usuais. Materiais-testemunho das espécies foram depositados no Herbário UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas).

Os materiais coletados foram analisados e identificados especificamente pelos

autores do trabalho e através de comparação com materiais do Herbário UEC, além da consulta de bibliografias sobre o gênero (COILE e JONES 1981; SEMIR 1991; ROBINSON 1999). A identificação das espécies de *Lychnophora* estudadas no presente trabalho e a sua inclusão em seções seguiu a conceituação de SEMIR (1991). Algumas dessas espécies (*L. angelae*, *L. cryptomerioides*, *L. grazielae*, *L. itacambirensis*, *L. mutica*, *L. nanuzae*, *L. prostrata* e *L. sobolifera*) ainda não foram validamente publicadas, sendo citadas somente por SEMIR (1991).

As lâminas para o estudo mitótico foram preparadas através da técnica de Giemsa (GUERRA 1983). As raízes pré-tratadas foram pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (8Hq) por cinco horas, a 15°C e fixadas em solução Carnoy (3 etanol: 1 ácido acético glacial), e posteriormente hidrolizadas em HCl 5N, em temperatura ambiente, por 20 minutos e lavadas em água destilada. Para a preparação das lâminas, as pontas de raízes foram dissecadas e esmagadas em uma gota de ácido acético 45% entre lâmina e lamínula. As lâminas foram retiradas após congelamento em nitrogênio líquido. Após secas, as lâminas foram coradas com solução de Giemsa 2% por 20 minutos. Em seguida, as lâminas foram lavadas em água destilada para que o excesso de corante fosse retirado. Após secas, as lâminas foram montadas com Entellan.

Para os estudos meióticos foram coletados botões florais de diversos tamanhos e fixados em solução de Carnoy por 24 horas; posteriormente os botões foram estocados em álcool 70%, a 4°C. As lâminas foram preparadas através da técnica de MEDINA e CONAGIN (1964), pelo esmagamento e coloração de anteras com carmim acético 1,2%. A lâmina foi ligeiramente aquecida e posteriormente esmagada entre dois papéis de filtro.

Contagens cromossômicas em mitose e meiose foram realizadas, em média, em

20 células por espécie/população, à exceção de *L. villosissima* (Pop01), para a qual foram analisadas 59 células na análise mitótica e 61 em meiose (Tabela 2.1).

Na elaboração dos ideogramas, os cromossomos foram desenhados em câmara clara e medidos com a ajuda de um micrômetro digital, fazendo-se a devida comparação com uma escala micrométrica ampliada na mesma proporção. Os cromossomos foram medidos pelo menos em dez células de cada espécie/população, sendo utilizada como padrão a média da medida de cada par, incluindo tamanho do cromossomo, posição centromérica e de constrições secundárias. A nomenclatura para a morfologia cromossômica adotada neste trabalho foi a de GUERRA (1986).

Para caracterização do cariótipo foram também utilizadas medidas como o CTC (comprimento total da cromatina), calculado através da somatória do tamanho individual de todos os cromossomos, o IC (índice centromérico) de cada par cromossômico, calculado dividindo-se o tamanho do braço curto do cromossomo pelo tamanho individual do cromossomo e multiplicando-se por 100, e o TF (índice de assimetria), através da soma de todos os índices centroméricos de cada par e dividindo-se pelo número de pares cromossômicos (HUZIWARA 1968).

Também foram calculados os índices de assimetria intracromossômica (A_1) e intercromossômica (A_2) segundo ZARCO (1986), indicados para análise de taxa relacionados que apresentam pequenas diferenças na assimetria cariotípica. A assimetria cariotípica intracromossômica (A_1) é dada pelas relações entre os braços cromossômicos. O índice de assimetria intercromossômico A_2 a variação no comprimento cromossômico, independente do número cromossômico.

Para a confecção dos ideogramas, optou-se pelo arranjo dos cromossomos pela forma e não pelo tamanho, seguindo os estudos anteriores de cariótipos para espécies

da tribo Vernonieae (DEMATTEIS 1996, 1998, 2002; DEMATTEIS e FERNÁNDEZ 1998, 2000).

A análise das lâminas foi feita através de observação em fotomicroscópio comum. Células em condições adequadas de espalhamento e condensação cromossômica foram documentadas em fotomicroscópio. As fotografias foram feitas em filme preto e branco Agfa Pan ISO 25.

3. RESULTADOS

Três números cromossômicos diferentes foram obtidos para as dezoito espécies de *Lychnophora* analisadas (*sensu* SEMIR 1991), $2n=34$, $2n=36$ e $2n=38$ (Tabela 4.2, Figuras 2.3, 2.4 e 2.5). Na seção *Lychnophora*, todos esses números cromossômicos foram obtidos, porém, $2n=36$ não foi observado nas demais seções analisadas neste estudo. Na seção *Lychnophorioides*, as três espécies apresentaram $2n=34$, enquanto nas duas espécies das seções *Lychnocephaliopsis* e *Chronopappus* houve constância de $2n=38$. O número $2n=34$ ($n=17$) foi obtido em cinco espécies, *L. angelae*, *L. granmogolensis*, *L. leucodendron*, *L. sincephala* e *L. prostrata*. O número cromossômico $2n=36$ ($n=18$) foi observado em dez espécies (*L. cryptomerioides*, *L. itacambirensis*, *L. martiana*, *L. nanuzae*, *L. ramosissima*, *L. rosmarinifolia*, *L. salicifolia*, *L. sobolifera*, *L. villosissima* e *L. uniflora*) e o $2n=38$ ($n=19$) apenas em três espécies, *L. grazielae*, *L. markgravii* e *L. mutica*. Nas espécies *Lychnophora nanuzae*, *L. prostrata* e *L. sincephala* foram observadas células com polissomatia cromossômica, isto é, células tetraplóides esporádicas em meio às células normais (Figura 2.6).

Em *L. villosissima*, na população 01, foram observadas células com número cromossômico variando entre $2n=36$, $2n=37$ e $2n=38$ (Figura 2.3D-F). Células de uma

mesma raiz apresentavam estes três números cromossômicos. Em três dentre dez das raízes observou-se apenas células com $2n=36$, uma apenas com $2n=37$, uma com $2n=38$, duas com $2n=37$, 38 , e três com $2n=36$, 37 e 38 . Este é o primeiro caso de variação numérica não relacionado a poliploidia registrado para *Lychnophora*, onde $2n=36$ é o número diplóide característico da espécie, enquanto $2n=37$ e $2n=38$ podem indicar aneuploidia (trissomia e tetrassomia, respectivamente) ou cromossomos B.

A análise dos ideogramas (Figura 2.2) e dos cariótipos (Tabela 2.3) revela algumas diferenças entre as espécies *Lychnophora markgravii*, *L. rosmarinifolia* e *L. uniflora* com relação ao tamanho e à morfologia cromossômica. O tamanho dos cromossomos variou de $1,10\mu\text{m}$ a $2,58\mu\text{m}$ nas três espécies, sendo um pouco maiores em *L. uniflora* (Tabela 2.3). O comprimento total de cromatina (CTC) é relativamente semelhante entre *L. markgravii* e *L. rosmarinifolia*, porém é maior em *L. uniflora*, apesar desta espécie apresentar número cromossômico igual ou menor que as demais.

Todas as espécies analisadas apresentam cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, porém em diferentes proporções, conforme pode ser resumido na fórmula cariotípica (Tabela 2.3). Os cromossomos são, em sua maioria, metacêntricos. Apesar das diferenças morfológicas, observou-se semelhança na simetria cariotípica, com valores de TF% praticamente idênticos (Tabela 2.3).

O índice de assimetria intracromossômico A_1 e intercromossômico (A_2) nas espécies de *Lychnophora* estudadas mostraram-se relativamente variáveis (Tabela 2.3), e a comparação dos mesmos parece ser útil na diferenciação das espécies analisadas. A análise gráfica dos resultados mostra que as espécies *L. uniflora* e *L. rosmarinifolia* apresentam alguma semelhança na assimetria cariotípica, porém *L. markgravii* é mais diferenciada (Figura 2.3).

4. DISCUSSÃO

As contagens cromossômicas são inéditas para quatorze das dezoito espécies de *Lychnophora* analisadas no presente trabalho (Tabela 2.2, Figuras 2.5 – 2.6), sendo que o número de espécies estudadas *sensu* SEMIR (1991) foi ampliado de 27,94% para 50%. Os números cromossômicos obtidos aqui coincidem com os anteriormente descritos para outras espécies do gênero: $2n=34$, $2n=36$ e $2n=38$ (COILE e JONES 1981; JONES 1982; CARR *et al.* 1999; MANSANARES 2000; MANSANARES *et al.* 2001, 2002), além dos outros gêneros da subtribo Lychnophorinae. Sendo assim, pode-se sugerir que das espécies de *Lychnophora* atualmente conhecidas citologicamente, onze apresentam $n=17$ ($2n=34$), treze têm $n=18$ ($2n=36$) e oito têm $n=19$ ($2n=38$).

Para as espécies *L. tomentosa* e *L. candelabrum* são citados dois números cromossômicos, ambos com $n=17$ ($2n=34$) por COILE e JONES (1981) e $2n=38$ e 36 , respectivamente, por MANSANARES *et al.* (2001, 2002). Essa diferença nos resultados confirma a necessidade da análise do maior número possível de células, utilizando, quando possível, o maior número de populações, dado que contagens e identificações errôneas trazem inúmeras incertezas na interpretação dos dados.

Um bom exemplo é a espécie *L. granmogolensis*, tratada por CARR *et al.* (1999) como *L. phylicipholia* (veja MANSANARES *et al.* 2002). O número cromossômico anteriormente relatado foi $2n=18+2B$, incomum para o grupo. Por outro lado, o número cromossômico encontrado para *L. granmogolensis* no presente trabalho foi de $2n=34$ o qual concorda com os dados registrados em literatura para outras espécies de *Lychnophora* (COILE e JONES 1981; JONES 1982; MANSANARES *et al.* 2001). Neste caso,

há um duplo erro, na contagem cromossômica e na identificação taxonômica.

As espécies *Lychnophora mutica*, *L. prostrata* e *L. salicifolia* também foram revistas no presente trabalho, e os dados cromossômicos obtidos aqui corroboram os previamente citados por MANSANARES *et al.* (2001, 2002). Para as espécies *L. mutica* e *L. prostrata* haviam sido reportadas apenas contagens meióticas (MANSANARES *et al.* 2001, 2002), sendo estes números cromossômicos confirmados através de registros em mitose. Já para a espécie *L. salicifolia*, para a qual existiam tanto registros meióticos quanto mitóticos (MANSANARES *et al.* 2001, 2002), o número cromossômico foi confirmado pela análise de uma segunda população.

Das seis seções consideradas previamente por SEMIR (1991) para o gênero *Lychnophora*, representantes de três seções (*Lychnophora*, *Lychnophoriopsis* e *Lychnocephaliopsis*) foram analisados previamente por MANSANARES *et al.* (2001, 2002). No presente estudo, representantes de mais duas seções (*Lychnophorioides* e *Chronopappus*) passaram a ser conhecidos citologicamente.

Dentre as vinte e cinco espécies da seção *Lychnophora*, há números cromossômicos conhecidos para vinte e duas. Essa seção agregou a maioria das espécies do gênero com $2n=34$, destacando-se o reestudo de *L. granmogolensis* e de *L. prostrata* no presente trabalho (Figuras 2.4A e 2.5C). Outros números cromossômicos foram obtidos, como $2n=36$ observado na maioria das espécies, relatado previamente para três espécies, *L. gardneri*, *L. pohlii* e *L. salicifolia* e para mais nove neste estudo, *L. cryptomerioides*, *L. itacambirensis*, *L. martiana*, *L. nanuzae*, *L. ramosissima*, *L. rosmarinifolia*, *L. sobolifera*, *L. villosissima* e *L. uniflora*. O número $2n=38$ ($n=19$) foi obtido em *L. pseudovillosissima* e *L. mutica*, estudadas por MANSANARES *et al.* (2001, 2002).

Das vinte e cinco espécies propostas por SEMIR (1991) para a seção *Lychnophorioides*, apenas três foram aqui analisadas, *L. angelae*, *L. leucodendron* e *L. sincephala*. Para todas as espécies desta seção até o presente analisadas, o número cromossômico $2n=34$ parece ser consistente (Figuras 2.5 e 2.6).

Para as oito espécies da seção *Lychnocephaliopsis*, já eram conhecidos dois números cromossômicos diferentes, $2n=38$ e $2n=36$ (MANSANARES *et al.* 2001, 2002), em cinco delas (Tabela 2.2). No presente trabalho, a espécie *L. graziae* foi analisada, tendo sido observado o número cromossômico $2n=38$ ($n=19$), assim como na maioria das espécies previamente analisadas.

A seção *Chronopappus* é composta por duas espécies, das quais a espécie *L. markgravii* foi aqui estudada, tendo sido obtido o número cromossômico $2n=38$.

Em pelo menos quatro das seções de *Lychnophora sensu* SEMIR (1991), os números cromossômicos observados ocorrem distribuídos entre suas espécies, não parecendo até o momento, constituir-se em caracteres importantes para serem usados para segregá-las em gêneros distintos, conforme proposta de MACLEISH (1984), HIND (2000a) e ROBINSON (1982a, 1999). Constância de número cromossômico ($2n=34$) parece ocorrer apenas na seção *Lychnophorioides*, embora tenham sido analisadas apenas três dentre as 25 espécies propostas por SEMIR (1991).

Se por um lado, a variação cromossômica numérica não permite a caracterização ou distinção entre as seções de *Lychnophora*, espécies podem ser diferenciadas mediante a comparação dessa característica. Como exemplo, tem-se o conjunto de espécies *L. ericoides*, *L. pinaster*, *L. gardneri* e *L. pseudovillosissima*. COILE e JONES (1981) sinonimizaram todas estas espécies sob *Lychnophora ericoides*, porém SEMIR (1991) decidiu pela individualidade de cada uma delas. *L. pinaster* e *L. ericoides*

apresentam $2n=34$, sendo diferenciadas, segundo SEMIR (1991) pelo hábito, indumento e atributos foliares. *Lychnophora ericoides* e *L. pinaster* têm uma semelhança aparente com a espécie nova proposta por SEMIR (1991), *L. pseudovillosissima*. De fato, esta espécie apresenta consistentemente as folhas bem finas e compridas, semelhantes às exibidas nos dois taxa acima citados. Entretanto, esta semelhança é, de acordo com SEMIR (1991), apenas aparente, uma vez que *L. pseudovillosissima* apresenta folhas pecioladas e as outras duas espécies não. Esta diferença morfológica é reforçada pelo número cromossômico distinto de *L. pseudovillosissima*, $2n=38$ (MANSANARES 2000 e MANSANARES *et al.* 2002). Com relação a *L. gardneri*, o número cromossômico ($2n=36$) é distinto em relação às outras três espécies e, segundo SEMIR (1991), não têm muitas afinidades quando se comparam caracteres morfológicos.

As espécies *Lychnophora passerina* e *L. ramosissima* foram consideradas por COILE e JONES (1981) sob *Haplostephium passerina*. No entanto, SEMIR (1991) incluiu estas duas espécies novamente em *Lychnophora*, considerando-as duas entidades taxonômicas distintas. Este autor diferenciou-as principalmente por caracteres foliares, como por exemplo, em *L. ramosissima* as lâminas foliares são sempre menores, com forma curta e oval e com ápice subpungente, enquanto *L. passerina* apresenta folhas sempre maiores, lineares e ápice curto, e nunca pungente. Neste trabalho foi obtido o número cromossômico de $2n=36$ para *L. ramosissima*, enquanto MANSANARES *et al.* (2001, 2002) obtiveram $2n=34$ para *L. passerina*. Estes resultados, juntamente com as considerações morfológicas e taxonômicas discutidas por SEMIR (1991), reforçam a posição taxonômica deste autor.

A polissomatia cromossômica observada em *Lychnophora nanuzae*, *L. prostrata* e *L. sincephala* é freqüente em meristemas radiculares de diversos grupos de plantas,

como em Leguminosae (BERGER *et al.* 1958). SCHEREIBER (1966) denominou o fenômeno da variação da ploidia durante a histogênese de endoploidia, que pode ser caracterizado pela multiplicação repetida dos genomas, sem que se realize a divisão do núcleo e da célula. A ocorrência de mosaicismos cromossômicos numéricos origina-se de fenômenos citológicos como redução somática, não disjunção, eliminação de cromossomos, duplicação do conjunto cromossômico, divisão assincrônica dos centrômeros, sendo registrada para um grande número de espécies. Embora os mecanismos e os fatores responsáveis não sejam bem estudados, parece que este fenômeno está freqüentemente associado com hibridização, poliploidia e tratamentos químicos (RAO e NIRMALA 1986).

Os diferentes números cromossômicos, $2n=36$, $2n=37$ e $2n=38$ obtidos na população *Pop01* de *L. villosissima* (seção *Lychnophora*), podem ser associados à ocorrência de aneuploidia/displóidia. Para as outras populações (*Pop02* e *Pop03*), o número cromossômico obtido foi constante e igual a $2n=36$. Aneuploidia/displóidia é um fenômeno comum em plantas, e ocorre pela perda ou ganho de um ou de poucos cromossomos. Na displóidia, não há alteração na quantidade de DNA do genótipo, o que ocorre na aneuploidia. O número cromossômico resultante não é um múltiplo exato do número básico dos verdadeiros diplóides, e geralmente muitas espécies vegetais, particularmente as formas selvagens, podem tolerar poucos cromossomos adicionais (STEBBINS 1971; MALALLAH *et al.* 2001). A aneuploidia/displóidia surge principalmente de desvios meióticos ou mitóticos espontâneos ou em resposta a tratamentos químicos ou radiação (STEBBINS 1971; MALALLAH *et al.* 2001). Este é um importante fenômeno não somente em estudos citogenéticos, mas também devido a seu provável papel no mecanismo de especiação (STEBBINS 1971). A aneuploidia desempenhou papel

importante na diferenciação das espécies de *Lychnophora* (MANSANARES *et al.* 2002).

A variação cromossômica observada em *L. villosissima* também pode ser interpretada como presença de cromossomos B em adição ao complemento diplóide, de $2n=36$. A origem e desenvolvimento dos cromossomos B são discutidos por FREGONEZI *et al.* (2004) e por vários outros autores, que sugerem que estes surjam a partir do complemento A, através de mecanismos como a fragmentação cromossômica, amplificação de DNA e introgressão através da hibridação interespecífica. Populações naturais de muitas espécies de plantas contêm cromossomos B, que são, na maioria das vezes heterocromáticos.

Os cariótipos das três espécies aqui analisadas, *L. markgravii*, *L. rosmarinifolia* e *L. uniflora*, apresentaram diferenças quanto ao número, tamanho e forma dos cromossomos e em alguns parâmetros deles resultantes. O tamanho individual dos cromossomos e o comprimento total da cromatina (CTC) mostraram-se diferentes entre as três espécies. *L. uniflora* (seção *Lychnophora*), com $2n=36$ apresenta um CTC muito superior ($68,68\mu\text{m}$), inclusive em relação a *L. markgravii* (seção *Chronopappus*), que apresenta um par de cromossomos a mais ($2n=38$, $\text{CTC}=61,50\mu\text{m}$).

As três espécies analisadas apresentam cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, porém em diferentes proporções. O predomínio de metacêntricos concorda com os dados disponíveis em literatura para a tribo Vernonieae (RUAS *et al.* 1991, DEMATTEIS 1996, 1998, 2002; DEMATTEIS e FERNÁNDEZ 1998, 2000). Apesar desta diferença, o índice de assimetria TF% é praticamente igual nas espécies. Com relação aos índices de assimetria intracromossômico (A_1) e intercromossômico (A_2), que são utilizados preferencialmente quando não existem grandes diferenças nos cariótipos, pode-se verificar uma pequena diferença entre os cariótipos das três espécies.

A relação entre os índices de assimetria intracromossômica (A_1) e intercromossômica (A_2) de todas as espécies analisadas (Figura 2.3) mostra pequena diferenciação entre as espécies *L. uniflora* e *L. rosmarinifolia*. Entretanto, *L. markgravii* apresenta assimetria cariotípica mais diferenciada em relação às outras duas espécies analisadas (Figura 2.3). Estes resultados são bastante interessantes, pois *L. markgravii* pertence à seção *Chronopappus*, enquanto as outras duas estão na seção *Lychnophora*. As duas espécies desta seção são diferenciadas das demais por uma série de caracteres foliares e da inflorescência. As folhas são amplexicaules, com lâminas com as maiores dimensões avaliadas para as espécies do gênero. As inflorescências, embora mantenham o padrão básico de glomérulos de capítulos, estes estão distribuídos ao longo dos ramos, constituindo panículas até espigas de glomérulos simples ou compostos, tratando-se de características únicas em *Lychnophora* (SEMIR 1991).

Apesar das diferenças em alguns parâmetros cariotípicos, estes dados cromossômicos não parecem dar um amplo subsídio para a taxonomia deste grupo. Isso se deve ao fato de que os cromossomos são pequenos, e as diferenças morfológicas não são prontamente detectadas mediante a análise de uma ou poucas células de cada espécie, mas são ressaltadas apenas pela comparação de valores médios, resultantes de uma maior amostragem. Entretanto, o conjunto de caracteres (número, tamanho e posição centromérica) pode ser útil na caracterização e distinção de espécies cuja morfologia externa (caracteres vegetativos e reprodutivos) seja muito parecida.

Através da análise dos resultados obtidos neste trabalho e das comparações com os previamente citados em literatura (Tabela 2.2), pode-se sugerir que a subtribo

Lychnophorinae tem quatro números básicos, $x = 15, 17, 18$ e 19 , sendo o gênero *Lychnophora* representado por $x=17, 18$ e 19 (MANSANARES *et al.* 2001, 2002). Pode-se sugerir também que o mecanismo pelo qual as variações cromossômicas ocorrem no gênero *Lychnophora* é a aneuploidia ou disploidia.

O modelo de evolução cariotípica em Vernonieae, tribo a qual pertence o gênero *Lychnophora*, sugere que os representantes do Velho Mundo estão baseados em $x=9$ e 10 enquanto os neotropicais em $x=17$ (JONES 1974, 1979; MATHEW e MATHEW 1976; TURNER *et al.* 1979; GALIANO e HUNZIKER 1987; RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1996, 1998, 2002; DEMATTEIS e FERNÁNDEZ 1998, 2000). Algumas espécies de Vernonieae do Novo Mundo podem ter surgido pela duplicação de uma espécie com $n=9$ para $n=18$, e então derivada por aneuploidia/displóidia a partir deste poliplóide, originando o número $n=17$, amplamente conhecido entre as Vernonieae neotropicais. Por outro lado, os dados cromossômicos para as espécies de Vernonieae paleotropicais revelam a existência de poucos poliplóides. BREMER (1994), baseando-se no trabalho de JONES (1977) e de JEFFREY (1988), sugere que o número básico $x=17$ encontrado nas espécies americanas da tribo Vernonieae é apomórfico em comparação à tribo Liabeae. Esta tribo, por sua vez é considerada a mais próxima de Vernonieae (BREMER 1994). Em Liabeae, $x=9$ prevalece, como nas espécies de Vernonieae do Velho Mundo.

Tabela 2.1- Espécies e populações de *Lychnophora* (subtribo Lychnophorinae) analisadas com as respectivas localidades e materiais-testemunho.

ESPÉCIES	LOCAL	POPULAÇÃO	NÚMERO DE COLETOR
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Lychnophora</i>			
<i>L. cryptomerioides</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Diamantina	Pop01	Mansanares et al. 163
<i>L. granmogolensis</i> (A.P.Duarte) Semir e Leitão Filho (inéd.)	BA, Rio de Contas	Pop01	Moraes e Aona MDM452
<i>L. itacambirensis</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Itacambira	Pop01	Mansanares et al. 266
<i>L. martiana</i> Gard.	MG, Juramento	Pop01	Mansanares et al. 180
	MG, Montes Claros	Pop02	Semir e Duthil s/nº
<i>L. mutica</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Santana do Riacho	Pop01	Mansanares e Kinoshita 270
<i>L. nanuzae</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Diamantina	Pop01	Mansanares et al. 143
<i>L. prostrata</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Diamantina	Pop01	Mansanares et al. 00/26
<i>L. ramosissima</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Diamantina	Pop01	Mansanares et al. 171
<i>L. rosmarinifolia</i> Mart.	MG, Diamantina	Pop01	Mansanares et al. 00/29
	MG, Diamantina	Pop02	Mansanares et al. 00/36
<i>L. salicifolia</i> Mart.	MG, Juramento	Pop01	Mansanares et al. 191
<i>L. sobolifera</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Diamantina	Pop01	Mansanares et al. 110
	MG, Diamantina	Pop01	Mansanares et al. 00/23
<i>L. villosissima</i> Mart.	MG, Diamantina	Pop02	Mansanares et al. 00/37
	MG, Diamantina	Pop03	Mansanares et al. 00/93
<i>L. uniflora</i> Schultz-Bip.	BA, Rio de Contas		Moraes e Aona MDM 508
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Lychnophorioides</i>			
<i>L. angelae</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Serra do Cipó	Pop01	Mansanares e Verola 377
<i>L. leucodendron</i> (Mattf.) Semir e Leitão Filho (inéd.)	BA, Rio de Contas	Pop01	Moraes e Aona MDM 503
	BA, Rio de Contas	Pop02	Moraes e Aona MDM521
<i>L. sincephala</i> Gard.	MG, Diamantina	Pop01	Mansanares et al.232
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Lychnocephaliopsis</i>			
<i>L. grazielae</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Serra do Cipó	Pop01	Mansanares e Verola376
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Chronopappus</i>			
<i>L. markgravii</i> G.M. Barroso	MG, Grão Mogol	Pop01	Aona 701

Tabela 2.2 – Números cromossômicos para espécies de *Lychnophora*, incluindo os citados anteriormente em literatura para as espécies da subtribo Lychnophorinae; (: contagens inéditas).

ESPÉCIE	n	2n	REFERÊNCIA
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Lychnophora</i>			
<i>L. cryptomerioides</i> Semir e Leitão (inéd.)*	18	36	Presente trabalho
<i>L. diamantinana</i> Coile e Jones	17	-	Coile e Jones, 1981
	17	34	Mansanares et al. 2002
<i>L. ericoides</i> Mart.	17	-	Coile e Jones, 1981
	-	34	Mansanares et al. 2002
<i>L. gardneri</i> Sch. Bip.	-	36	Mansanares et al. 2002
<i>L. granmogolensis</i> (A.P.Duarte) Semir e Leitão (inéd.)		18+B	Carr et al., 1999
		34	Presente trabalho
<i>L. itacambirensis</i> Semir e Leitão (inéd.)*	18	36	Presente trabalho

(Tabela 2.2 continua)

ESPÉCIE	n	2n	REFERÊNCIA
<i>L. martiana</i> Gard.*	-	36	Presente trabalho
<i>L. mutica</i> Semir e Leitão (inéed.)	ca.19	-	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. nanuzae</i> Semir e Leitão (inéed.)*	-	38	Presente trabalho
<i>L. passerina</i> (Mart. ex DC.) Gardner	-	36	Presente trabalho
<i>L. pinaster</i> Mart.	17	34	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. pohlii</i> Sch. Bip.	17	-	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. prostrata</i> Semir e Leitão (inéed.)	18	-	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. pseudovillosissima</i> Semir e Leitão (inéed.)	17	-	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. ramosissima</i> Mart.*	-	34	Presente trabalho
<i>L. rosmarinifolia</i> Mart.*	-	38	Presente trabalho
<i>L. rupestris</i> Semir e Leitão (inéed.)	-	36	Presente trabalho
<i>L. salicifolia</i> Mart.*	17	34	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. sobolifera</i> Semir e Leitão Filho (inéed.)*	18	36	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. staavioides</i> Mart.	-	36	Presente trabalho
<i>L. villosissima</i> Mart.*	18	34	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. uniflora</i> Schultz-Bip.*	18	36	Presente trabalho
<i>L. uniflora</i> Schultz-Bip.*	-	36	Presente trabalho
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Lychnophorioides</i>			
<i>L. angelae</i> Semir e Leitão Filho (inéed.)*	17	-	Presente trabalho
<i>L. leucodendron</i> (Mattf.) Semir e Leitão (inéed.)*	-	34	Presente trabalho
<i>L. sincephala</i> (Sch. Bip.) Sch. Bip.*	-	34	Presente trabalho
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Chronopappus</i>			
<i>L. markgravii</i> G.M. Barroso*		38	Presente trabalho
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Lychnocephaliopsis</i>			
<i>L. cipoensis</i> Semir e Leitão (inéed.)	19	38	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. grazielae</i> Semir e Leitão Filho (inéed.)*	19	-	Presente trabalho
<i>L. joliana</i> Semir e Leitão (inéed.)	18	36	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. mello-barretoii</i> G.M.Barroso	19	38	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. sellowii</i> Sch. Bip.		38	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>L. tomentosa</i> (Mart. ex DC.)Sch.Bip.	17	-	Coile e Jones, 1981
	19	38	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Lychnophoriopsis</i>			
<i>L. heterotheca</i> (Sch.Bip.) Coile e Jones (=L. <i>candelabrum</i> Sch. Bip.)	17		Coile e Jones, 1981
<i>L. candelabrum</i> Sch. Bip.	-	36	Mansanares <i>et al.</i> 2002
<i>Eremanthus</i>			
<i>E. eleagnus</i> Sch.Bip.	15	-	Turner <i>et al.</i> 1979
<i>E. reflexo auriculatus</i> Barroso (<i>L. reflexoauriculata</i>)		36	Jones 1982
<i>Minasia</i>			
<i>M. alpestris</i>	17	-	Dematteis 1998

Tabela 2.3 - Números cromossômicos, fórmulas cariotípicas, variação do tamanho cromossômico dentro da espécie, CTC e TF%, A₁: índice de assimetria intracromossômica, A₂: índice de assimetria intercromossômica das espécies de *Lychnophora* analisadas.

ESPÉCIE	2n	FÓRMULA CARIOTÍPICA	VARIAÇÃO DE TAMANHO (μm)	CTC (μm)	TF %	A ₁	A ₂
<i>L. markgravii</i>	38	20m+18sm	1,14-2,23	61,50	41,26	0,047	0,158
<i>L. rosmarinifolia</i>	36	30m+6sm	1,10-2,10	54,88	42,34	0,063	0,152
<i>L. uniflora</i>	36	24m+12sm	1,30-2,58	68,69	41,35	0,062	0,168

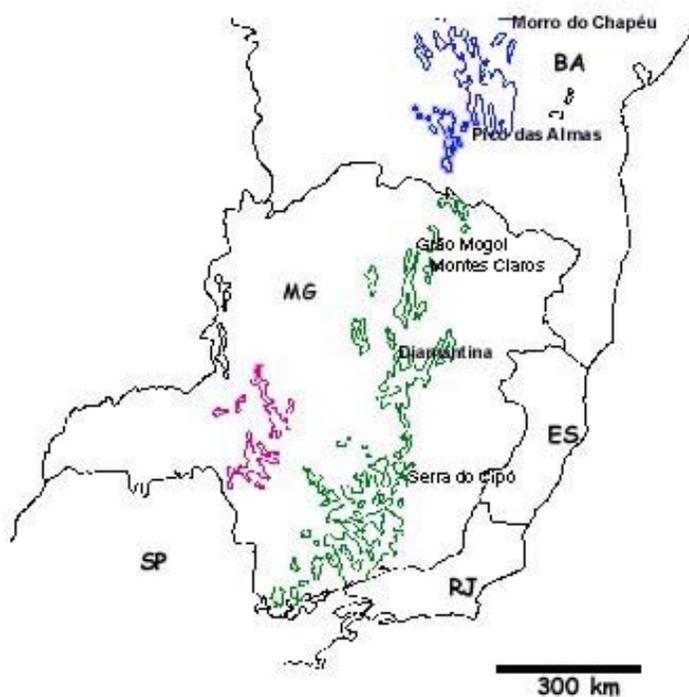


Figura 2.1- Mapa com as regiões de coleta das espécies de *Lychnophora*. (Mapa: cortesia E. L. Borba).

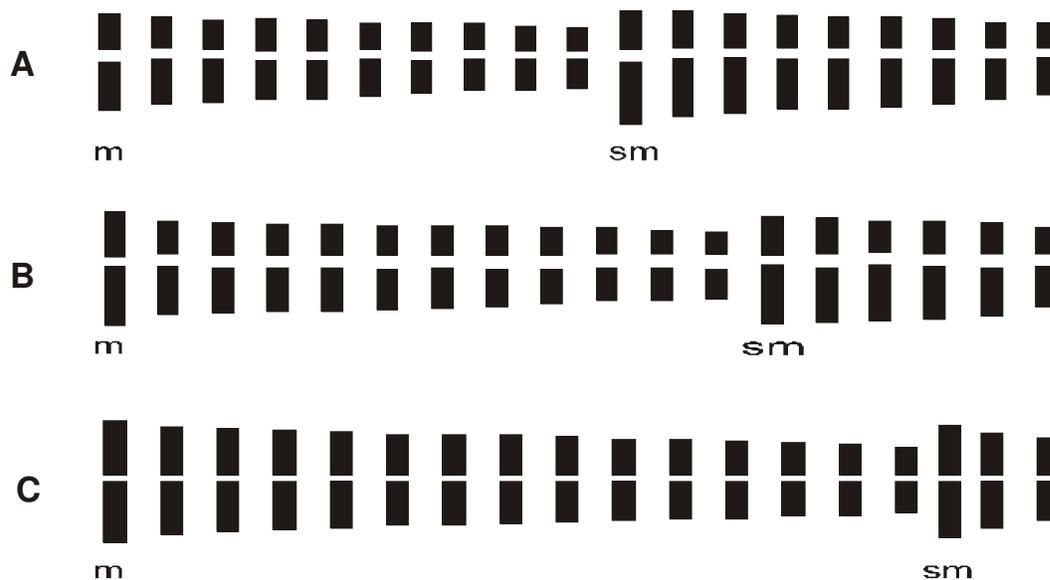


Figura 2.2 – Ideogramas de espécies de *Lychnophora*. **A:** *L. markgravii*, $2n=38$, $10m+9sm$. **B:** *L. rosmarinifolia* (Pop01), $2n=36$, $15m+3sm$. **C:** *L. uniflora*, $2n=36$, $12m+6sm$. (m = metacêntrico; sm = submetacêntrico).

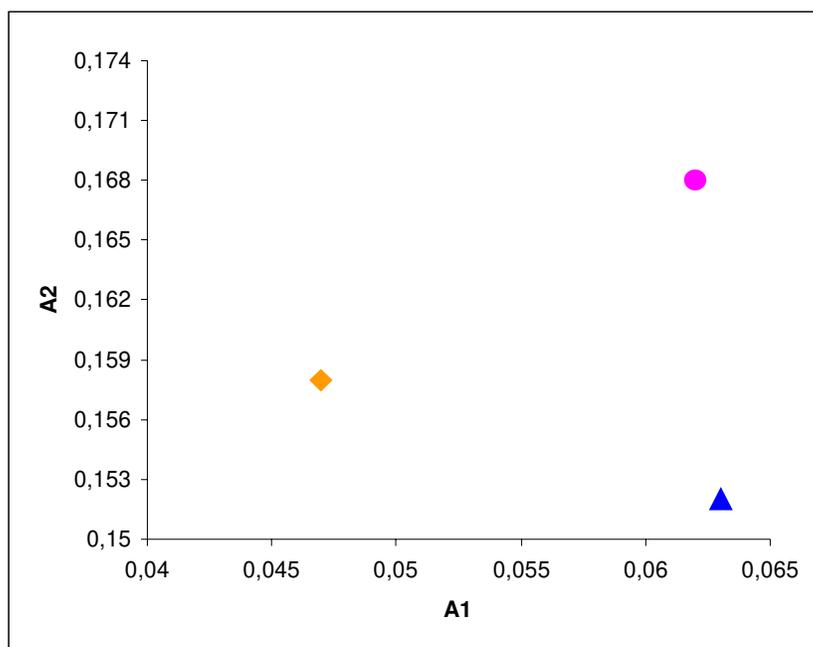


Figura 2.3: Assimetria cariotípica para as espécies de *Lychnophora* estudadas, seguindo metodologia de Zarco (1986): ▲ *L. rosmarinifolia*; ● *L. uniflora* e ◆ *L. markgravii*.

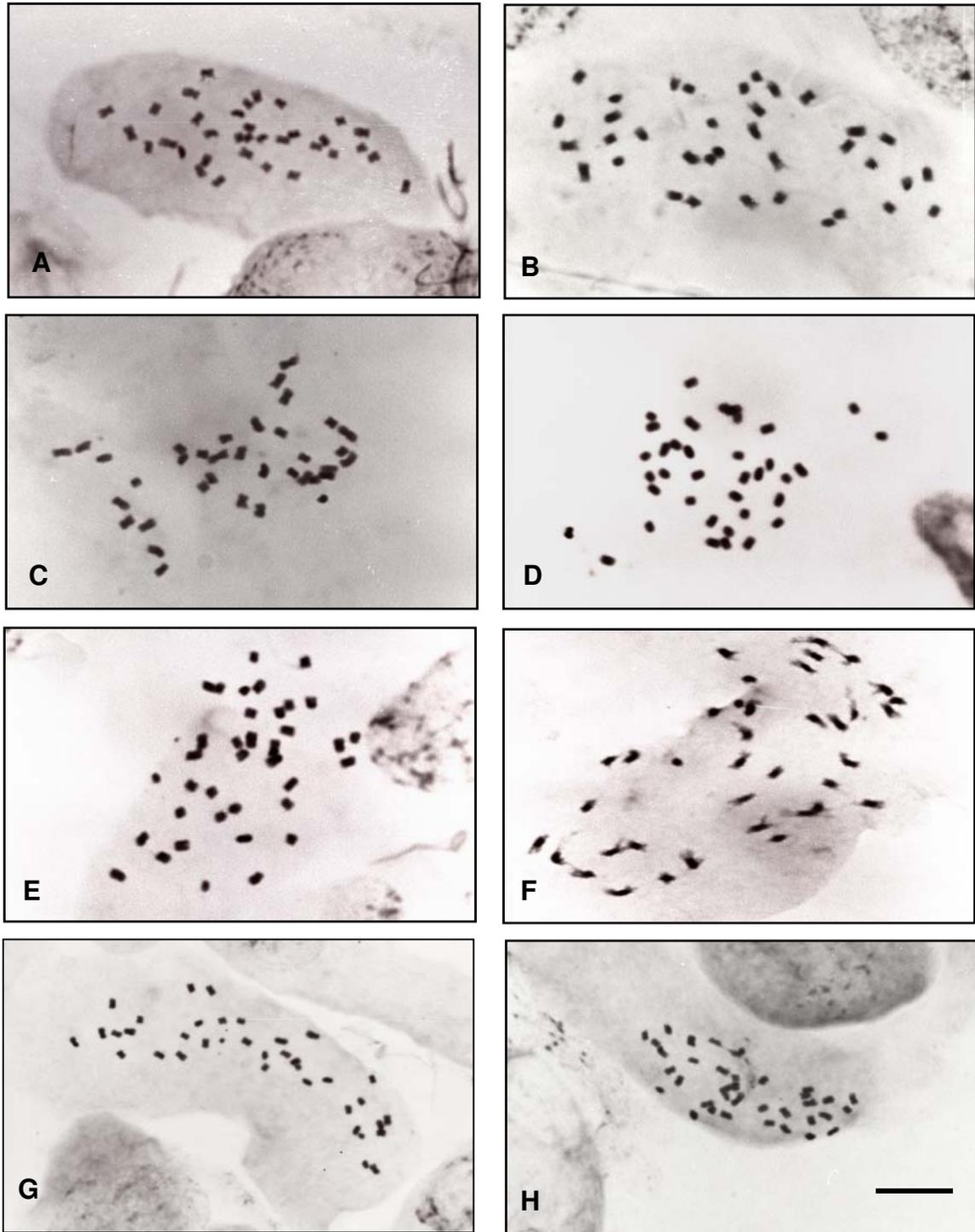


Figura 2.4 - Metáfases mitóticas em espécies de *Lychnophora*: **A** - *L. granmogolense*, $2n=34$; **B** - *L. rosmarinifolia*, $2n=36$; **C** - *L. villosissima*, Pop02, $2n=36$; **D** - *L. villosissima* Pop01, $2n=36$; **E**- *L. villosissima* Pop01, $2n=37$; **F** - *L. villosissima* Pop01, $2n=38$; **G** - *L. cryptomerioides*, $2n=36$; **H** - *L. nanuzae*, $2n=34$. Barra = $10\mu\text{m}$.

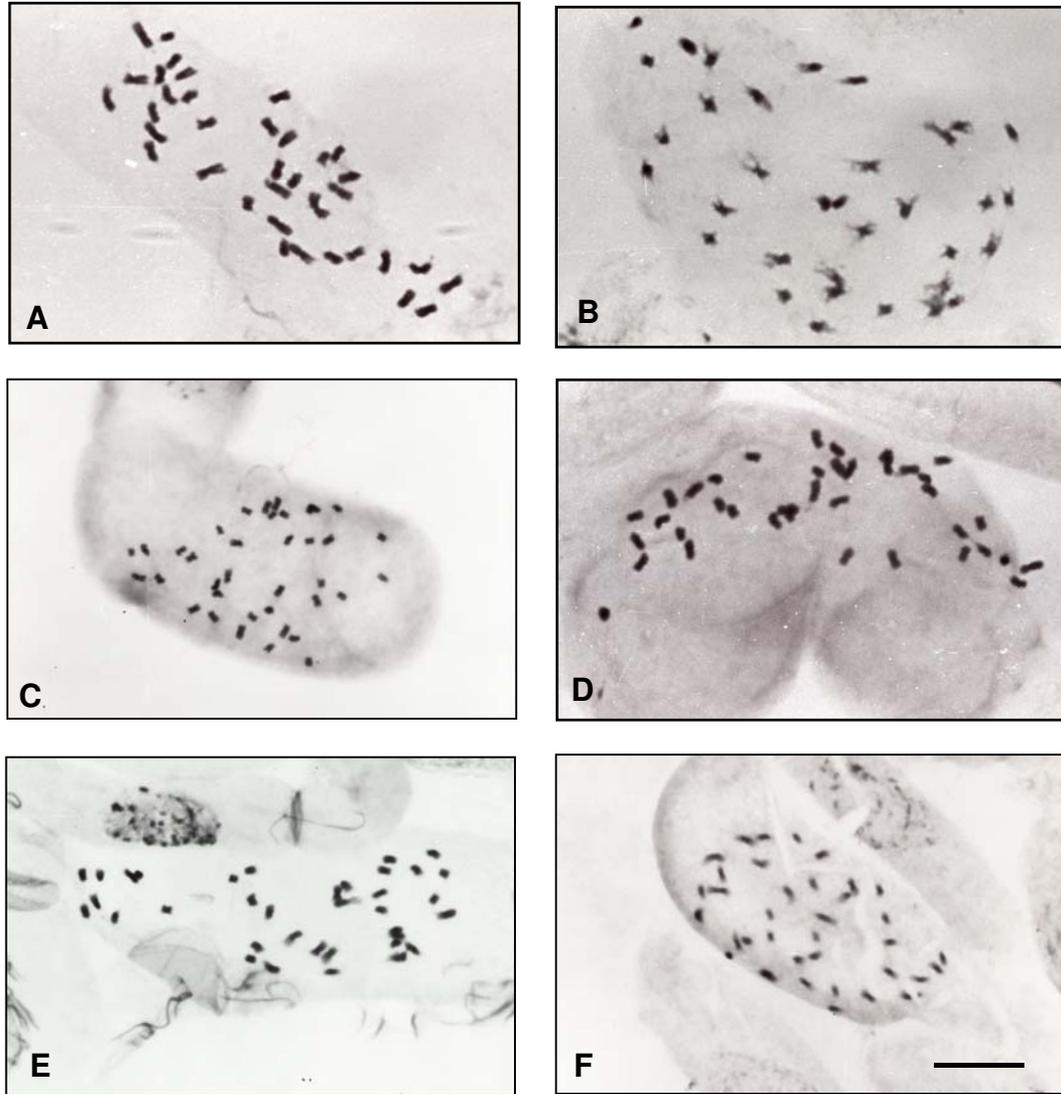


Figura 2.5 - Metáfases mitóticas em espécies de *Lychnophora*: **A** – *L. uniflora*, $2n=36$; **B** – *L. leucodendron*, $2n=34$; **C** – *L. mutica*, $2n=38$; **D** – *L. markgravii*, $2n=38$; **E**- *L. martiana*, $2n=36$; **F**- *L. itacambirensis*, $2n=36$. Barra = $10\mu\text{m}$.

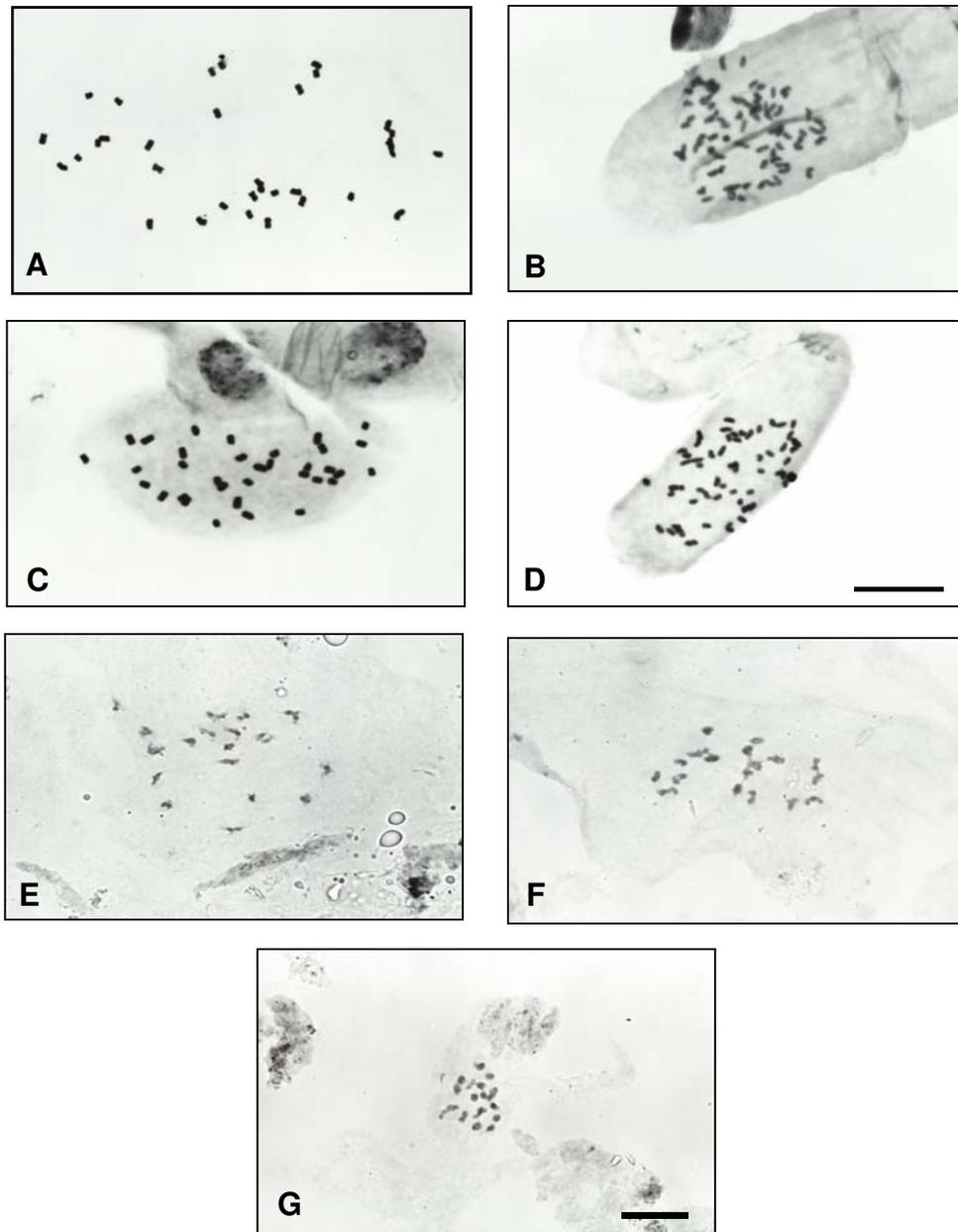


Figura 2.6 - Metáfases mitóticas em espécies de *Lychnophora*: **A** – *L. syncephala*, 2n=34; **B** – *L. syncephala*, polissomatia; **C** – *L. prostrata*, 2n=34; **D** – *L. prostrata*, polissomatia. Barra = 10µm. Metáfases meióticas em espécies de *Lychnophora*; **E** – *L. ramosissima*, n=18; **F** - *L. sobolifera*, n=18; **G** – *L. angelae*, n=17. Barra = 10µm.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERGER, C.A.; WITKUS, E.R. e MCMAHON, R.M. 1958. *Citotaxonomic studies in Leguminosae*. **Bull. Torrey Bot. Club** 85: 405-410.
- BREMER, K. 1994. *Asteraceae – Cladistic e Classification*. Portland, Oregon, Timber Press., pp 752.
- BRIGGS, D. e WALTERS, S.M. 1997. *Plant variation and evolution*. 3^a ed. London, Cambridge University Press., pp 512.
- CARR, G.D.; KING, R.M.; POWELL, A.M. e ROBINSON, H. 1999. *Chromosome numbers in Compositae, XVIII*. **Amer. J. Bot.**, 86(7): 1003-1013.
- COILE, N.C. e JONES JR., S.B. 1981. *Lychnophora (Compositae: Vernonieae), a endemic genus to the Brazilian planalto*. **Brittonia**, 33: 528-542.
- DEMATTEIS, M. 1996. *Estudios cromosomicos en especies Argentinas de Vernonia (Asteraceae)*. **Bonplandia**, 9(1-2): 103-110.
- DEMATTEIS, M. 1998. *Chromosome studies of some Vernonia species (Asteraceae)*. **Genet. Mol. Biol.**, 21: 381-385.
- DEMATTEIS, M. 2002. *Cytotaxonomic analysis of South American species of Vernonia (Vernonieae: Asteraceae)*. **Bot. Jour. Linn. Soc.**, 139:401-408.
- DEMATTEIS, M. e FERNÁNDEZ, A. 1998. *Karyotypes of Seven South American Species of Vernonia (Vernonieae, Asteraceae)*. **Cytologia**, 63:323-328.
- DEMATTEIS, M. e FERNÁNDEZ, A. 2000. *Chromosome studies on nine South American species of Vernonia (Vernonieae, Asteraceae)*. **Caryologia**, 53(1): 55-61.
- FREGONEZI, J.N., TOREZAN, J.M.D. e VANZELA, A.L.L. 2004. *Different B-chromosomes in Cestrum intermedium and C. strigilatum evidenced by chromosome banding*. **Cytogenet. Genome Res.**, 106 (2-4): 184 – 188.
- GALIANO, N.G. e HUNZIKER, J.H. 1987. *Estudios cariologicos en Compositae, IV. Vernonieae y Eupatorieae*. **Darwiniana**, 28(1-4): 1-8.
- GIULIETTI, A.M. e PIRANI, J.R. 1988. *Patterns of geografic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil*. **Acad. Brasil. Ciências**, 39-69.
- GRANT, V. 1981. *Plant Speciation*. New York, Columbia Univ. Press.
- GUERRA, M. 1983. *O uso de Giemsa na citogenética vegetal - comparação entre a coloração simples e o bandeamento*. **Ciência e Cultura**, 35: 190-193.

- GUERRA, M. 1986. *Reviewing the chromosome nomenclature of Levanet al.* **Rev. Brasil. Genet.** 9:741-743.
- GUERRA, M. 1988. *Introdução à Citogenética Geral.* Rio de Janeiro, Guanabara.
- HIND, D.J.N. 1995. *Paralychnophora: Compositae.* In: B.L. STANNARD (ed.), *Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil.* Kew, **Royal Bot. Gard.** 193-194.
- HIND, D.J.N. 2000a. *Two new species of Paralychnophora (Compositae: Vernonieae) from Bahia, Brazil.* **Kew Bull.**, 55: 367-379.
- HIND, D.J.N. 2000b. *A new species of Lychnophora (Compositae: Vernonieae: Lychnophorinae) from Bahia, Brazil.* **Kew Bull.**, 55: 393-397.
- HUZIWARA, Y. 1968. *Karyotype evolutions in higher plants.* **Japan. J. Genet.**, 43(6): 454-&.
- JEFFREY, C. 1988. *The Vernonieae in East Tropical Africa; notes on Compositae, V.* **Kew Bull.**, 43: 195-277.
- JONES, S.B. 1974. *Vernonieae (Compositae) chromosome numbers.* **Bull. Torrey Bot. Club**, 101: 31-34.
- JONES, S.B. 1977. *Vernonieae - systematic review:* In: Heywood, V.H., Harbone, J.B. e Turner, B.L. (eds.). *The biology and Chemistry of the Compositae.* London, Academic Press, 1: 503-521.
- JONES, S.B. 1979. *Chromosome numbers of Vernonieae (Compositae).* **Bull. Torrey Bot. Club**, 106(2): 79-84.
- JONES, S.B. 1982. *IOPB Chromosome numbers reports LXIV.* **Taxon**, 31: 126-127.
- KRUCKEBERG, A.R. E RABINOWITZ D. 1985. *Biological aspects of endemism in higher plants.* **Amer. Rev. Ecol. Syst.** 16:447-479.
- LEWIS, H. 1972. *The origin of endemism in the California flora.* In: Valentine, d.h. (ed.) *Taxonomy, Phylogeography and Evolution.* London, Academic Press.
- MACLEISH, N.F.F. 1984. *Argyrovernonia and Paralychnophora: new names in the tribe Vernonieae (Asteraceae / Compositae).* **Taxon** 33: 105-106.
- MACLEISH, N.F.F. e SCHUMACHER, H. 1984. *Six new species of Eremanthus (Vernonieae: Compositae) from Brazil.* **Syst. Bot.** 9: 85-95.
- MACLEISH, N.F.F. 1987. *Revision of Eremanthus (Compositae: Vernonieae).* **Ann. Missouri Bot. Gard.** 74: 265-290.

- MALALLAH, G.A.; ATTIA, T.A. e MASOOD, M. 2001. *Aneuploidy in wild Picris babylonica (Asteraceae) in Kuwait*. **Cytologia**, 66: 241-246.
- MANSANARES, M.E. 2000. *Estudo citotaxonômico de espécies do gênero Lychnophora Mart. (Asteraceae: Vernonieae) em Minas Gerais*. Tese de Mestrado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.
- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2001. *IOPB Chromosome data XVII. Newsletter*, 33: 23-24.
- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2002. *Chromosome numbers in the genus Lychnophora Mart. (Lychnophorinae: Vernonieae: Asteraceae)*. **Caryologia**, 55(4): 367-374.
- MARTIUS, C.F.P. 1822. *Novum plantarum genus Lychnophora*. Denkschr. K. Bayer, **Bot. Ges. Regensb.**, 2: 148-159.
- MATHEW, A. e MATHEW, P.M. 1976. *Studies on South Indian Compositae, II. Cytology of the genus Vernonia Schreb.* **Cytologia**, 41: 401-406.
- MEDINA, D.M. e CONAGIN, C.H.T.M. 1964. *Técnica citológica*. Publicação 2610. Campinas, Inst. Agron. Campinas.
- RAO, P.N. e NIRMALA, A. 1986. *Chromosome numerical mosaicism in pearl millet (Pennisetum americanum (L.) Leeke)*. **Can. J. Genet. Cytol.**, 28: 203-206.
- ROBINSON, H. 1992. *Notes of Lychnophorinae from Minas Gerais, Brazil, a synopsis of Lychnophoriopsis Shultz-Bip., and the new genera Anteremanthus and Minasia (Vernonieae: Asteraceae)*. **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 105: 640-652.
- ROBINSON, H. 1996a. *The status of generic and subtribal revisions in the Vernonieae*. In: Hind, d.j.n. e Beentje, h.j. 1996 (eds.). *Compositae: Systematics*. Kew, Whitestable Litho Printers Ltd., 1: 511-529.
- ROBINSON, H. 1996b. *The Paralychnophora group of Eremanthus (Vernonieae: Asteraceae)*. **Rhodora** 98 (893): 85-93.
- ROBINSON, H. 1999. *Generic and subtribal classificatio of American Vernonieae*. **Smith. Contrib. Bot.**, 89: 1-116.
- RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; VIEIRA, O.S.; MATZENBACHER, N.I. e MARTINS, N.S. 1991. *Cytogenetics of genus Vernonia Schreber (Compositae)*. **Cytologia**, 56: 239-247.
- SEMIR, J. 1991. *Revisão Taxonômica de Lychnophora Mart. (Vernonieae: Compositae)*. Tese de doutorado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.
- SCHREIBER, G. 1966. *Genes e desenvolvimento*. In: PAVAN, C. e CUNHA, A.B., org. *Elementos de genética*. 2ª ed. São Paulo, Cia. Ed. Nacional e EDUSP, pp. 214-217.

STEBBINS, G.L. 1971. *Chromosomal evolution in higher plants*. London, Edward Arnold (Publishers) Ltd., pp.216.

TURNER, B.L.; BACON, J.; URBATSCH, L. e SIMPSON, B. 1979. *Chromosome numbers in South American Compositae*. **Amer. J. Bot.**, 66(2): 173-178.

ZARCO, C.R. 1986. *A new method for estimating karyotype asymetry*. **Taxon**, 35(3): 526-530.

Capítulo 3

Citotaxonomia de espécies das seções
Lychnophoriopsis e *Sphaeranthus* do gênero
Lychnophora Mart. (Asteraceae: Vernoniaeae:
Lychnophorinae)

Autores: Mansanares, M.E.; Forni-Martins, E.R. e Semir, J.

1.Introdução

O gênero *Lychnophora* é composto por seis seções: *Lychnophora*, *Lychnophoriopsis*, *Lychnophorioides*, *Lychnocephaliopsis*, *Sphaeranthus* e *Chronopappus* (SEMIR 1991). Dentre estas, *Lychnophoriopsis* e *Sphaeranthus* já foram consideradas como gêneros independentes, sob denominação *Lychnophoriopsis* (SCHULTZ-BIPONTINUS 1863; ROBINSON 1992) ou *Episcothamnus* (ROBINSON 1981) e de *Paralychnophora* (MACLEISH 1984; MACLEISH e SCHUMACHER 1984; HIND 1995, 2000), respectivamente. Parte de *Paralychnophora* também já foi tratada como *Eremanthus* (BAKER 1873; ROBINSON 1996).

O gênero *Lychnophoriopsis* foi descrito por SCHULTZ-BIPONTINUS (1863), considerando uma única espécie, *Lychnophoriopsis heterotheca*, tendo como característica diferencial genérica a presença de cipselas dimorfas. No mesmo trabalho, descreveu *Lychnophora candelabrum* a partir de um material estéril, a qual foi considerada duvidosa sob *Lychnophora* por BAKER (1873) e COILE e JONES (1981). ROBINSON (1981) combinou *L. candelabrum* em seu novo gênero *Episcothamnus*, caracterizado por suas cipselas homomórficas. COILE e JONES (1981) sinonimizaram o gênero *Lychnophoriopsis* sob *Lychnophora*, sem discutir os critérios para esse procedimento. Esta sinonimização também foi aceita por SEMIR (1991), que manteve *Lychnophoriopsis* como uma seção de *Lychnophora*. Este último autor argumentou ainda que o grande número de flores (até 25) atribuído por ROBINSON (1981) para a distinção de *Episcothamnus* em relação a *Lychnophora* é apenas parte da variação do número de flores de *Lychnophora candelabrum* (com 11 a 25 flores por capítulo).

Logo em seguida, ROBINSON (1992) considerou *Episcothamnus* sob *Lychnophoriopsis*, considerando para o gênero quatro espécies (*L. heterotheca*, *L.*

candelabrum, *L. damazioi* e *L. hatschbachii*). Entretanto, SEMIR (1991) sinonimizou *Lychnophoriopsis heterotheca* sob *Lychnophora candelabrum* por verificar que o material tipo da primeira espécie não apresentava cípselas heteromorfas, como sugerido por SCHULTZ-BIPONTINUS (1863) no estabelecimento de *Lychnophoriopsis*. Propôs ainda uma nova espécie, *Lychnophora montesclarensis*, na sua seção *Lychnophoriopsis*. No conceito de SEMIR (1991) a seção *Lychnophoriopsis* é constituída por quatro espécies: *L. candelabrum*, *L. damazioi*, *L. hatschbachii* e *L. montesclarensis*.

Dados anatômicos, como por exemplo, a presença do mesmo tipo de cípsela, com carpopódio pouco diferenciado com células alongadas, sugeriram que os gêneros *Lychnophora* e *Lychnophoriopsis* são semelhantes (ROBINSON 1992). Este autor sugeriu que estes dois gêneros podem ser combinados, entretanto, alguns caracteres dos capítulos, como por exemplo, inflorescências mais alongadas e ausência de capítulos secundários, podem ser caracteres que separam suas espécies (ROBINSON 1992). Esta última diferença foi enfatizada por LEITÃO FILHO e SEMIR (1979) quando removeram *L. damazioi* de *Lychnophora*, transferindo-a para *Vernonia*, recentemente considerada sob *Lychnophoriopsis* por ROBINSON (1992, 1999).

O gênero *Paralychnophora* foi proposto por MACLEISH (1984) como um nome novo para o gênero monotípico *Sphaeophora* estabelecido por SCHULTZ-BIPONTINUS (1863), com a espécie *S. bicolor*. Posteriormente, este gênero foi considerado por BAKER (1873) como uma seção dentro de *Eremanthus*. BARROSO (1986) descreveu uma outra espécie, na seção *Sphaeranthus* denominada *Eremanthus reflexo-auriculatus* (BAKER 1873). Assim, na sua revisão de *Eremanthus*, MACLEISH (1984, 1987) separou e considerou as duas espécies da seção *Sphaeranthus* de *Eremanthus* como *Paralychnophora bicolor* e *P. reflexoauriculata*. A autora considerou *Lychnophora* e

Paralychnophora semelhantes nas ramificações candelabriformes, folhas coriáceas, indumento denso, presença de glomérulos solitários e de *pappus* bisseriado.

MACLEISH (1984, 1987) distinguiu *Paralychnophora* em relação a *Lychnophora* pelas características dos elementos da série interna do *pappus* das cipselas: pouco numerosos, curtos, achatados, espiralados e decíduos em *Lychnophora*; em *Paralychnophora* são numerosos, filiformes, persistentes e sem apresentar espiralização proeminente. Segundo SEMIR (1991), estas características, em conjunto, seriam boas apenas para separar a seção por ele proposta, como *Lychnophora* sect. *Sphaeranthus*.

Na sinonimização de *Paralychnophora* sob *Eremanthus*, ROBINSON (1996) descreveu mais duas espécies para este gênero: *Eremanthus santosii* e *E. harleyi*. Esta sinonimização não foi aceita por HIND (1995, 2000), que considerou *Paralychnophora* como válido e descreveu e combinou as duas espécies descritas por ROBINSON (1996) como: *Paralychnophora santosii* e *P. harleyi*, além de descrever mais duas espécies novas. Assim, HIND (1995, 2000) considerou o gênero *Paralychnophora* com seis espécies. Segundo HIND (2000), o gênero *Paralychnophora* também pode ser distinguido de *Lychnophora* pela presença de inflorescências freqüentemente axilares e grandes, pelos ápices com tufo de tricomas nos lobos da corola, cipselas angulares glabras e *pappus* bisseriado persistente, com uma série interna filiforme.

As espécies da seção *Sphaeranthus sensu* SEMIR (1991) apresentam um endemismo bastante pronunciado, estando distribuídas nos complexos rupestres dos estados brasileiros de Minas Gerais e Bahia. Já as espécies de *Lychnophoriopsis* apresentam uma distribuição um pouco mais restrita, sendo encontradas somente no norte do estado de Minas Gerais. As espécies e gêneros encontrados nos chamados

campos rupestres, geralmente apresentam um elevado grau de isolamento, sendo muitas vezes endêmicos a estas regiões. Segundo GIULIETTI e PIRANI (1988) existem muitas barreiras geográficas entre as populações destes ambientes por se tratarem de regiões com topografia bastante acidentada, e solos muitas vezes formando manchas com características bastante peculiares a determinadas áreas, o que pode estar propiciando uma especiação intensa. Um elevado grau de endemismo geralmente é correlacionado com a idade e isolamento de uma área, da diversificação dos habitats, os quais influenciam na formação de neoendêmicos, e na produção de relíquias endêmicas (KRUCKEBERG e RABINOWITZ 1985).

O conhecimento de números cromossômicos é escasso para as espécies da seção *Lychnophoriopsis* (*sensu* SEMIR 1991), sendo que apenas uma espécie foi estudada, *L. candelabrum*. Esta foi citada por COILE e JONES (1981) sob o epíteto de *Lychnophora heterotheca*, apresentando $n=17$. MANSANARES *et al.* (2002) citaram para esta mesma espécie $2n=36$. Para as espécies da seção *Sphaeranthus* (*sensu* SEMIR 1991), os relatos de estudos biossistemáticos resumem-se a contagens cromossômicas apenas para *L. reflexoauriculata*, de $2n=36$ (JONES 1982), sob o epíteto de *Eremanthus reflexo-auriculatus*.

O recente estudo de MANSANARES *et al.* (2002) e MANSANARES (2004, Capítulo 2) evidenciou variação de números cromossômicos para o gênero *Lychnophora* (*sensu* SEMIR 1991): $2n=34$, $2n=36$ e $2n=38$, distribuídos entre as trinta e três espécies estudadas. Os resultados obtidos confirmaram, em sua maioria, a proposição taxonômica de SEMIR (1991), mostrando que números cromossômicos são muito importantes na diferenciação de algumas espécies, cujos limites são questionados por outros taxonomistas (MANSANARES *et al.* 2002). Entretanto, números cromossômicos

não parecem ser bons caracteres para a subsidiar a separação em diferentes seções, pois na seção *Lychnophora* são encontrados os três números cromossômicos ($2n=34$, 36 e 38), enquanto em *Lychnocephaliopsis* dois deles estão presentes ($2n=36$ e 38). Nas demais, um dos três números cromossômicos é exclusivo.

Os estudos cariotípicos na subtribo são referentes apenas a três espécies de *Lychnophora*, com inexistência de informações para a grande maioria de espécies do gênero (MANSANARES 2004, Capítulo 2). O cariótipo destas espécies mostrou que, apesar de relativamente pequenos, os cromossomos apresentaram diferenças de tamanho e morfologia. Assim, o objetivo do presente trabalho foi analisar o status citotaxonômico de espécies das seções *Lychnophoriopsis* e *Sphaeranthus* do gênero *Lychnophora* (*sensu* SEMIR 1991), mediante a determinação de números cromossômicos e a elaboração de cariótipos de algumas espécies.

2. Material e Métodos

Foram analisadas nove espécies coletadas em campos rupestres de várias regiões do estado de Minas Gerais (Serra do Cipó, Diamantina, Gouveia, Grão Mogol, Itacambira) e no estado da Bahia (Seabra, Palmeiras e Morro do Chapéu) (Tabela 3.1). Materiais-testemunho de todas as espécies foram depositados no Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC) (Tabela 3.1).

A identificação das nove espécies estudadas no presente trabalho e sua inclusão em seções seguiu a conceituação de SEMIR (1991). Duas destas espécies ainda não foram validamente publicadas, uma trata pelo epíteto de *Lychnophora montesclarensis* e, outra por *L. morfoespécie 1* sendo provavelmente, uma nova entidade taxonômica.

Cinco espécies pertencem à seção *Sphaeranthus* e quatro à *Lychnophoriopsis*.

Pontas de raízes recém-germinadas foram coletadas e submetidas a pré-tratamento com solução 8-hidroxiquinoleína (8Hq) 0,002M, por 5 horas a 14-15°C, e em seguida fixadas em solução Carnoy (etanol: ácido acético 3:1) por 24 horas e mantidas em álcool 70% em freezer.

As raízes foram hidrolizadas em HCl 5N, à temperatura ambiente, por 20 minutos e lavadas em água destilada. Para a preparação das lâminas, as pontas de raízes foram dissecadas e esmagadas em uma gota de ácido acético 45% entre lâmina e lamínula. As lâminas foram retiradas após congelamento em nitrogênio líquido. Após secas, as lâminas foram coradas com solução de Giemsa 2% por 20 minutos (GUERRA 1983), lavadas em água destilada e montadas com Entellan.

Contagens cromossômicas mitóticas foram realizadas, em média, em 20 metáfases mitóticas por espécie. Na elaboração dos cariótipos, os cromossomos foram medidos pelo menos em dez células de cada espécie, sendo utilizada como padrão a média da medida de cada par, incluindo tamanho do cromossomo, posição centromérica e de constrições secundárias. A nomenclatura para a morfologia cromossômica adotada neste trabalho foi a de GUERRA (1986).

Para caracterização do cariótipo foram também utilizadas medidas como o CTC (comprimento total da cromatina), o IC (índice centromérico) de cada par cromossômico e o TF (índice de assimetria) (HUZIWARA 1968).

Também foram calculados os índices de assimetria intracromossômica (A_1) e intercromossômica (A_2) segundo ZARCO (1986), indicados para análise de taxa relacionados que apresentam pequenas diferenças na assimetria cariotípica. A assimetria cariotípica intracromossômica (A_1) é dada pelas relações entre os braços

cromossômicos. O índice de assimetria intercromossômico A_2 é a variação no comprimento cromossômico, independentemente do número cromossômico.

Para a confecção dos ideogramas, optou-se pelo arranjo dos cromossomos pela forma e não pelo tamanho, seguindo os estudos anteriores de cariótipos para espécies da tribo Vernonieae (DEMATTEIS 1998, 2002; DEMATTEIS e FERNÁNDEZ 1998; MANSANARES 2004, capítulo 2).

A análise das lâminas foi feita através de observação em fotomicroscópio comum. Células em condições adequadas de espalhamento e condensação cromossômica foram documentadas em fotomicroscópio. As fotografias foram feitas em filme preto e branco Agfa Pan ISO 25.

3. Resultados e Discussão

Foram observados dois números cromossômicos distintos para as nove espécies das seções *Lychnophoriopsis* e *Sphaeranthus*, $2n=36$ e $2n=38$ (Tabela 3.2).

Apenas um número cromossômico foi obtido para as quatro espécies da seção *Lychnophoriopsis* analisadas ($2n=36$), sendo que para três destas espécies, as contagens cromossômicas são inéditas (Tabela 3.1). COILE e JONES (1981) encontraram $n=17$ ($2n=34$) para *L. candelabrum* sob o epíteto de *Lychnophora heterotheca*, enquanto MANSANARES *et al.* (2002) encontraram $2n=36$ para *L. candelabrum*, número confirmado no presente estudo. A população de *L. candelabrum* aqui analisada é procedente de localidade diferente de onde *L. B. Smith* (n° 998) coletou o exemplar estudado citologicamente por COILE e JONES (1981). Na ocasião, interpretou-se que esta

variação numérica dos cromossomos poderia ser definida por raças cromossômicas (citótipos) ou eventualmente causada por distúrbios meióticos ou, ainda, pela ocorrência de cromossomos acessórios (MANSANARES *et al.* 2002). A contagem cromossômica do presente trabalho ($2n=36$) foi realizada em uma terceira população, confirmando os resultados e a discussão de MANSANARES *et al.* (2002), e sugerindo um possível engano na contagem de COILE e JONES (1981). O número $2n=36$ observado nas outras espécies da seção *Lychnophoriopsis* tendem a corroborar essa sugestão.

Nas cinco espécies da seção *Sphaeranthus*, foram obtidos dois números cromossômicos: $2n=36$ para *L. harleyi* e $2n=38$ para *L. reflexoauriculata*, *L. bicolor*, *L. santosii* e *L. morfoespécie 1* (Tabela 3.2, Figura 3.2). Todas as contagens cromossômicas são inéditas, à exceção de *L. reflexoauriculata* (JONES 1982). O número $2n=36$ corrobora os dados prévios registrados em literatura (JONES 1982), enquanto o número $2n=38$ é inédito para a seção *Sphaeranthus*.

É interessante notar que os representantes da seção *Lychnocephaliopsis* e *Sphaeranthus* apresentam os mesmos números cromossômicos, $2n=36$ e 38 (MANSANARES *et al.* 2002; MANSANARES 2004, Capítulo 2). Além disso, as espécies dessas duas seções são muito semelhantes nas características morfológicas, tais como bainha e pecíolo das folhas e inflorescências em glomérulos compostos e robustos. Assim, as espécies da seção *Sphaeranthus* parecem mais relacionadas com as da seção *Lychnocephaliopsis* do que com o gênero *Eremanthus*. Essa constatação contradiz a sinonimização proposta por ROBINSON (1996), que havia transferido para *Eremanthus* espécies de *Paralychnophora sensu* MACLEISH (1984), ou seja, da seção *Sphaeranthus sensu* SEMIR (1991).

Os cariótipos elaborados para quatro espécies da seção *Sphaeranthus* totalizam

66,67% do grupo (Tabela 3.3). Além dos números cromossômicos, diferenças foram encontradas no tamanho individual dos cromossomos, comprimento total da cromatina (CTC) e fórmula cariotípica (Figura 3.1). O tamanho dos cromossomos variou de 1,00 μ m a 2,35 μ m, sendo que as duas espécies com maior número cromossômico apresentaram o maior e o menor comprimento total da cromatina (Tabela 3.3).

A observação dos cariótipos destas espécies revelou o predomínio de cromossomos metacêntricos, além de alguns submetacêntricos. O índice de assimetria TF% foi praticamente igual nestas espécies (Tabela 3.3), e também em relação aos resultados obtidos previamente para outras três espécies (MANSANARES 2004, Capítulo 2). Nas espécies desta seção, tanto os índices de assimetria intracromossômica ($A_1=0,040$ a $0,073$) quanto intercromossômica ($A_2=0,096$ a $0,161$) mostraram uma variação um pouco maior do que a obtida em espécies de outras seções do gênero *Lychnophora* ($A_1=0,047$ a $0,063$ e $A_2=0,152$ a $0,168$) (MANSANARES 2004, Capítulo 2). Mesmo assim, a relação entre os índices de assimetria intracromossômica (A_1) e intercromossômica (A_2) das espécies da seção *Sphaeranthus* analisadas (Figura 3.2) mostrou pequena diferenciação, à exceção de *L. bicolor*. Devido à prevalência de pares metacêntricos e ausência de grandes diferenças entre os menores e os maiores cromossomos, os índices de assimetria em geral, apresentaram baixos valores.

Apesar das diferenças em alguns parâmetros cariotípicos, os dados cromossômicos obtidos até momento não parecem ser subsídio para a taxonomia deste grupo. Isso se deve ao fato de que os cromossomos são pequenos, e as diferenças não são prontamente detectadas mediante a análise de uma ou poucas células de cada espécie, mas são ressaltadas apenas pela comparação de valores médios em uma maior amostragem.

Nas espécies *Lychnophora bicolor*, *L. harleyi* e *L. morfoespécie 1* foram observadas células com polissomatia (Figura 3.2E, F e H), isto é, células tetraplóides esporádicas em meio às células diplóides normais. SCHEREIBER (1966) denominou o fenômeno da variação da ploidia durante a histogênese de endoploidia, que pode ser caracterizado pela multiplicação repetida dos genomas, sem que se realize a divisão do núcleo e da célula. A polissomatia é comum em raízes de diversos grupos de plantas, como Leguminosae (BERGER *et al.* 1958), tendo também sido constatada em outras espécies de *Lychnophora* (MANSANARES 2004, CAPÍTULO 2). Mosaicismos cromossômicos numéricos originam-se de fenômenos citológicos como redução somática, não disjunção, eliminação de cromossomos, duplicação do conjunto cromossômico, divisão assíncrona dos centrômeros, sendo registrada para um grande número de espécies (RAO e NIRMALA 1985). Embora os mecanismos e os fatores responsáveis não sejam bem estudados, parece que este fenômeno está freqüentemente associado com hibridização, poliploidia e tratamentos químicos (RAO e NIRMALA 1985).

Os números cromossômicos observados para as seções *Lychnophoriopsis* e *Sphaeranthus* no presente estudo coincidem como os relatados por MANSANARES *et al.* (2001, 2002) e MANSANARES (2004, Capítulo 2), de $2n=34$, $2n=36$ e $2n=38$ para outras espécies de *Lychnophora*. Esses três números cromossômicos ocorrem distribuídos nas seis seções de *Lychnophora sensu* SEMIR (1991) e também de outros taxa próximos (MANSANARES 2004, Capítulo 2), não parecendo até o momento, constituir-se em caracteres importantes para a diferenciação de seções de *Lychnophora* ou para considerá-las como gêneros distintos, tal como propôs ROBINSON (1992, 1999).

Os dados do presente trabalho corroboram dois dos números básicos sugeridos

por MANSANARES *et al.* (2002) para o gênero *Lychnophora*, de $x=17$, 18 e 19, sendo $x=18$ na seção *Lychnophoriopsis* e $x=18$ e 19 na seção *Sphaeranthus*. Os dados anteriormente citados na literatura referentes aos números cromossômicos para a subtribo Lychnophorinae (*sensu* ROBINSON 1999), constam apenas de duas contagens para o gênero *Eremanthus*, uma para *E. elegans* de $n=15$ (TURNER *et al.* 1979) e outra de $2n=36$ para *L. reflexoauriculata* (JONES 1982), além das contagens para o gênero *Lychnophora* (MANSANARES *et al.* 2001, 2002; MANSANARES 2004, Capítulo 2). ROBINSON (1996) em sua revisão genérica e subtribal em Vernonieae, já havia citado para a subtribo Lychnophorineae os números cromossômicos $n=15$, 17 e 18. Deve ser mencionado também que o gênero *Minasia* pode ser considerado como tendo $n=17$ cromossomos, tendo por base a contagem para *Vernonia alpestris* (DEMATTEIS 1998), combinado por ROBINSON (1992, 1999) sob o seu novo gênero *Minasia*.

Estes dados sugerem que a subtribo Lychnophorinae tem quatro números básicos, $x = 15$, 17, 18 e 19. Estes números coincidem com os números cromossômicos básicos encontrados para espécies e gêneros sul-americanos da tribo Vernonieae, e com o modelo, aceito por vários autores, de que as Vernonieae do Velho Mundo estão baseadas em $x=9$ e 10 e os representantes da América em $x=17$ a partir de uma poliploidização seguida de aneuploidia (JONES 1974, 1979; POWELL *et al.* 1974; MATHEW e MATHEW 1976; TURNER *et al.* 1979; GALIANO e HUNZIKER 1987; RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1996, 1998, 2002; DEMATTEIS e FERNÁNDEZ 1998, 2000; MANSANARES *et al.* 2001, 2002).

Tabela 3.1- Espécies e populações das espécies analisadas com respectivas localidades de coleta e materiais-testemunho.

ESPÉCIES	LOCAL	NÚMERO DE COLETOR
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Lychnophoriopsis</i> (sensu Semir 1991)		
<i>L. candelabrum</i> (Shultz-Bip.)H.Rob.	Gouveia, MG	<i>Mansanares et al. 00/01</i>
<i>L. damazioi</i> (Beauverd)H.Rob.	Serra do Cipó, MG	<i>Mansanares e Verola 377</i>
<i>L. hatschbachii</i> H.Rob.	Diamantina, MG	<i>Mansanares et al. 01/100</i>
<i>L. montesclarensis</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)*	Juramento, MG	<i>Mansanares et al. 01/189</i>
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Sphaeranthus</i> (sensu Semir 1991)		
<i>L. bicolor</i> (DC) MacLeish	MG, Itacambira	<i>Mansanares et al. 184</i>
<i>L. harleyi</i> (H.Rob.) Hind	BA, Seabra	<i>Aona 743</i>
<i>L. reflexoauriculata</i> (G.M.Barroso)	BA, Morro do Chapéu	<i>Aona 764</i>
<i>L. santosii</i> (H.Rob.) Hind	BA, Palmeiras	<i>Aona 753</i>
<i>L. morfoespécie 1</i>	MG, Grão Mogol	<i>Mansanares et al.296</i>

Tabela 3.2. Números cromossômicos para espécies das seções *Lychnophoriopsis* e *Sphaeranthus* do gênero *Lychnophora* citados na literatura e no presente estudo. * espécie ainda não validada.

ESPÉCIES	n	2n	Referências
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Lychnophoriopsis</i> (sensu Semir 1991)			
<i>Lychnophora heterothea</i> (Sch.Bip.) Coile e Jones (= <i>L. candelabrum</i> Sch. Bip.)	17	-	COILE e JONES, 1981
<i>L. candelabrum</i> Sch. Bip.	-	36	MANSANARES <i>et al.</i> , 2001, 2002
<i>L. candelabrum</i> (Shultz-Bip.)H.Rob.	-	36	Presente trabalho
<i>L. damazioi</i> (Beauverd)H.Rob.	-	36	Presente trabalho
<i>L. hatschbachii</i> H.Rob.	-	36	Presente trabalho
<i>L. montesclarensis</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)*	-	36	Presente trabalho
<i>Lychnophora</i> sect. <i>Sphaeranthus</i> (sensu Semir 1991)			
<i>L. bicolor</i> (DC) MacLeish	-	38	Presente trabalho
<i>L. harleyi</i> (H.Rob.) Hind	-	36	Presente trabalho
<i>E. reflexo auriculatus</i> Barroso (= <i>L. reflexoauriculata</i>)	-	36	Jones 1982
<i>L. reflexoauriculata</i> (G.M.Barroso)	-	36	Presente trabalho
<i>L. santosii</i> (H.Rob.) Hind	-	38	Presente trabalho
<i>L. morfoespécie 1</i> *	-	38	Presente trabalho

Tabela 3.3- números cromossômicos, fórmulas cariotípicas, variação do tamanho cromossômico dentro da espécie, CTC e TF%, A₁: índice de assimetria intracromossômica, A₂: índice de assimetria intercromossômica das espécies da seção *Sphaeranthus* analisadas.

ESPÉCIE	2n	FÓRMULA CARIOTÍPICA	VARIACÃO				
			DE TAMANHO (μ)	CTC	TF %	A ₁	A ₂
<i>L. bicolor</i>	38	34m+4sm	1,00-1,93	52,02	41,68	0,040	0,124
<i>L. harleyi</i>	36	26m+10sm	1,18-2,16	58,01	41,41	0,067	0,161
<i>L. reflexoauriculata</i>	36	28m+8sm	1,09-2,14	55,25	41,99	0,073	0,096
<i>L. santosii</i>	38	34m+4sm	1,10-2,35	62,82	41,26	0,070	0,140

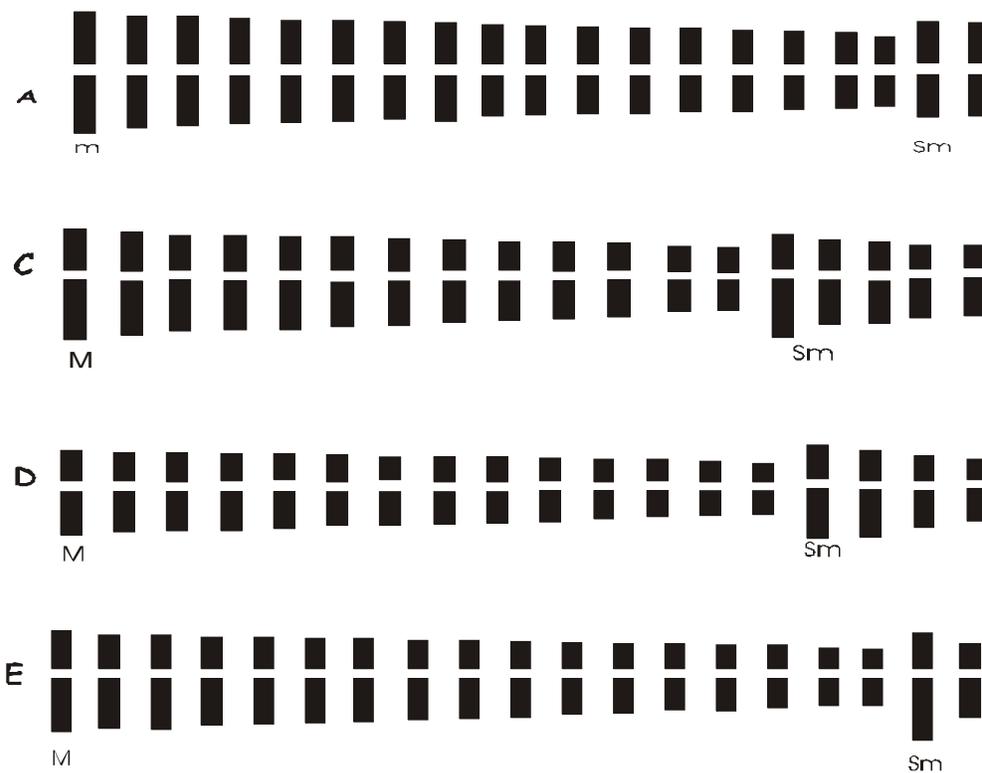


Figura 3.1 – Ideogramas de espécies da seção *Sphaeranthus*. **A:** *L. bicolor*, 17m+2sm . **B:** *L. harleyi*, 13m+5sm. **C:** *L. reflexoauriculata*, 14m+4sm. **D:** *L. santosii*, 17m+2sm. (m = metacêntrico; sm = submetacêntrico).

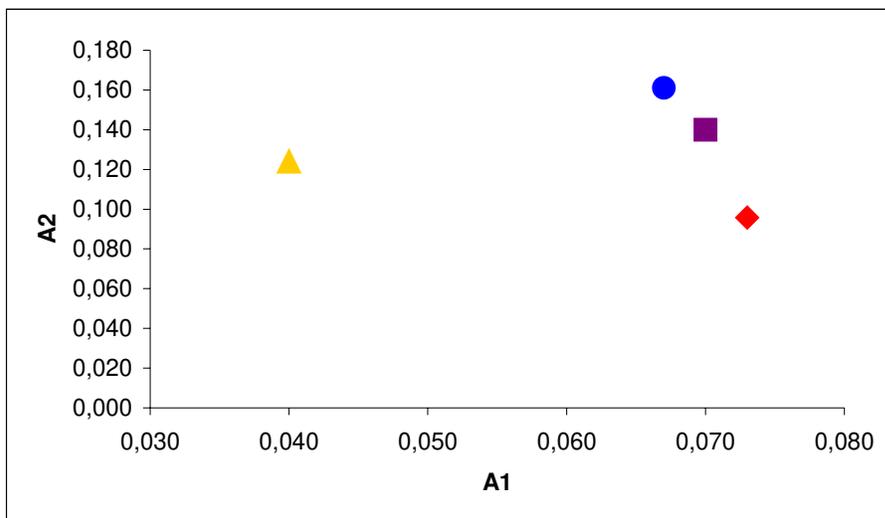


Figura 3.2: Assimetria cariotípica para as espécies de *Lychnophora* estudadas, seguindo metodologia de Zarco (1986): ▲ *Lychnophora bicolor*, ● *L. harleyi*, ◆ *L. reflexoauriculata*, ■ *L. santosii*.

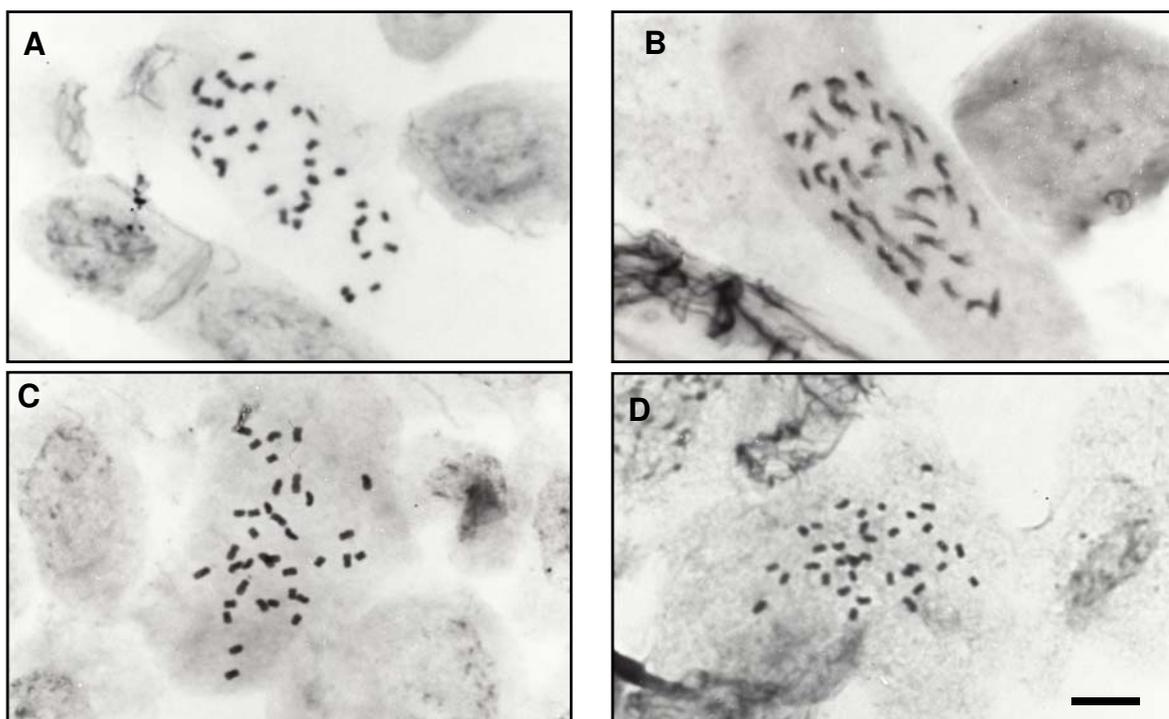


Figura 3.3 – Metáfases mitóticas em espécies da seção *Lychnophoriopsis*: **A** – *L. candelabrum*, $2n=36$; **B** – *L. damazioi*, $2n=36$; **C** – *L. hatschbachii*, $2n=36$; **D** – *L. montesclarensis*, $2n=36$; Barra = $10\mu\text{m}$.

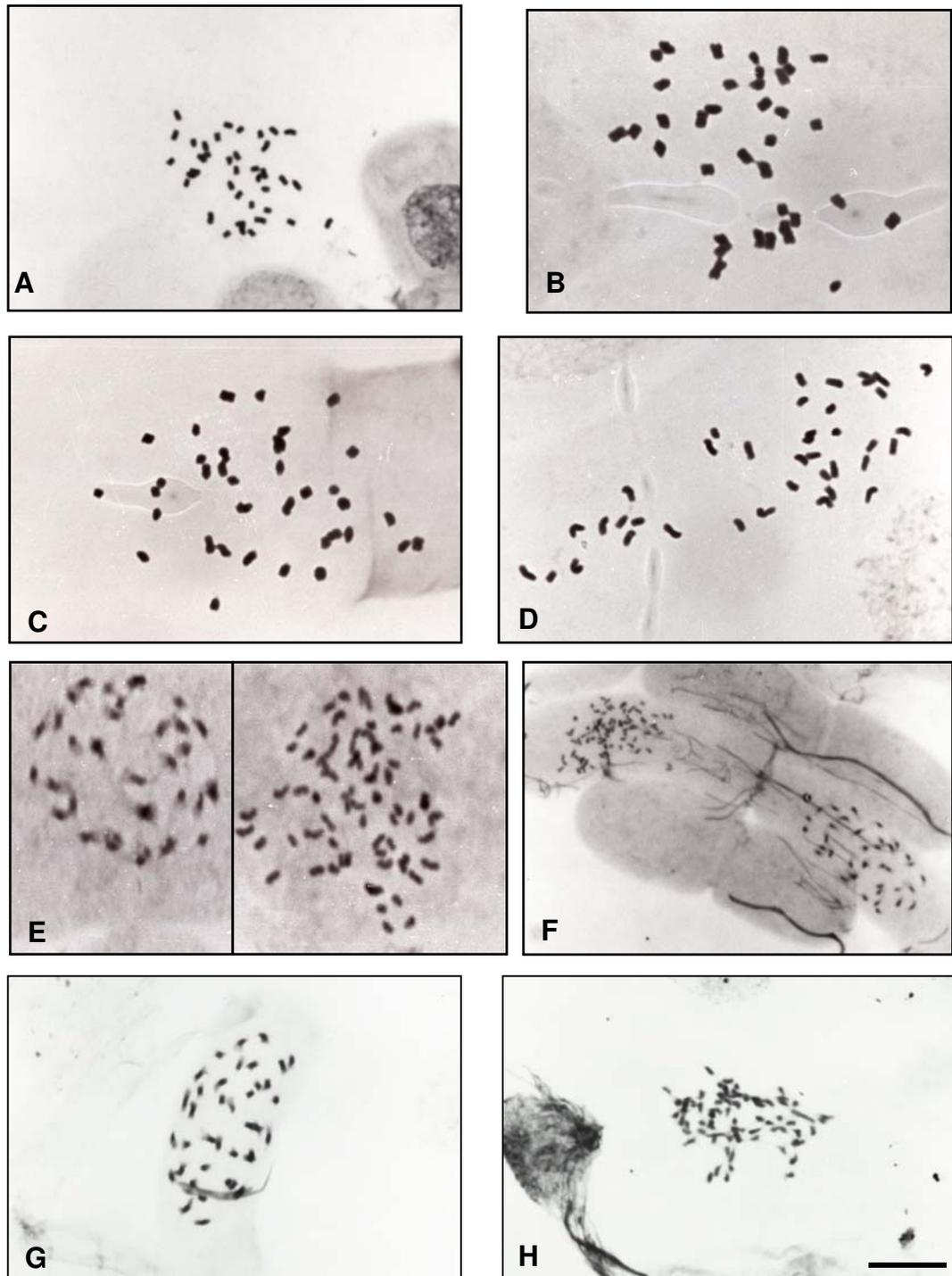


Figura 3.4 - Metáfases mitóticas em espécies da seção *Sphaeranthus*: **A** - *Lychnophora bicolor*, $2n=38$; **B** - *L. harleyi*, $2n=36$; **C** - *L. reflexoauriculata*, $2n=36$; **D** - *L. santosii*, $2n=38$; **E**- *L. harleyi*, polissomatia, célula à esquerda normal, $2n=36$, e à direita, célula com genoma duplicado, $2n=72$; **F** - *L. bicolor*, polissomatia; **G** - *L. morfoespécie 1*, $2n=38$; **H** - *L. morfoespécie 1*, polissomatia. Barra = $10\mu\text{m}$.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARROSO, G.M. 1986. Sistemática de Angiospermas do Brasil. Vol. III. Viçosa, Imp. Universitária da Univ. Federal de Viçosa, pp.326.
- BAKER, J.G. 1873. *Compositae I. Vernoniaeae*. In: Martius, c.f. e Eichler, a.g. (eds.). 6(2):1-180. **Flora brasiliensis**. Lipsiae, Monachii.
- BERGER, C.A.; WITKUS, E.R. e MCMAHON, R.M. 1958. *Citotaxonomic studies in Leguminosae*. **Bull. Torrey Bot. Club** 85: 405-410.
- BREMER, K. 1994. *Asteraceae – Cladistic e Classification*. Portland, Oregon, Timber Press., pp 752.
- COILE, N.C. e JONES JR., S.B. 1981. *Lychnophora (Compositae: Vernoniaeae), a endemic genus to the Brazilian planalto*. **Brittonia**, 33: 528-542.
- DEMATTEIS, M. 1996. *Estudios cromosomicos en especies Argentinas de Vernonia (Asteraceae)*. **Bonplandia**, 9(1-2): 103-110.
- DEMATTEIS, M. 1998. *Chromosome studies of some Vernonia species (Asteraceae)*. **Genet. Mol. Biol.**, 21: 381-385.
- DEMATTEIS, M. 2002. *Cytotaxonomic analysis of South American species of Vernonia (Vernoniaeae: Asteraceae)*. **Bot. Jour. Linn. Soc.**, 139:401-408.
- DEMATTEIS, M. e FERNÁNDEZ, A. 1998. *Karyotypes of Seven South American Species of Vernonia (Vernoniaeae, Asteraceae)*. **Cytologia**, 63:323-328.
- DEMATTEIS, M. e FERNÁNDEZ, A. 2000. *Chromosome studies on nine South American species of Vernonia (Vernoniaeae, Asteraceae)*. **Caryologia**, 53(1): 55-61.
- GALIANO, N.G. e HUNZIKER, J.H. 1987. *Estudios cariologicos en Compositae, IV. Vernoniaeae y Eupatorieae*. **Darwiniana**, 28(1-4): 1-8.
- GIULIETTI, A.M. e PIRANI, J.R. 1988. *Patterns of geografic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil*. **Acad. Brasil. Ciências**, 39-69.
- GUERRA, M. 1983. *O uso de Giemsa na citogenética vegetal - comparação entre a coloração simples e o bandeamento*. **Ciência e Cultura**, 35: 190-193.
- GUERRA, M. 1986. *Reviewing the chromosome nomenclature of Levanet al*. **Rev. Brasil. Genet.**, 9:741-743.
- HEYWOOD, V.H.; HARBORNE, J.B. e TURNER, B.L. 1977. Na overture to the Compositae. In: Heywood, v.h.; Harborne, j.b. e Turner, b.l. (eds.). *The Biology and Chemistry of the Compositae*. London, Academic Press, 1-20.

- HIND, D.J.N. 1995. *Paralychnophora*. *Compositae*. In: B.L. STANNARD (ed.), *Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil*. Kew, Royal Bot. Gard. 193-194.
- HIND, D.J.N. 2000. *Two new species of Paralychnophora (Compositae: Vernonieae) from Bahia, Brazil*. **Kew Bull.**, 55: 367-379.
- HUZIWARA, Y. 1968. *Karyotype evolutions in higher plants*. **Japan. J. Genet.**, 43(6): 454.
- JONES, S.B. 1974. *Vernonieae (Compositae) chromosome numbers*. **Bull. Torrey Bot. Club**, 101: 31-34.
- JONES, S.B. 1979. *Chromosome numbers of Vernonieae (Compositae)*. **Bull. Torrey Bot. Club**, 106(2): 79-84.
- JONES, S.B. 1982. *IOPB Chromosome numbers reports LXIV*. **Taxon**, 31: 126-127.
- KRUCKEBERG, A.R. E RABINOWITZ D. 1985. *Biological aspects of endemism in higher plants*. **Amer. Rev. Ecol. Syst.** 16:447-479.
- LEITÃO FILHO, H.F. e SEMIR, J. 1979. *Uma nova combinação para o gênero Vernonia Schreb. (Compositae): Vernonia damazoi (Beauverd) Leitão Filho e Semir*. **Revta. Brasil. Bot.**, 2: 113-116.
- MACLEISH, N.F.F. 1984. *Argyrovernonia and Paralychnophora: new names in the tribe Vernonieae (Asteraceae / Compositae)*. **Taxon** 33: 105-106.
- MACLEISH, N.F.F. 1987. *Revision of Eremanthus (Compositae: Vernonieae)*. **Ann. Missouri Bot. Gard.** 74: 265-290.
- MACLEISH, N.F.F. e SCHUMACHER, H. 1984. *Six new species of Eremanthus (Vernonieae: Compositae) from Brazil*. **Syst. Bot.** 9: 85-95.
- MANSANARES, M.E. 2004. *Estudos citotaxonômicos de espécies do gênero Lychnophora Mart. (Lychnophorinae: Vernonieae: Asteraceae)*. Tese de doutorado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.
- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2001. *IOPB Chromosome data XVII*. **Newsletter**, 33: 23-24.
- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2002. *Chromosome numbers in the genus Lychnophora Mart. (Lychnophorinae: Vernonieae: Asteraceae)*. **Caryologia**, 55(4): 367-374.
- MATHEW, A. e MATHEW, P.M. 1976. *Studies on South Indian Compositae, II. Cytology of the genus Vernonia Schreb.* **Cytologia**, 41: 401-406.

- RAO, P.N. e NIRMALA, A. 1986. *Chromosome numerical mosaicism in pearl millet (Pennisetum americanum (L.) Leeke)*. **Can. J. Gent. Cytol.**, 28: 203-206.
- ROBINSON, H. 1981. *Episcothamnus and Bishopalea, two new genera of Vernonieae (Asteraceae) from Brazil, and the resurrection of Sipolisia*. **Phytologia**, 48(3): 209-217.
- ROBINSON, H. 1992. *Notes of Lychnophorinae from Minas Gerais, Brazil, a synopsis of Lychnophoriopsis Shultz-Bip., and the new genera Anteremanthus and Minasia (Vernonieae: Asteraceae)*. **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 105: 640-652.
- ROBINSON, H. 1996. *The Paralychnophora group of Eremanthus (Vernonieae: Asteraceae)*. **Rhodora**, 98 (893): 85-93.
- ROBINSON, H. 1999. *Generic and subtribal classificatio of American Vernonieae*. **Smith. Contrib. Bot.**, 89: 1-116.
- RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; VIEIRA, O.S.; MATZENBACHER, N.I. e MARTINS, N.S. 1991. *Cytogenetics of genus Vernonia Schreber (Compositae)*. **Cytologia**, 56: 239-247.
- SCHREIBER, G. 1966. *Genes e desenvolvimento*. In: PAVAN, C. e CUNHA, A.B., org. *Elementos de genética*. 2ª ed. São Paulo, Cia. Ed. Nacional e EDUSP, pp. 214-217.
- SCHULTZ-BIPONTINUS, C.H. 1863. *Lychnophora Martius und einige benadrbarthe gottungen*. **Jahresber. Pollichia**, 20/21: 321-439.
- SEMIR, J. 1991. *Revisão Taxonômica de Lychnophora Mart. (Vernonieae: Compositae)*. Tese de doutorado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.
- TURNER, B.L.; BACON, J.; URBATSCH, L. e SIMPSON, B. 1979. *Chromosome numbers in South American Compositae*. **Amer. J. Bot.**, 66(2): 173-178.
- ZARCO, C.R. 1986. *A new method for estimating karyotype asymetry*. **Taxon**, 35(3): 526-530.

Capítulo 4

Citotaxonomia de espécies dos gêneros *Proteopsis* Mart. e Zucc. ex Schultz-Bip., *Heterocoma* DC. e *Minasia* H.Rob. (Asteraceae: Vernonieae: Lyncnhopporinae)

Autores: Mansanares, M. E.; Forni-Martins, E.R. e Semir, J.

1.Introdução

A subtribo Lychnophorinae abrange nove gêneros da família Asteraceae: *Anteremanthus*, *Chronopappus*, *Eremanthus* (englobando *Sphaeophora*, *Paralychnophora* e *Vanillosmopsis*), *Lychnophora* (englobando *Haplostephium*), *Lychnophoriopsis* (*Episcothamnus*), *Minasia*, *Piptolepis*, *Prestelia* e *Proteopsis* (ROBINSON 1992, 1999), dos quais a maior parte é endêmica em campo rupestre, em Minas Gerais, Bahia e Goiás (COILE e JONES 1981; MACLEISH 1984; SEMIR 1991; MANSANARES *et al.* 2002). A circunscrição dos gêneros é, em alguns casos, controversa, assim como a delimitação de espécies dentro de um gênero, devido à sobreposição de diversas características morfológicas (SEMIR 1991; MANSANARES *et al.* 2002).

SEMIR (1991) considerou *Heterocoma* como um gênero da subtribo Lychnohorinae, conceituação adotada no presente estudo. Entretanto, este gênero foi combinado por ROBINSON (1999) na subtribo Sipolisiinae. Este autor usou como características diferenciais para esta nova subtribo a presença de uma camada parcialmente carbonizada na parede da cipsela, além de folhas pecioladas e face adaxial das folhas glabras.

Apesar das discrepâncias taxonômicas com relação à definição dos gêneros e espécies da subtribo Lychnophorinae, dois dos gêneros estudados no presente trabalho, *Proteopsis* e *Heterocoma* são monotípicos, apresentando características morfológicas que definem bem suas delimitações. *Proteopsis* é caracterizado principalmente por seu hábito constituído por grandes rosetas, inflorescência escaposa, formada por capítulos grandes, pedunculados, com elevado número de flores e envolvidos por folhas que compõem um involúcro. *Heterocoma* apresenta capítulos

paleáceos e hábito arbustivo não rosulado, diferentemente de *Proteopsis*. PHILIPSON (1938) descreveu duas espécies de *Proteopsis*, *P. ekmaniana* e *P. insculpta*. Segundo SEMIR (1991), a primeira corresponde ao gênero *Alcantara* Glaziou. Em 1981, ROBINSON concluiu que *Proteopsis ekmaniana* e *Alcantara petroana* representavam a mesma entidade, e combinou a primeira em *Alcantara petroana*. ROBINSON (1981) também discutiu a semelhança entre *Proteopsis argentea* e *P. insculpta*, espécie esta tratada por SEMIR (1991) como *Heterocoma albida*.

O gênero *Minasia* abrange sete espécies, perfeitamente estabelecidas, embora algumas apresentem caracteres morfológicos sobrepostos. Os representantes deste gênero apresentam caule encurtado, com a base das folhas alargadas, formando rosetas. As anteras são bastante diferentes das observadas em outros gêneros da subtribo Lychnophorinae por apresentarem apêndices curtos, mas geralmente distintos (ROBINSON 1992).

Os três gêneros estudados no presente trabalho, *Proteopsis*, *Minasia* e *Heterocoma*, ocorrem apenas nos campos rupestres da cadeia do Espinhaço, estado de Minas Gerais, Brasil, com populações únicas ou algumas poucas, distribuídas de maneira fragmentada (SEMIR 1991; ROBINSON 1999; JESUS *et al.* 2001). A Cadeia do Espinhaço estende-se do estado de Minas Gerais até o da Bahia, Brasil, com áreas extremamente ricas em espécies endêmicas. As espécies ocorrem em picos elevados, em afloramentos de solos rasos de arenito, quartzito ou ferro, ou sobre solos profundos de arenito branco, além da topografia geralmente acidentada, clima e solo seco. Com a formação de barreiras geográficas, surgiram obstáculos que dificultam o fluxo gênico entre estas populações. As condições ecológicas destes ambientes possivelmente propiciaram uma especiação intensa, podendo ser um dos fatores destes endemismos

e dos isolamentos encontrados em gêneros e espécies que ocupam este habitat (GIULIETTI e PIRANI 1988; SEMIR 1991; JESUS *et al.* 2001; MANSANARES *et al.* 2002).

Há suposição de ocorrência de possíveis híbridos naturais entre espécies de *Lychnophora*, o que é apontado por COILE e JONES (1981) e SEMIR (1991) como um dos fatores complicadores da taxonomia da subtribo Lychnophorinae. Assim, estudos biosistemáticos, envolvendo diferentes enfoques, como os quimiotaxonômicos, citotaxonômicos e reprodutivos, seriam extremamente úteis para o esclarecimento da taxonomia da subtribo, porém são praticamente inexistentes. Pode-se citar a análise de flavonóides em algumas espécies de *Lychnophora* e de seus supostos híbridos (KING 1986).

O conhecimento do número cromossômico pode ser extremamente útil, especialmente quando em um dado grupo taxonômico observa-se diversidade neste caráter. Nestes casos, números cromossômicos diferentes podem vir a ser um caráter que separe espécies e até gêneros, especialmente se a diferença cromossômica acompanha as variações morfológicas (SOLBRIG 1977; GUERRA 1988; STACE 1989, 2000). Em Lychnophorinae, há relatos de números cromossômicos em apenas uma espécie de *Eremanthus* (JONES 1982), uma de *Minasia* (DEMATTEIS 1998) e em 40 espécies de *Lychnophora* (COILE e JONES 1981; CARR *et al.* 1999; MANSANARES *et al.* 2002; MANSANARES 2004, Capítulos 2 e 3).

MANSANARES *et al.* (2002) e MANSANARES (2004, Capítulos 2 e 3) observaram três números cromossômicos distintos, $n=17$ ($2n=34$), $n=18$ ($2n=36$) e $n=19$ ($2n=38$) em quarenta espécies de *Lychnophora*, pertencentes a seis seções (*sensu* SEMIR 1991). Apesar de não constituir caracteres para separação de seções, são importantes na

diferenciação de algumas espécies, cujos limites são questionados por parte de vários taxonomistas.

Na tribo Vernonieae, as espécies americanas têm apresentado $n=17$, múltiplos destes e escassas contagens com $n=10$ ou múltiplos deste (GALIANO e HUNZIKER 1987; DEMATTEIS 1996, 1998, 2002; DEMATTEIS e FERNANDEZ 1998, 2000). No entanto, o número cromossômico ancestral em Vernonieae é considerado como sendo $x=9$ ou $x=10$, como aqueles encontrados nas espécies da África e Sudeste Asiático (JONES 1974, 1976, 1979; BERNADELLO 1986; DEMATTEIS 1996, 1998; 2002, DEMATTEIS e FERNANDEZ 1998, 2000). Os números cromossômicos já citados previamente em literatura para espécies da subtribo Lychnophorinae sugerem que esta tenha quatro números cromossômicos básicos, $x=15$, 17, 18 e 19 (TURNER *et al.* 1979; JONES 1982; ROBINSON 1996; DEMATTEIS 1998, 2000; CARR *et al.* 1999; MANSANARES *et al.* 2001, 2002; Mansanares 2004, capítulos 2 e 3).

Este estudo é uma continuação do trabalho iniciado por MANSANARES *et al.* (2001, 2002) que visa a determinação de números cromossômicos de espécies dos gêneros da subtribo Lychnophorinae (Vernonieae: Asteraceae) e a sua análise citotaxonômica, sendo este trabalho voltado para três destes gêneros, *Proteopsis*, *Minasia* e *Heterocoma*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram estudadas seis espécies, coletadas em campos rupestres de várias regiões do estado de Minas Gerais, como Diamantina (incluindo Gouveia), Montes Claros (incluindo Itacambira) e na Serra do Cipó. Materiais-testemunho das espécies foram

depositados no Herbário UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas). A conceituação taxonômica para os três gêneros estudados (Tabela 4.1) segue ROBINSON (1992, 1999).

Para o estudo mitótico, os frutos coletados foram estocados em geladeira e posteriormente colocados para germinar em Gerbox e placas de Petri, sobre papel de filtro umedecido, à temperatura ambiente. Pontas de raízes recém-germinadas foram coletadas e submetidas a pré-tratamento com 8-hidroxiquinoleína, por 5 horas a 14-15°C, em seguida, fixadas em solução Carnoy (etanol: ácido acético / 3:1) por 24 horas e mantidas em álcool 70% em freezer.

As lâminas foram preparadas segundo a técnica de GUERRA (1983). As raízes foram hidrolizadas em HCl 5N, à temperatura ambiente, por 20 minutos e lavadas em água destilada. Para a preparação das lâminas, as pontas de raízes foram esmagadas em uma gota de ácido acético 45% entre lâmina e lamínula. As lamínulas foram removidas após congelamento em nitrogênio líquido. Após secas à temperatura ambiente, as lâminas foram coradas com solução de Giemsa 2% por 20 minutos, em seguida foram lavadas e montadas com Entellan. Foram analisadas no mínimo vinte células em mitose para cada uma das espécies estudadas.

3. Resultados e Discussão

Três números cromossômicos diferentes foram obtidos para as espécies estudadas no presente trabalho, $2n=34$ para duas espécies de *Minasia* (*M. alpestris* e *M. pereirae*), $2n=36$ para as duas espécies de *Proteopsis* e $2n=38$ para uma espécie de *Minasia* (*M. morfoespécie 1*) e para *Heterocoma albida* (Figura 4.2). Dentre as seis

espécies estudadas neste trabalho, a maioria representa contagens cromossômicas inéditas (Tabela 4.2, Figura 4.2).

Das três espécies do gênero *Minasia* analisadas (Figura 4.1), apenas *M. alpestris* tinha número cromossômico citado ($n=17$, DEMATTEIS 1998), corroborando $2n=34$ obtido no presente estudo (Figura 4.2). A outra espécie, *Minasia pereirae*, apesar de apresentar $2n=34$ (Figura 4.2), foi facilmente diferenciada de *M. alpestris* por caracteres morfológicos. Segundo ROBINSON (1992), *Minasia pereirae* apresenta o mesmo hábito de *M. alpestris*, entretanto é distintamente menor que esta em todos os caracteres (Figura 4.1). Em adição às diferenças no tamanho, os apêndices das anteras em *M. pereirae* são também menores do que em *M. alpestris* e, além disso, suas cipselas são diferentes. Na primeira espécie, estas apresentam glândulas por toda sua extensão, enquanto na segunda estas glândulas são restritas à porção basal da cipsela (ROBINSON 1992).

Para a espécie *M. morfoespécie 1* (Figura 4.1) o número cromossômico obtido de $2n=38$ é inédito para o gênero (Figura 4.2), diferenciando-a de *M. alpestris* e *M. pereirae*.

As duas espécies de *Proteopsis* analisadas, apesar de possuírem o mesmo número cromossômico, $2n=36$ (Figura 4.2), são prontamente distintas em seu hábito e características foliares. *Proteopsis argentea* (Figura 4.1) apresenta hábito em forma de uma única roseta, enquanto que *P. morfoespécie 1* apresenta, além da roseta formada pelo eixo principal, possui vários pequenos ramos terminais em rosetas.

Heterocoma albida apresentou $2n=38$ (Figura 4.2A), resultado que reforça a separação de *Heterocoma* em um gênero distinto, como sugerido por SEMIR (1991) e ROBINSON (1999), e não como sinônimo de *Proteopsis*, como proposto por PHILIPSON

(1938) e ROBINSON (1981). Além das diferenças cromossômicas, o gênero *Heterocoma* apresenta capítulos paleáceos e hábito arbustivo não rosulados, diferentemente de *Proteopsis* (SEMIR 1991). Entretanto, neste caso, o número cromossômico por si não seria argumento para embasar a separação destes em dois gêneros distintos, pois como foi registrado por MANSANARES *et al.* (2002) para o gênero *Lychnophora*, há três números cromossômicos distintos ($2n=34$, 36 e 38) citados para as espécies analisadas, da mesma forma do que o obtido no presente estudo para as espécies de *Minasia* ($2n=34$ e 38).

Os resultados obtidos neste trabalho sugerem que o número cromossômico básico $x=18$ para *Proteopsis* e $x=19$ para *Heterocoma*. Para o gênero *Minasia* pode-se sugerir $x=17$ e $x=19$. Estes dados corroboram os já citados previamente em literatura para a subtribo Lychnophorinae ($x=15$, 17, 18 e 19), coincidindo também com o com o modelo aceito por vários autores, de que as Vernonieae paleotropicals estão baseadas em $x=9$ e 10 e os representantes neotropicais em $x=17$ (TURNER *et al.* 1979; JONES 1982; DEMATTEIS 1998; CARR *et al.* 1999; MANSANARES *et al.* 2001, 2002).

Os estudos envolvendo a determinação de números cromossômicos em Lychnophorinae, embora ainda atinjam pequena proporção das espécies da subtribo, permitem visualizar um panorama preliminar sobre a utilidade do uso desse caráter na taxonomia. Conforme pode-se perceber na discussão dos números básicos da subtribo acima apresentada, *Lychnophora* possui espécies com três dos números básicos ($x=17,18$ e 19), os quais se repetem nos outros gêneros (*Proteopsis*, *Heterocoma* e *Minasia*). Assim, em termos citotaxonômicos, dificilmente estes gêneros poderão ser diferenciados com base apenas em números cromossômicos. Entretanto, a diferenciação de números cromossômicos tem demonstrado ser este um caráter

citotaxonômico extremamente útil para a diferenciação das espécies, conforme já observado em *Lychnophora* (MANSANARES *et al.* 2002).

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, a abrangência do conhecimento de números cromossômicos para os gêneros aqui analisados passa a ser de 50% das espécies de *Minasia* e a totalidade das espécies tanto de *Proteopsis* como de *Heterocoma*.

Tabela 4.1 - Espécies e populações de *Proteopsis*, *Minasia* e *Heterocoma* (subtribo Lychnophorinae) analisadas com respectivas localidades de coleta e materiais-testemunho.

ESPÉCIES	LOCAL	POPULAÇÃO	NÚMERO DE COLETOR
<i>Proteopsis</i> Mart.e Zucc. ex Schultz-Bip.			
<i>P. argentea</i>	MG, Gouveia	Pop01	Mansanares et al. 10
<i>P. morfoespécie 1</i>	MG, Serra do Cipó	Pop01	Mansanares et al. 00/48
<i>Minasia</i> H.Rob.			
<i>M. alpestris</i>	MG, Diamantina	Pop01	Mansanares et al.123
<i>M. morfoespécie 1</i>	MG, Itacambira	Pop01	Mansanares et al. 183
<i>M. pereirae</i>	MG, Serra do Cipó	Pop01	Mansanares et al.00/42
<i>Heterocoma</i> DC.			
<i>H. albida</i>	MG, Gouveia	Pop01	Mansanares et al.00/06

Tabela 4.2- Número cromossômico para espécies de *Proteopsis*, *Minasia* e *Heterocoma* (subtribo Lychnophorinae) obtidos no presente trabalho. (:* contagens inéditas).

ESPÉCIE	2n
<i>Proteopsis</i>	
<i>P. argentea</i> *	36
<i>P. morfoespécie 1</i> *	36
<i>Minasia</i>	
<i>M. alpestris</i>	34
<i>M. morfoespécie 1</i> *	38
<i>M. pereirae</i> *	34
<i>Heterocoma</i>	
<i>H. albida</i> *	38

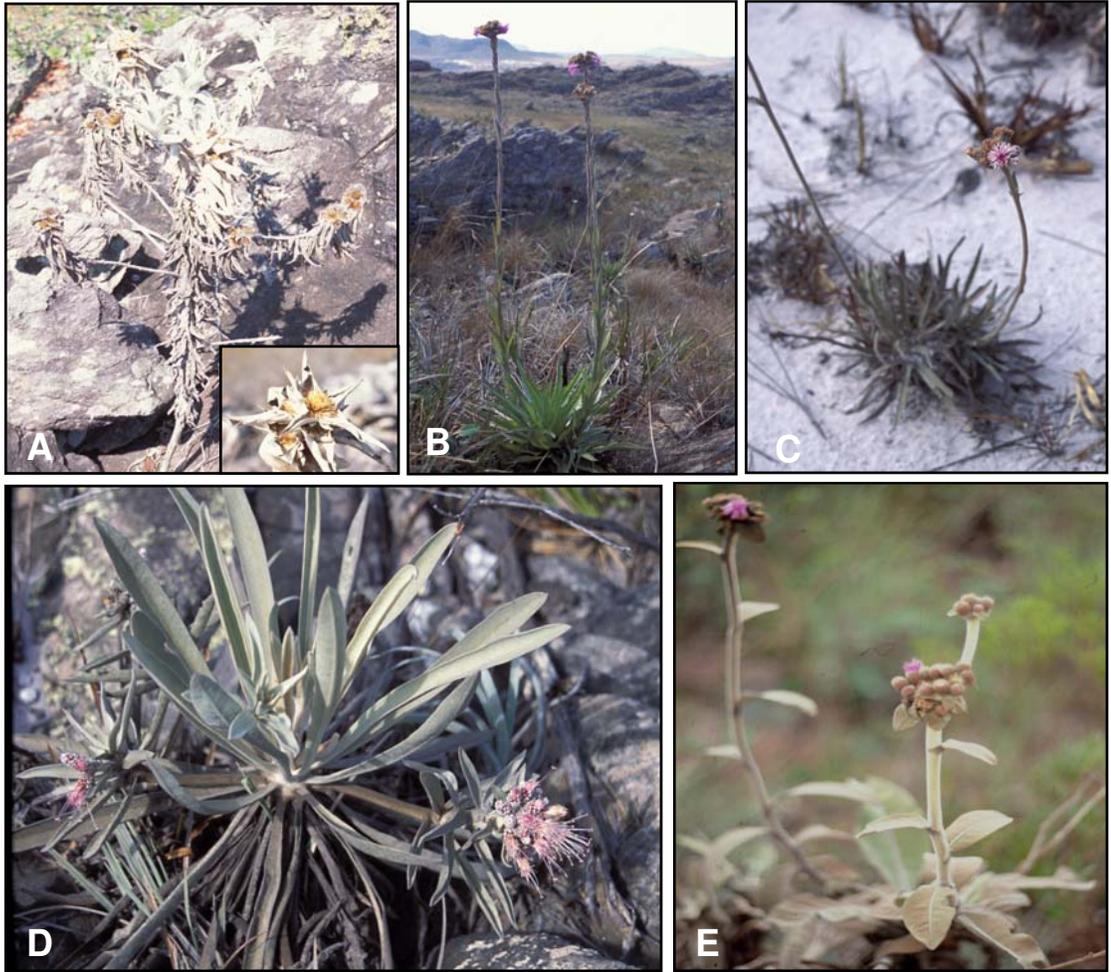


Figura 4.1 - **A** - *Heterocoma albida*; **B** – *Proteopsis argentea*; **C** - *Minasia pereirae*; **D** – *M. alpestris*; **E** – *M. morfoespécie 1*.

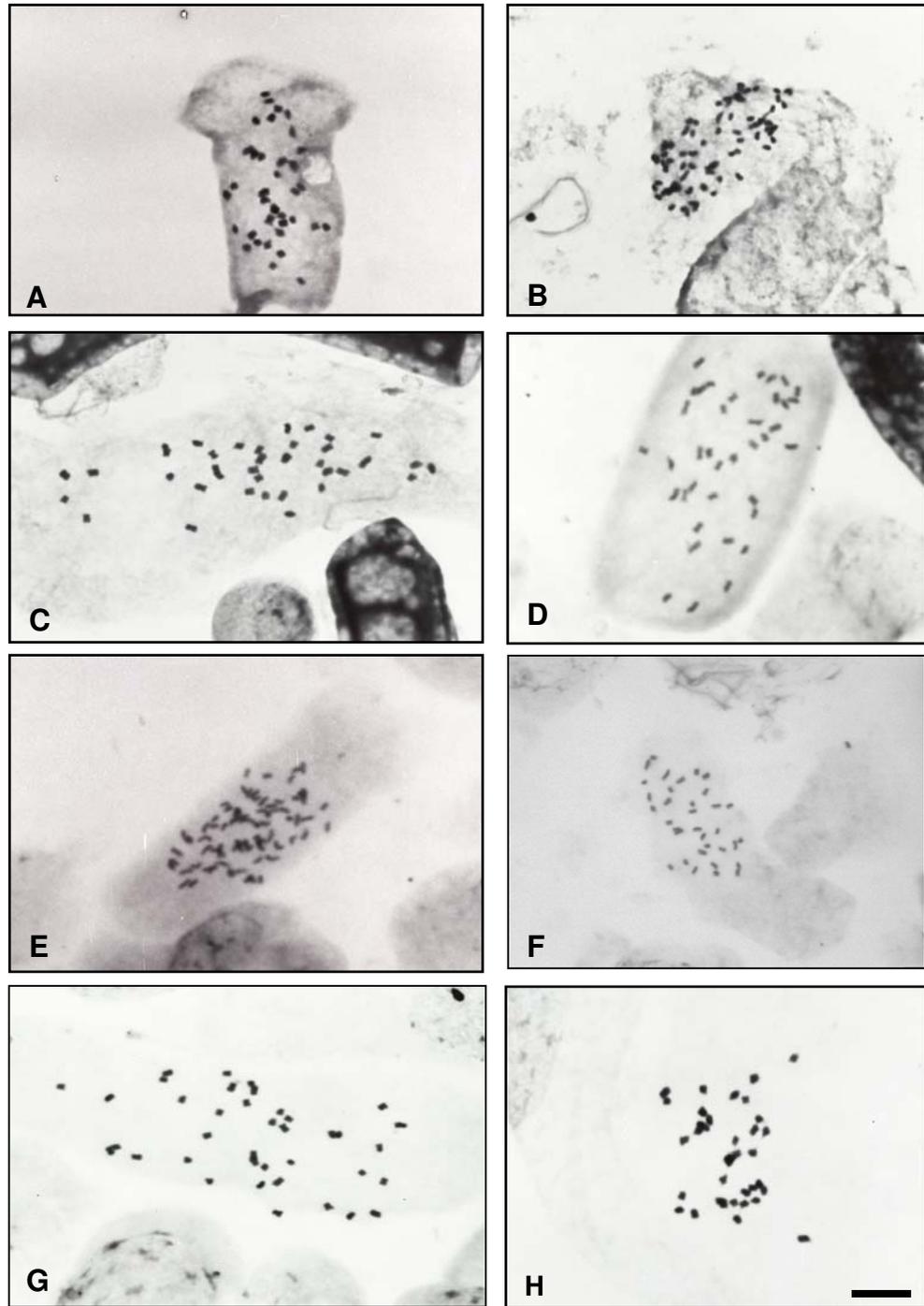


Figura 4.2 - Metáfases mitóticas: **A** – *Proteopsis argentea*, 2n=36; **B** – *P. argentea*, polissomatia, **C** - *P. morfoespécie 1*, 2n=36; **D** - *Heterocoma albida*, 2n=38; **E** –*H. albida*, células com polissomatia; **F** – *Minasia alpestris*, 2n=34; **G** – *M. morfoespécie 1*, 2n=38; **H** – *M. pereirae*, 2n=34. Barra = 10µm.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BERNADELLO, L.M. 1986. Numeros cromosomicos en Asteraceae de Cordoba. **Darwiniana**, 27(1-4): 169-178.
- CARR, G.D.; KING, R.M.; POWELL, A.M. e ROBINSON, H. 1999. *Chromosome numbers in Compositae, XVIII*. **Amer. J. Bot.**, 86(7): 1003-1013.
- COILE, N.C. e JONES JR., S.B. 1981. *Lychnophora (Compositae: Vernonieae), a endemic genus to the Brazilian planalto*. **Brittonia**, 33: 528-542.
- DEMATTEIS, M. 1996. *Estudios cromosomicos en especies Argentinas de Vernonia (Asteraceae)*. **Bonplandia**, 9(1-2): 103-110.
- DEMATTEIS, M. 1998. *Chromosome studies of some Vernonia species (Asteraceae)*. **Genet. Mol. Biol.**, 21: 381-385.
- DEMATTEIS, M. 2002. *Cytotaxonomic analysis of South American species of Vernonia (Vernonieae: Asteraceae)*. **Bot. Jour. Linn. Soc.**, 139:401-408.
- DEMATTEIS, M. e FERNÁNDEZ, A. 1998. *Karyotypes of Seven South American Species of Vernonia (Vernonieae, Asteraceae)*. **Cytologia**, 63:323-328.
- DEMATTEIS, M. e FERNÁNDEZ, A. 2000. *Chromosome studies on nine South American species of Vernonia (Vernonieae, Asteraceae)*. **Caryologia**, 53(1): 55-61.
- GALIANO, N.G. e HUNZIKER, J.H. 1987. *Estudios cariologicos en Compositae, IV. Vernonieae y Eupatorieae*. **Darwiniana**, 28(1-4): 1-8.
- GIULIETTI, A.M. e PIRANI, J.R. 1988. *Patterns of geografic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil*. **Acad. Brasil. Ciências**, 39-69.
- GUERRA, M. 1983. *O uso de Giemsa na citogenética vegetal - comparação entre a coloração simples e o bandeamento*. **Ciência e Cultura**, 35: 190-193.
- GUERRA, M. 1988. *Introdução à Citogenética Geral*. Rio de Janeiro, Guanabara, pp. 146.
- JESUS, F.F.; SOLFERINI, V.M.; SEMIR, J. e PRADO, P.I. 2001. *Local genetic differentiation in Proteopsis argentea (Asteraceae), a perenial herb endemic in Brazil*. **Pl. Syst. Evol.**, 226: (1-2) 59-68.
- JONES, S.B. 1974. *Vernonieae (Compositae) chromosome numbers*. **Bull. Torrey Bot. Club**, 101: 31-34.
- JONES, S.B. 1976. *Revision of Vernonia (Compositae), subsection Paniculatae, series Umbelliformes of the Mexican Highlands*. **Rhodora**, 78: 180-206.

JONES, S.B. 1979. *Chromosome numbers of Vernonieae (Compositae)*. **Bull. Torrey Bot. Club**, 106(2): 79-84.

JONES, S.B. 1982. *IOPB Chromosome numbers reports LXIV*. **Taxon**, 31: 126-127.

KING, B.L. 1986. *A systematic survey of the leaf flavonoids of Lychnophora (Asteraceae: Vernonieae)*. **Syst. Bot.**, 11(3): 403-414.

MACLEISH, N.F.F. 1984. *Argyrovernonia and Paralychnophora: new names in the tribe Vernonieae (Asteraceae / Compositae)*. **Taxon** 33: 105-106.

MANSANARES, M.E. 2004. *Estudos citotaxonômicos de espécies do gênero Lychnophora Mart. (Lychnophorinae: Vernonieae: Asteraceae)*. Tese de doutorado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.

MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2001. *IOPB Chromosome data XVII*. **Newsletter**, 33: 23-24.

MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2002. *Chromosome numbers in the genus Lychnophora Mart. (Lychnophorinae: Vernonieae: Asteraceae)*. **Caryologia**, 55(4): 367-374.

PHILIPSON, W.R. 1938. *L. – Four new species of Vernonieae collected by Glaziou in Brasil*. Kew, **Bull. Misc. Inform.** 1938 (7): 298-300.

ROBINSON, H. 1981. *Episcothamnus and Bishopalea, two new genera of Vernonieae (Asteraceae) from Brazil, and the resurrection of Sipolisia*. **Phytologia**, 48(3): 209-217.

ROBINSON, H. 1992. *Notes on Lychnophorinae from Minas Gerais, Brazil, a synopsis of Lychnophoriopsis Schultz-Bip., and the new genera Anteremanthus and Minasia (Vernonieae: Asteraceae)*. **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 105(3): 640-652.

ROBINSON, H. 1996. *The status of generic and subtribal revisions in the Vernonieae*. In: D.J.N.HIND and H.J.BEENTJE, editors, *Proceedings of the International Compositae Conference*, Kew, 1994, volume 1 (Systematics), pages 511-529. Kew, England: Royal Botanical Gardens.

ROBINSON, H. 1999. *Generic and subtribal classificatio of American Vernonieae*. **Smith. Contrib. Bot.**, 89: 1-116.

SEMIR, J. 1991. *Revisão Taxonômica de Lychnophora Mart. (Vernonieae: Compositae)*. Tese de doutorado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.

SOLBRIG, O.T. 1977. *Chromosomal cytology and evolution in the family Compositae*. In: HEYWOOD, V.H.; HARBORNE, J.B. e TURNER, B.L. (eds.). *The Biology and Chemistry of the Compositae I*. London, Academic Press, 1: 267-281.

STACE, C.A. 1989. *Plant Taxonomy and Biosystematics*. 2^a ed. New York, Cambridge University Press. Pp 264.

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

TURNER, B.L.; BACON, J.; URBATSCH, L. e SIMPSON, B. 1979. *Chromosome numbers in South American Compositae*. **Amer. J. Bot.**, 66(2): 173-178.

Capítulo 5

**Microsporogênese em espécies de *Lychnophora* Mart.
(Asteraceae: Vernoniaeae: Lychnophorinae)**

Autores: Mansanares, M. E. ; Forni-Martins, E.R. e Semir, J.

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Lychnophora* apresenta um grande número de endemismos, sendo encontrado somente no Brasil, nos chamados campos rupestres dos estados de Minas Gerais, Bahia e Goiás. Os campos rupestres são ambientes geralmente com topografia acidentada, clima e solo secos. As espécies do gênero ocorrem em afloramentos de solos rasos de arenito, quartzito ou ferro, ou sobre solos profundos de arenito branco. As condições ecológicas destes ambientes possivelmente propiciam uma especiação intensa, podendo ser um dos fatores destes endemismos e dos isolamentos encontrados em gêneros e espécies que ocupam este habitat (COILE e JONES 1981; GIULIETTI e PIRANI 1988; SEMIR 1991; MANSANARES *et al.* 2002).

A circunscrição e a delimitação das espécies dentro do gênero *Lychnophora* é, em alguns casos, controversa, devido principalmente à sobreposição de diversas características morfológicas (SEMIR 1991). A ocorrência de possíveis híbridos naturais entre espécies de *Lychnophora* é apontada por COILE e JONES (1981) e SEMIR (1991) como um dos fatores complicadores de sua taxonomia. Espécies simpátricas parecem estar originando híbridos naturais, como por exemplo, entre *L. tomentosa* x *L. sellowii* e *L. tomentosa* x *L. sessilis*, podendo indicar um recente isolamento entre elas, ou ainda que este não tenha sido bem estabelecido. SEMIR (1991) comentou a possibilidade de que as espécies endêmicas tenham sido formadas como uma consequência de hibridização, que ocorreria pela produção de alopoliplóides de segmento. Entretanto, não descartou a possibilidade destes possíveis híbridos serem diplóides, como sugerido por GRANT (1981) e BRIGGS e WALTERS (1997). Por outro lado, LEWIS (1972) discute a formação de espécies endêmicas sem hibridização como produtos de especiação gradual. Através do isolamento cada vez maior dos ecótipos destas espécies, pode ter

ocorrido a formação de neoendêmicos (LEWIS 1972; KRUCKEBERG e RABINOWITZ 1985; SEMIR, 1991). Um elevado grau de endemismo geralmente é correlacionado com a idade e isolamento de uma área, da diversificação dos habitats, e como estes fatores influenciam tanto a evolução, ou seja, a formação de neoendêmicos, como a sobrevivência, ou seja, produção de relíquias endêmicas (KRUCKEBERG e RABINOWITZ 1985).

Muitas peculiaridades do comportamento meiótico devem sua origem à heterozigose estrutural de cromossomos, que leva ao pareamento de genomas distintos na meiose. As diferenças que podem existir têm surgido freqüentemente por duplicação, deficiência, inversões ou translocações do material cromossômico. A ocorrência de anormalidades no comportamento cromossômico pode significar, em alguns casos, que tenha ocorrido uma provável hibridização entre duas plantas com genomas suficientemente diferentes a ponto de causar problemas mecânicos no pareamento. Também poder-se-ia cogitar a hipótese da formação inicial de autopoliplóides, embora este seja um fenômeno raro na natureza (GUERRA 1988; BRIGGS e WALTERS 1997). Geralmente é possível reconhecer se a espécie é um alo ou um autopoliplóide pelo tipo de pareamento meiótico, como no caso de duas espécies da família Asteraceae, *Eupatorium bupleurifolium* DC. e *E. callilepis* Sch.Bip. ex Baker, ambas com $2n=30$ (GUERRA 1988). Segundo GUERRA (1988), durante a meiose, em *E. bupleurifolium* observou-se a formação geralmente de trivalentes (10_{III}), enquanto em *E. callilepis* houve formação quase exclusiva de univalentes (30_I). De acordo com MERREL (1981), os autopoliplóides formariam mais multivalentes do que bivalentes durante o pareamento dos cromossomos homólogos, ocasionando uma esterilidade significativa. Isso sugere uma origem autotriplóide para *Eupatorium bupleurifolium* e alotriplóide para

E. callilepis (GUERRA 1988). Entretanto, isto nem sempre é verdadeiro, como por exemplo, em *Triticum aestivum* L. (trigo comum), um alopoliplóide segmentar em que, apesar da grande semelhança entre os genomas de suas espécies ancestrais, todos os cromossomos comportam-se como bivalentes devido à existência de um gene que impede o pareamento dos cromossomos homeólogos (STACE 1989; SUZUKI *et al.* 1989).

Para a investigação destas hipóteses sobre a origem de espécies endêmicas, o estudo biosistemático, reprodutivo e cromossômico das espécies de *Lychnophora* é muito importante. Tais estudos são praticamente inexistentes, à exceção dos cromossômicos. Quatro espécies foram analisadas por COILE e JONES (1981), estabelecendo o número básico $x=17$ para o gênero. Há também uma espécie estudada por CARR *et al.* (1999), para a qual os autores citaram um número atípico para o gênero, de $2n=18 + 1B$. Outra espécie já citada em literatura é *L. reflexo-auriculata*, estudada por JONES (1982), com $2n=36$. No recente estudo citotaxonômico para espécies do gênero *Lychnophora* em Minas Gerais, MANSANARES *et al.* (2001, 2002) e MANSANARES (2004, Capítulos 2 e 3) observaram três números cromossômicos distintos, $n=17$ ($2n=34$), $n=18$ ($2n=36$) e $n=19$ ($2n=38$) em cerca de 40 espécies, pertencentes a seis seções (*sensu* SEMIR 1991). MANSANARES *et al.* (2002) também observaram o primeiro caso de poliploidia para o gênero *Lychnophora*, em uma das populações da espécie *L. staavioides* Mart., cujo número cromossômico encontrado foi de $n=34$, sendo essa população tetraplóide com relação à base $x=17$.

O comportamento meiótico analisado por MANSANARES (2000) foi considerado normal na maioria das treze espécies analisadas, à exceção de *L. rupestris*, onde foram observadas pontes anafásicas entre alguns cromossomos, sugerindo a ocorrência de

inversão cromossômica do tipo paracêntrica (SWANSON *et al.* 1967, STEBBINS 1971, GUERRA 1988).

O objetivo do presente estudo foi a análise do comportamento cromossômico de algumas espécies de *Lychnophora* durante a microsporogênese, a fim de investigar a normalidade do processo nestas espécies.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram analisadas onze espécies do gênero *Lychnophora* (Tabela 5.1). Todas as coletas foram realizadas em campos rupestres de várias regiões do estado de Minas Gerais, como Diamantina, Serra do Cipó e Itacambira, além do Morro do Chapéu, na Bahia. Materiais-testemunho das espécies foram depositados no Herbário UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas). Os materiais coletados foram analisados e identificados segundo a conceituação de SEMIR (1991). Algumas dessas espécies (*L. angelae*, *L. cryptomerioides*, *L. grazielae*, *L. itacambirensis*, *L. nanuzae* e *L. sobolifera*) ainda não foram validamente publicadas, sendo citadas somente na tese de doutorado de SEMIR (1991).

Para os estudos meióticos foram coletados botões florais de diversos tamanhos e fixados em solução de Carnoy por 24 horas; posteriormente os botões foram estocados em álcool 70%, a 4°C. As lâminas foram preparadas através da técnica de MEDINA e CONAGIN (1964), pelo esmagamento e coloração de anteras com carmim acético 1,2%.

Contagens cromossômicas em meiose foram realizadas, em média, em 30 células por espécie, à exceção de *Lychnophora villosissima*, para a qual foram analisadas cinquenta e sete. Procurou-se analisar as diversas fases da meiose.

A mesma técnica de MEDINA e CONAGIN (1964), ligeiramente modificada, foi utilizada para a verificação da normalidade de tétrades e a taxa de viabilidade dos grãos-de-pólen. A normalidade das tétrades de cada espécie foi avaliada em aproximadamente 700 tétrades, em cerca de seis a oito botões diferentes, coletados de capítulos distintos, através da contagem do total de tétrades normais e anormais em cada lâmina.

A taxa de viabilidade dos grãos de pólen foi estimada através da contagem de cerca de 200 grãos de pólen por botão, num total de cinco botões florais de diferentes inflorescências para cada espécie. A porcentagem dos grãos de pólen viáveis e inviáveis foi calculada baseada nesta contagem. Cada lâmina foi preparada com anteras de um único botão.

As fotografias foram feitas em fotomicroscópio Olympus, modelo BX 51, utilizando filmes preto e branco Agfa Pan ISO 25 e Imagelink ISO 25.

3. RESULTADOS

Dentre onze espécies de *Lychnophora* analisadas (Tabela 5.1), cinco apresentaram anormalidades meióticas (*L. angelae*, *L. candelabrum*, *L. cryptomerioides*, *L. hatschbachii* e *L. villosissima*), enquanto nas outras quatro (*L. itacambirensis*, *L. grazielae*, *L. nanuzae*, *L. ramosissima* e *L. sobolifera*) não foram observadas nenhuma irregularidade. O número cromossômico observado para a

maioria das espécies estudadas foi n=18, à exceção de *L. angelae*, com n=17 (Tabela 5.1). Em *L. reflexo-auriculata* e *L. rosmarinifolia* foram analisadas apenas a normalidade de tétrades e a viabilidade de grãos-de-pólen, e em *L. angelae* apenas células em divisão e a normalidade das tétrades.

Em *Lychnophora angelae*, foi observado um fragmento cromossômico em metade das células analisadas (Figura 5.1B). Na única população de *Lychnophora villosissima* analisada foram observadas células com número cromossômico variável, de n=18 e n=19 (Figura 5.1D-E). Em 59,6% das células analisadas (34 células), o número cromossômico observado foi n=18, e em 40,4% (23 células) n=19. Também foi observado que em 30,1% das células analisadas, um dos bivalentes se separa antes dos demais, geralmente ainda no final da diacinese e início da metáfase I.

Outras duas espécies também apresentaram esta segregação precoce de um bivalente em relação ao resto do complemento cromossômico normal em diacinese: *L. cryptomerioides* e *L. ramosissima* (Figura 5.2C e F). Entretanto, em *L. cryptomerioides* estas observações só foram evidenciadas em duas das trinta células analisadas, e em *L. ramosissima* em apenas uma célula.

A espécie *Lychnophora candelabrum* também apresentou alterações meióticas, embora só tenham sido observadas em botões florais de apenas um dos capítulos analisados. As células analisadas apresentaram um possível fragmento ou cromossomo monovalente (Figura 5.3G). É interessante destacar que, nos outros capítulos desta mesma inflorescência, a meiose apresentou-se regular, apresentando algumas vezes, um bivalente segregando antes do resto do conjunto cromossômico.

Em *Lychnophora hatschbachii* foi observada a presença de pelo menos uma possível ponte anafásica com seu fragmento acompanhante em metáfase I, além de

vários erros meióticos, tais como várias aderências entre os cromossomos (Figura 5.3B-C), principalmente durante a anáfase I. Ainda nesta fase, quando foi possível individualizar todos os cromossomos nos pólos, foram observados que este número variava de n=17, 18 e 19 em cada um destes.

A normalidade das tétrades foi alta (de 86,51 a 98,50%) em todas as espécies analisadas, à exceção de *Lychnophora angelae*, com apenas 54,74% (Tabela 5.2). No geral, as anormalidades referiam-se à presença de um ou mais núcleos vazios nas tétrades. Em *L. angelae* também foram observadas tríades (Figura 5.1C), enquanto em *L. hatschbachii*, apesar da alta normalidade (89,38%), foram observadas pântades e tríades (Figura 5.3D).

A viabilidade dos grãos de pólen foi analisada para quatro das espécies em que se analisou a normalidade de tétrades (Tabela 5.3). Foram obtidas altas taxas de viabilidade dos grãos de pólen (superior a 90%), à exceção de *Lychnophora villosissima*, que apresentou a menor taxa neste estudo (67,79%) (Figura 5.1F). Em *L. hatschbachii*, apesar da alta viabilidade (90%), foram observados que 15,5% dos grãos-de-pólen viáveis apresentavam tamanhos diferentes com relação ao geralmente encontrado na espécie (Figura 5.3E).

4. DISCUSSÃO

O estudo do comportamento cromossômico é um dos aspectos mais importantes na investigação citogenética, uma vez que a regularidade no pareamento e disjunção dos cromossomos influenciam a fertilidade de uma planta, além de ter papel

importante na hereditariedade e na especiação (GUERRA 1988; STACE 1989, 2000; SUZUKI *et al.* 1989; FORNI-MARTINS *et al.* 1992).

Os números cromossômicos obtidos ($n=17$ e 18) corroboram as contagens cromossômicas para as espécies do gênero previamente citadas em literatura (COILE e JONES 1981; JONES 1982; MANSANARES *et al.* 2002; MANSANARES 2004, Capítulos 2 e 3).

No geral, poucos erros meióticos foram observados durante este estudo, refletindo a alta normalidade de tétrades em várias espécies de *Lychnophora* (acima de 86%), assim como a taxa de viabilidade de pólen (acima de 90%) (Tabelas 5.2 e 5.3). Estes dados sugerem que não existem impedimentos para que a reprodução neste grupo ocorra através de processos sexuais (GUERRA 1988; STACE, 1989; FORNI-MARTINS *et al.* 1992). Estes resultados coincidem com os poucos estudos sobre o comportamento cromossômico durante a meiose existentes para a tribo Vernonieae (MATHEW e MATHEW 1976; BERNADELLO 1986; GALIANO e HUNZIKER 1987; MANSANARES 2000).

Anormalidades significativas na microsporogênese ocorreram em *L. angelae* e *L. villosissima*. O fragmento cromossômico observado em *Lychnophora angelae*, deve estar relacionado à baixa porcentagem de tétrades normais (54,74%), incluindo a formação de tríades (Figura 5.1C).

Com relação à população de *L. villosissima* analisada neste trabalho, podemos sugerir que a variação de números cromossômicos ($n=18$ e 19) e a segregação antecipada de bivalentes, sejam responsáveis pela viabilidade relativamente baixa dos grãos-de-pólen (67,79%). Esta variação de números cromossômicos também foi observada em estudos mitóticos por MANSANARES (2004, Capítulo 2) em indivíduos da mesma população, confirmando a ocorrência de aneuploidia/displóidia. Segundo

MANSANARES (2004, Capítulo 2), a variação cromossômica observada nesta população de *L. villosissima* também pode ser interpretada como presença de cromossomos B, em adição ao complemento diplóide. A origem e desenvolvimento dos cromossomos B são discutidos por FREGONEZI *et al.* (2004) e por vários outros autores, que sugerem que estes surjam a partir do complemento A, através de mecanismos como a fragmentação cromossômica, amplificação de DNA e introgressão através da hibridação interespecífica.

Apesar de ter sido observada, em baixas frequências, a segregação precoce de um bivalente em relação ao complemento cromossômico normal em *L. cryptomerioides* e em *L. ramosissima*, as elevadas porcentagens de normalidade das tétrades (90,64) sugerem que este fator não esteja influenciando diretamente a formação de micrósporos viáveis, embora não tenha sido analisada a viabilidade dos grãos-de-pólen. A segregação precoce também poderia ser explicada não como uma irregularidade, mas como um bivalente no qual um pequeno quiasma pode ter ocorrido e já esteja terminalizado antes do início da metáfase.

O possível fragmento ou cromossomo monovalente observado em *Lychnophora candelabrum* ainda precisa ser melhor investigado, principalmente porque foi encontrado em apenas um dos capítulos analisados, sendo necessários estudos envolvendo outras populações. Um explicação é que este não seja um monovalente, mas sim um fragmento cromossômico, decorrente talvez de uma inversão.

As irregularidades meióticas observadas em *L. hatschbachii*, como a presença de uma possível ponte anafásica com seu fragmento e as aderências entre os cromossomos em anáfase I, estão diretamente relacionadas com as pântades e grãos-de-pólen de tamanhos diferentes encontrados na microsporogênese (Figura 5.3B-E).

Baseando-se na análise destes dados, podemos sugerir que nesta espécie possa ocorrer dois tipos de alterações estruturais nos cromossomos: inversões paracêntricas e/ou translocações. O tipo de translocação mais comumente encontrado na natureza é a translocação recíproca. Neste tipo de alteração cromossômica não existe perda nem ganho de material genético, de maneira que este é apenas redistribuído entre os cromossomos. Entretanto, após a separação dos homólogos na meiose, uma parte dos gametas produzidos poderá não ser balanceada, contendo deleções e duplicações (SWANSON *et al.* 1967; GUERRA 1988; STACE 1989; SUZUKI *et al.* 1989). Este tipo de alteração pode estar explicando a diferença no tamanho dos grãos-de-pólen, pois em vegetais é conhecida uma situação conhecida como semi-esterelidade, e neste caso, os grãos menores seriam atrofiados. Para confirmação desta suposição, seria necessário o uso de técnicas mais apuradas.

Sistemas de translocações bem sucedidas são reconhecidos somente para algumas plantas e animais. As translocações diferem de outras maneiras dos outros tipos estruturais. Elas podem flutuar na população em um estado polimórfico, mas também podem tornar-se fixadas não somente no estado homocigoto (raças de translocação) como no estado heterocigoto (heterocigotos estruturais permanentes) (JOHN 1980). Em plantas, elas ocorrem especialmente nas Onagraceae, nos gêneros *Clarkia*, *Stenosiphon*, entre outros. Uma situação especialmente interessante ocorre em *Clarkia*, em que translocações heterocigotas foram encontradas em 14 das 34 espécies diplóides conhecidas, e que são endêmicas no Noroeste da América do Norte e em um único complexo poliplóide do Sudoeste da América do Sul (JOHN 1980).

Se o caso for a ocorrência de inversões cromossômicas, esta seria do tipo paracêntrica, devido à presença das aderências (Figura 5.3C), que podem ser pontes

anafásicas resultantes de um uma permutação dentro da seção invertida, em condições heterozigotas. Do ponto de vista genético, a inversão tem como consequência a restrição, ou mesmo o bloqueio total da recombinação gênica na região invertida (SWANSON *et al.*, 1967; GUERRA, 1988; STACE, 1989; SUZUKI *et al.*, 1989). Segundo GUERRA (1988), a condição heterozigota muitas vezes pode ter uma adaptabilidade maior que qualquer uma das formas homozigotas.

As inversões cromossômicas podem ser um dos fatores que influenciam algumas divergências específicas, criando barreiras que previnem a reprodução com a população que lhes deu origem (SWANSON *et al.*, 1967). MANSANARES (2000) observou a presença de pontes de ligação entre alguns cromossomos metafásicos em *L. rupestris* e disjunção cromossômica irregular durante a anáfase II nesta espécie, indicativo de inversões paracêntricas. Pode-se ainda inferir que este comportamento meiótico, com presença de pontes de inversão e disjunção irregular dos cromossomos, talvez possa denotar o caráter híbrido tanto de *L. rupestris*, como sugerido por Mansanares (2000), quanto para *L. hatschbachii*, analisada no presente estudo.

Lychnophora hatschbachii é uma espécie microendêmica, e segundo JONH (1980), acredita-se que rearranjos que diminuem a fecundidade no estado heterozigoto só podem ser fixados em populações pequenas. Segundo este autor (JONH 1980), a ocorrência de diferenças cromossômicas entre raças ou espécies pode indicar que as circunstâncias sob as quais as espécies aparecem, envolvendo populações locais pequenas, como é o caso de *L. hatschbachii*, podem ser especialmente favoráveis ao estabelecimento e fixação de certos tipos de rearranjos. O alto grau de endemismo está geralmente correlacionado com a idade e o isolamento de uma área e com a diversificação desses habitats, sendo que estes fatores influenciam tanto a evolução,

isto é, a formação de novos endêmicos, bem como a sobrevivência de espécies microendêmicas (KRUCKEBERG e RABINOWITZ, 1985). Vale ressaltar que as porcentagens de tétrades normais e de grãos-de-pólen viáveis observados para esta espécie são consideradas elevadas (89,38% e 90,0%), sugerindo que mesmo com todas as alterações no comportamento meiótico observadas para esta espécie, ela possa reproduzir-se sexuadamente.

Observações posteriores devem ser conduzidas nestas e em outras espécies do gênero, pois irregularidades meióticas já foram registradas para outras espécies de *Lychnophora*, como *L. rupestris*, já comentada acima, e em uma população tetraplóide de *L. staavioides*, na a qual foram observados apenas univalentes na metáfase I (MANSANARES 2000).

Os dados relativos à irregularidade meiótica de algumas espécies de *Lychnophora* obtidos no presente estudo e observados por MANSANARES (2000), talvez possam explicar ou serem decorrentes da possível formação de híbridos naturais. Estes mecanismos talvez sejam os responsáveis pelo processo de especiação dentro do gênero (GUERRA 1988; STACE 1989). Segundo SEMIR (1991), barreiras temporais e comportamentais não parecem ocorrer entre as espécies de *Lychnophora* simpátricas e parapátricas. Em várias espécies foi observado que mesmo quando algumas populações não estão em seu pico máximo de floração, alguns indivíduos podem apresentar flores e frutos, ocorrendo sobreposição neste aspecto entre populações da mesma espécie ou de espécies distintas (SEMIR 1991).

COILE e JONES (1981), baseando-se em caracteres morfológicos, discutiram a ocorrência de formação de híbridos no gênero, considerando *L. rosmarinifolia* e *L. bahiensis* como híbridos de *L. uniflora* e *L. staavioides*. ROBINSON (1983, 1999) não

aceita *L. bahiensis* como híbrido, considerando-a como espécie válida, embora sugira que a hibridização possa ocorrer no gênero *Lychnophora*. SEMIR (1991) não aceita *L. rosmarinifolia* e *L. bahiensis* como híbridos, e coloca *L. bahiensis* como sinônimo de *L. rosmarinifolia*. Segundo SEMIR (1991), *L. staavioides* e *L. rosmarinifolia* ocorrem simpatricamente apenas em algumas regiões próximas a Diamantina, porém estas duas espécies diferem pelo tipo de crescimento, sendo que em *L. staavioides* há uma maior robustez dos ramos, do ápice e indumento diferente nas folhas comparado à *L. rosmarinifolia*. Estas duas espécies apresentam o porte arbustivo com caule e eixo principal alongados e ramos secundários arqueados, proporcionando a estas espécies um aspecto de candelabro, o que as distingue de *L. uniflora*, que apresenta o hábito subarbustivo bromelióide, onde o eixo principal é bastante abreviado. Além disso, *L. uniflora* é endêmica ao estado da Bahia, onde, às vezes, pode crescer próximo à *L. rosmarinifolia*, mas nunca junto de *L. staavioides*, endêmica à região de Diamantina (MG), sendo impossível a hibridização proposta por COILE e JONES (1981), a se considerar a presente distribuição geográfica.

Esta opinião é reforçada pelo trabalho de KING (1986) com flavonóides de *Lychnophora*. Segundo este autor, vários flavonóides encontrados nos taxa supostamente parentais (*L. uniflora* e *L. staavioides*) são ausentes nos possíveis híbridos (*L. bahiensis* e *L. rosmarinifolia*), incluindo um composto que é comum à ambas espécies então ditas parentais. Além disso, *L. bahiensis* e *L. rosmarinifolia* também apresentam três compostos que não foram detectados em *L. uniflora* ou *L. staavioides*, e de acordo com KING (1986), não existem evidências de que estes flavonóides sejam componentes novos, resultantes de pequenas alterações nas vias biossintéticas, embora possa ser descartada a hipótese de que tenha ocorrido um

nocautes gênicos decorrentes da possível hibridação, impossibilitando a sintetização destes compostos.

A análise da microsporogênese em algumas poucas espécies de *Lychnophora* tem indicado irregularidades meióticas, com a perspectiva de trazer bons subsídios ao estudo reprodutivo e biosistemático da subtribo Lychnophorinae. Estudos referentes à polinização, dispersão, germinação de sementes e estabelecimento de plântulas, são praticamente inexistentes.

Tabela 5.1. Espécies e populações de *Lychnophora* analisadas e respectivas localidades de coleta e materiais-testemunho.

ESPÉCIE	LOCAL	NÚMERO DE COLETOR	n
<i>L. angelae</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Serra do Cipó	<i>Mansanares e Verola 377</i>	17
<i>L. candelabrum</i> (Sch.-Bip.) H.Rob.	MG, Gouveia	<i>Mansanares e Verola 367</i>	18
<i>L. cryptomerioides</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Diamantina	<i>Mansanares et al. 163</i>	18
<i>L. grazielae</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Serra do Cipó	<i>Mansanares e Verola 376</i>	19
<i>L. hatschbachii</i> H.Rob.	MG, Diamantina	<i>Mansanares et al. 100</i>	18
<i>L. itacambirensis</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Itacambira	<i>Mansanares et al. 266</i>	18
<i>L. nanuzae</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Diamantina	<i>Mansanares et al. 143</i>	18
<i>L. ramosissima</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Diamantina	<i>Mansanares et al. 171</i>	18
<i>L. reflexo-auriculata</i> (G.M.Barroso) Hind	BA, Morro do Chapéu	<i>Aona 764</i>	-
<i>L. rosmarinifolia</i> Mart.	MG, Diamantina	<i>Mansanares et al. 00/36</i>	-
<i>L. sobolifera</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	MG, Diamantina	<i>Mansanares et al. 110</i>	18
<i>L. villosissima</i> Mart.	MG, Diamantina	<i>Mansanares et al. 00/23</i>	18

Tabela 5.2- Normalidade de tétrades em espécies de *Lychnophora* analisadas.

ESPÉCIE	TÉTRADES NORMAIS	TÉTRADES ANORMAIS	TOTAL DE TÉTRADES	TAXA DE NORMALIDADE (%)
<i>L. angelae</i>	612	506	1118	54,74
<i>L. candelabrum</i>	776	121	897	86,51
<i>L. cryptomerioides</i>	513	53	566	90,64
<i>L. hatschbachii</i>	1244	1112	2356	89,38
<i>L. itacambirensis</i>	710	37	747	95,05
<i>L. nanuzae</i>	596	62	658	90,58
<i>L. ramosissima</i>	544	28	572	95,10
<i>L. reflexo-auriculata</i>	986	14	1001	98,50
<i>L. rosmarinifolia</i>	1014	25	1039	97,60
<i>L. sobolifera</i>	780	33	813	95,94
<i>L. villosissima</i>	3021	378	3389	89,14

Tabela 5.3. Viabilidade dos grãos de pólen em espécies de *Lychnophora* analisadas.

ESPÉCIE	PÓLEN VIÁVEIS	PÓLEN INVIÁVEIS	TOTAL DE GRÃOS DE PÓLEN ANALISADOS	VIABILIDADES DO PÓLEN (%)
<i>L. hatschbachii</i>	1923	242	2165	90,0
<i>L. reflexo-auriculata</i>	1036	20	1056	98,11
<i>L. rosmarinifolia</i>	994	70	1064	93,42
<i>L. villosissima</i>	720	342	1062	67,79

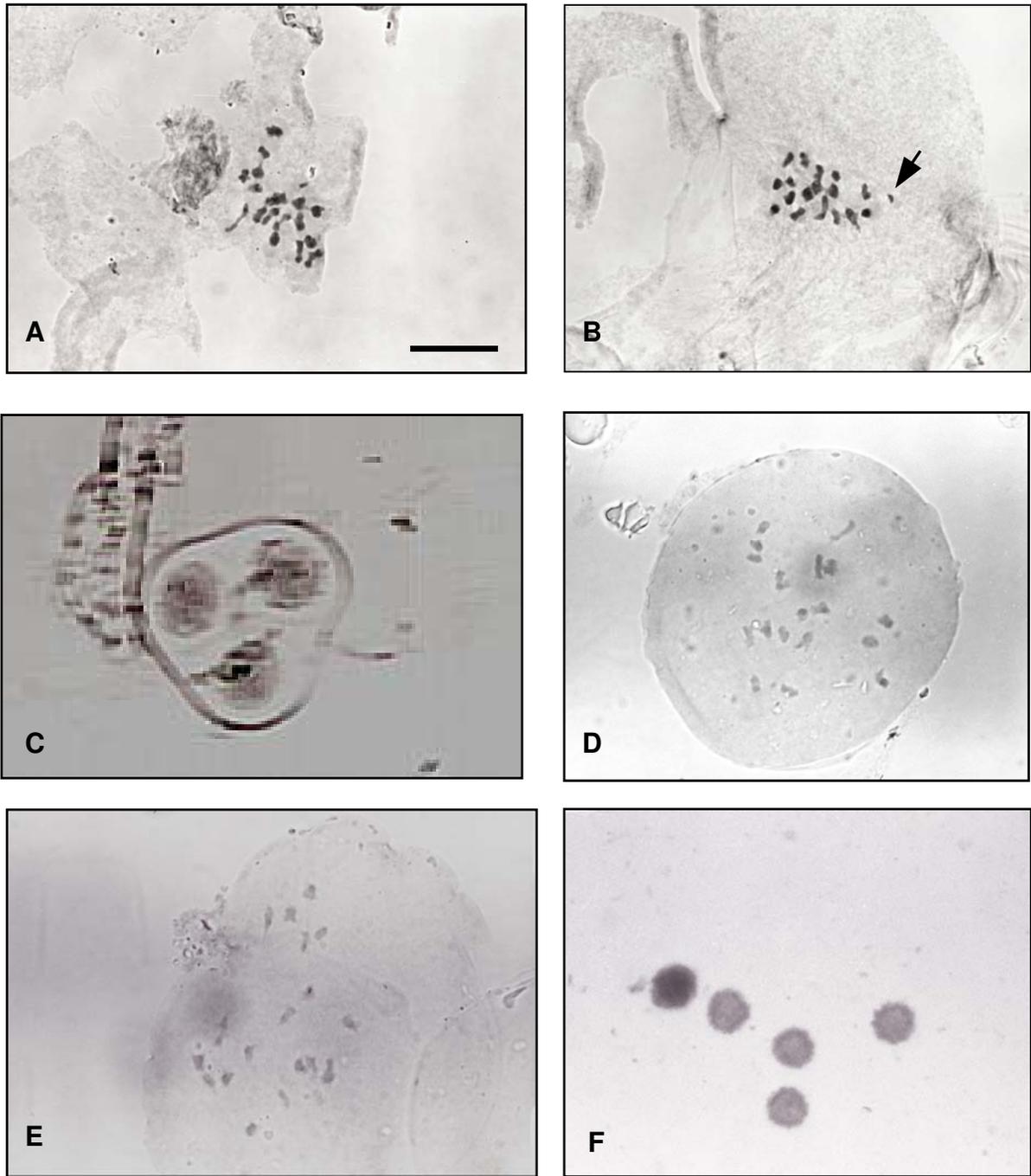


Figura 5.1 – Microsporogênese em espécies de *Lychnophora*. **A** – *L. angelae*, n=17; **B** – *L. angelae*, n=17, seta: fragmento cromossômico; **C** – *L. angelae*, tríade; **D** – *L. villosissima*, n=18; **E**- *L. villosissima*, n=19; **F** – *L. villosissima*, grãos-de-pólen inviáveis. Barra = 10 μ m.

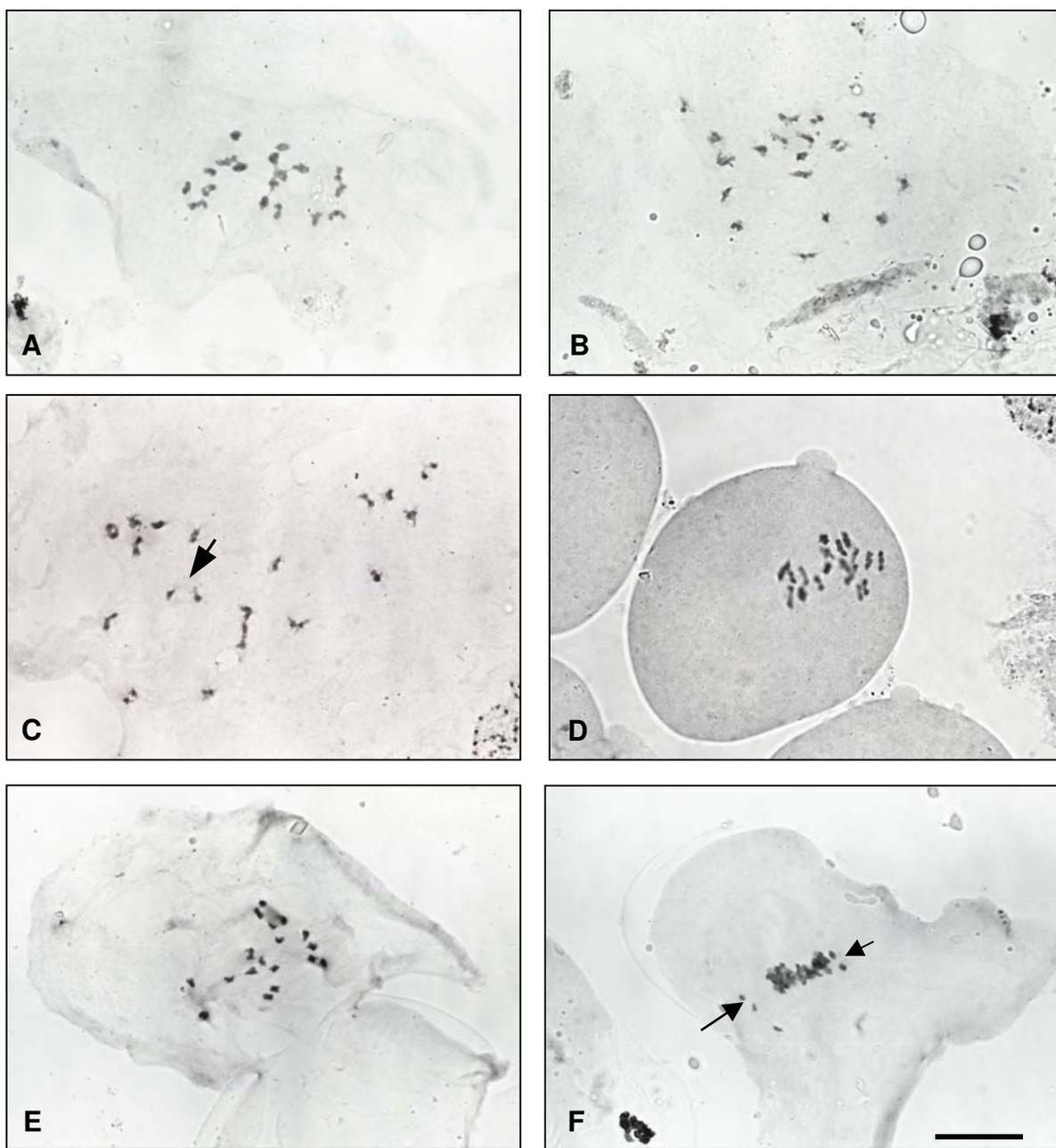


Figura 5.2 – Microsporogênese em espécies de *Lychnophora*. **A** – *L. sobolifera*, n=18; **B** – *L. ramosissima*, n=18; **C** – *L. ramosissima*; bivalente com segregação precoce (seta). **D** – *L. nanuzae*, n=18; **E**- *L. cryptomerioides*, n=18; **F** – *L. cryptomerioides*; bivalente com segregação precoce (seta). Barra = 10µm.

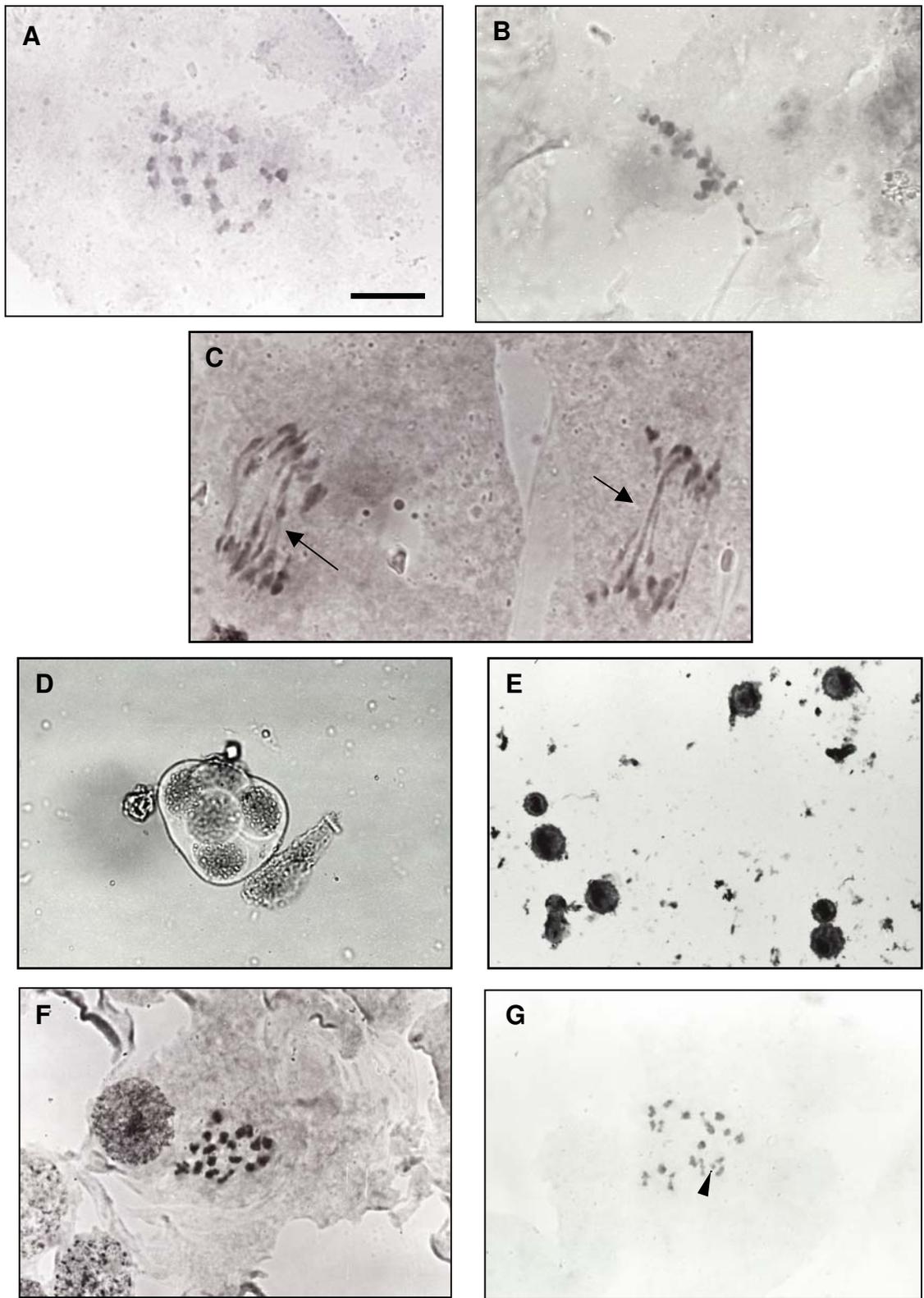


Figura 5.3 – Microsporogênese em espécies de *Lychnophora*. **A** - *L. hatschbachii*, n=18; **B** - *L. hatschbachii*. **C** - *L. hatschbachii*, aderências (setas); **D** - *L. hatschbachii*, pântade; **E** - *L. hatschbachii*, grãos-de-pólen de tamanhos diferentes e viáveis; **F** - *L. candelabrum*, n=18; **G** - *L. candelabrum*, possível fragmento ou monovalente (seta). Barra = 10 μ m.

5- REFERENCIAS

- BERNADELLO, L.M. 1986. *Numeros cromosomicos en Asteraceae de Cordoba. Darwiniana*. 27(1-4): 169-178.
- BRIGGS, D. e WALTERS, S.M. 1997. *Plant variation and evolution*. 3ª ed. London, Cambridge University Press., pp 512.
- CARR, G.D.; KING, R.M.; POWELL, A.M. e ROBINSON, H. 1999. *Chromosome numbers in Compositae, XVIII. Am. J. Bot.*, 86(7): 1003-1013.
- COILE, N.C. e JONES JR., S.B. 1981. *Lychnophora (Compositae: Vernonieae), a endemic genus to the Brazilian planalto. Brittonia*, 33: 528-542.
- FORNI-MARTINS, E.R., PINTO-MAGLIO, C.A.F. e CRUZ, N.C. 1992. *Biologia da reprodução em plantas de cerrado: microsporogênese*. Anais do 8º Congresso SBSP, 77-82.
- FREGONEZI, J.N., TOREZAN, J.M.D. e VANZELA, A.L.L. 2004. *Different B-chromosomes in Cestrum intermedium and C. strigilatum evidenced by chromosome banding. Cytogenet. Genome Res.*, 106 (2-4): 184 – 188.
- GALIANO, N.G. e HUNZIKER, J.H. 1987. *Estudios cariologicos en Compositae, IV. Vernonieae y Eupatorieae. Darwiniana*, 28(1-4): 1-8.
- GIULIETTI, A.M. e PIRANI, J.R. 1988. *Patterns of geografic distribution of some plant species from the Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. Acad. Brasil. Ciências*, 39-69.
- GRANT, V. 1981. *Plant Speciation*. New York, Columbia Univ. Press.
- GUERRA, M. 1988. *Introdução à Citogenética Geral*. Rio de Janeiro, Guanabara, pp. 146.
- JOHN, B. 1980. *Citogenética de populações*. São Paulo, EUDSP, 84pp.
- JONES, S.B. 1982. *IOPB Chromosome numbers reports LXIV. Taxon*, 31: 126-127.
- KING, B.L.. 1986. *A systematic survey of the leaf flavonoids of Lychnophora (Asteraceae: Vernonieae). Syst. Bot.*, 11(3): 403-414.
- KRUCKEBERG, A.R. E RABINOWITZ D. 1985. *Biological aspects of endemism in higher plants. Amer. Rev. Ecol. Syst.* 16:447-479.
- LEWIS, H. 1972. *The origin of endemies in the California flora: In: Valentine, d.h. (ed.) Taxonomy, Phytogeography and Evolution*. London, Academic Press.

- MANSANARES, M.E. 2000. *Estudo citotaxonômico de espécies do gênero Lychnophora Mart. (Asteraceae: Vernonieae) em Minas Gerais*. Tese de Mestrado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.
- MANSANARES, M.E. 2004. *Estudos citotaxonômicos de espécies do gênero Lychnophora Mart. (Lychnophorinae: Vernonieae: Asteraceae)*. Tese de doutorado.
- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2001. *IOPB Chromosome data XVII. Newsletter*, 33: 23-24.
- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2002. *Chromosome numbers in the genus Lychnophora Mart. (Lychnophorinae: Vernonieae: Asteraceae)*. **Caryologia**, 55(4): 367-374.
- MATHEW, A. E MATHEW, P.M. 1976. *Studies on South Indian Compositae, II. Cytology*, 41: 401-406.
- MEDINA, D.M. e CONAGIN, C.H.T.M. 1964. *Técnica citológica*. Publicação 2610. Campinas, Inst. Agron. Campinas.
- MERREL, D.J. 1981. *Ecological Genetics*. London, Langman.
- ROBINSON, H. 1983. *Five new species of Lychnophora from Bahia, Brazil (Vernonieae: Asteraceae)*. **Phytologia**, 53: 169-384.
- ROBINSON, H. 1999. *Generic and subtribal classification of American Vernonieae*. **Smith. Contrib. Bot.**, 89: 1-116.
- SEMIR, J. 1991. *Revisão Taxonômica de Lychnophora Mart. (Vernonieae: Compositae)*. Tese de doutorado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.
- STACE, C.A. 1989. *Plant Taxonomy and Biosystematics*. 2ª ed. New York, Cambridge University Press. pp. 264.
- STACE, C.A. 2000. *Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21th centuries*. **Taxon**, 49: 451-477.
- STEBBINS, G.L. 1971. *Chromosomal evolution in higher plants*. London, Edward Arnold (Publishers) Ltd., pp.216.
- SUSUKI, D.T., GRIFFITHS, A.J.F., MILLER, J.H. e LEWONTIN, R.C. 1989. *Introdução à genética*. 4ª edição, Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan.
- SWANSON, C.P.; MERZ, T. e YOUNG, W.J. 1967. *Citogenética*. São Paulo, Editora Polígono S.A., pp.255.

Capítulo 6

Distribuição de sítios de DNAr 45S em espécies de *Lychnophora* Mart. e *Minasia* H.Rob. (Asteraceae: Vernonieae: Lychnophorinae)

Autores: Mansanares, M.E.; Forni-Martins, E.R.; Vanzela, A.L.L. e Semir, J.

1. Introdução

Na tribo Vernonieae, a subtribo Lychnophorinae apresenta alguns problemas em sua taxonomia, a qual reflete uma discordância sobre a validade e número de espécies. Isto é influenciado também pela ocorrência de possíveis híbridos naturais entre espécies de *Lychnophora* (COILE e JONES 1981; SEMIR 1991). O gênero *Minasia* também pertence a esta subtribo, e embora apresente sobreposições dos caracteres morfológicos com outros gêneros, suas espécies parecem ser bem estabelecidas (ROBINSON 1992).

Recentemente, MANSANARES *et al.* (2001, 2002) e MANSANARES (2004, Capítulos 2, 3 e 4) realizaram estudos citotaxonômicos em representantes do gênero *Lychnophora* Mart. e de outros gêneros da subtribo Lychnophorinae, como *Proteopsis*, *Minasia* e *Heterocoma*. Os dados obtidos por estes autores evidenciaram variação de números cromossômicos ($2n=34$, 36 e 38) em *Lychnophora* (*sensu* SEMIR 1991), os quais foram distribuídos em proporções praticamente iguais entre as espécies estudadas, em *Minasia* ($2n=34$ e 38), *Proteopsis* ($2n=36$) e *Heterocoma* ($2n=38$). Segundo MANSANARES *et al.* (2002) e MANSANARES (2004, Capítulos 2, 3 e 4), os resultados obtidos confirmam, em sua maioria, a proposição taxonômica de SEMIR (1991), como acontece, por exemplo, entre as espécies *L. ericoides* ($2n=34$), *L. gardneri* ($2n=36$) e *L. pseudovillosissima* ($2n=38$) (*sensu* SEMIR 1991), que eram consideradas por COILE e JONES (1981) como sendo uma única espécie (*L. ericoides*). Os números cromossômicos apesar de não embasarem a separação das espécies em seções, são caracteres muito importantes na diferenciação de algumas espécies (MANSANARES 2004, Capítulos 2, 3 e 4; MANSANARES *et al.* 2001, 2002). A comparação dos ideogramas e cariótipos, obtidos por técnicas de coloração convencional, auxiliar pouco

na diferenciação das sete espécies de *Lychnophora* já estudadas, devido à sobreposições e proximidade no tamanho (1,10 a 2,58 μm), e na forma cromossômica, com predomínio de cromossomos metacêntricos, além de alguns submetacêntricos (MANSANARES 2004, Capítulos 2 e 3).

Uma alternativa para contornar a deficiência da citogenética convencional é a técnica de hibridação *in situ*. Esta permite a localização de uma ou mais seqüências específicas de DNA, tanto em cromossomos condensados quanto no núcleo interfásico (HESLOP-HARRISON *et al.* 1991; MALUSZYNSKA e HESLOP-HARRISON 1993). As seqüências de DNA repetitivo mais comumente utilizadas são DNAr 45S (18S-5,8S-26S), DNAr 5S, teloméricas e microssatélites. A localização destas seqüências pode constituir-se em um valioso marcador citológico para a identificação cromossômica, bem como fornecer informações filogenéticas importantes para a taxonomia de um determinado grupo (CERBAH *et al.* 1998; GATT *et al.* 1999; STACE 2000; SNOWDON *et al.* 2001; SUMNER 2003; WEISS-SCHNEEWEISS *et al.* 2003; GARNATJE *ET AL.* 2004).

A análise da distribuição de seqüências de DNA repetitivo permite detectar rearranjos cromossômicos que podem auxiliar na investigação das relações filogenéticas entre espécies. Comparado-se o número e a distribuição destas seqüências mediante a técnica de FISH, além de obter-se uma base para o estudo da organização de parte de um genoma, é também possível subsidiar a taxonomia vegetal.

O presente estudo faz parte da análise citotaxonômica de espécies de *Lychnophora* e gêneros próximos, tendo como objetivo iniciar a investigação da evolução cariotípica de algumas destas espécies através da técnica de FISH, baseada em marcadores cromossômicos de DNAr.

2. Material e Métodos

Foram analisadas 13 espécies do gênero *Lychnophora* (*sensu* SEMIR 1991) pertencentes a cinco seções, e uma de *Minasia*, coletadas em campos rupestres de várias regiões da Cadeia do Espinhaço, nos estados brasileiros de Minas Gerais e Bahia (Tabela 6.1).

Ramos florais e vegetativos foram coletados e herborizados seguindo técnicas usuais. Materiais-testemunho das espécies foram depositados no Herbário UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas). A conceituação taxonômica das espécies de *Lychnophora* analisadas segue SEMIR (1991), sendo a espécie de *Minasia* provavelmente uma nova entidade taxonômica, ainda sem publicação válida (*Minasia morfoespécie 1*).

Pontas de raízes recém-germinadas foram coletadas e submetidas a pré-tratamento com 8-hidroxiquinoleína, solução 2Mm, por 5 horas a 14-15°C. Em seguida, as raízes foram fixadas em solução Carnoy (etanol absoluto: ácido acético, 3:1, v:v) por 24 horas à temperatura ambiente e depois mantidas em freezer. As preparações cromossômicas foram obtidas mediante esmagamento de meristemas radiculares digeridos em solução enzimática (celulase 2% + pectinase 20%) por 3 horas, a 37°C.

A hibridação *in situ* foi realizada de acordo com o procedimento descrito por HESLOP-HARRISON *et al.* (1991) e CUADRADO e JOUVE (1994), com modificações (FREGONEZI *et al.* 2004). Foi utilizada a sonda de trigo: pTa71 contendo a seqüência de DNAr 45S (18S-5.8S-26S), marcada com biotina por *nick translation*. As preparações foram incubadas em 100µg/ml de RNase, pós-fixadas em paraformaldeído 4%, desidratadas em série alcoólica de etanol 70-100%. As lâminas foram secas à temperatura ambiente por cerca de 90 a 120 minutos. A mistura contendo a sonda

(50% formamida, 20% polietilenoglicol 50%, 10% de 20xSSC, 3,33% de SDS, 3,33% de DNA de bloqueio e 13,33% de sonda 45S) foi desnaturada a 70°C por 10 minutos e imediatamente resfriada no gelo. A desnaturação dos cromossomos foi realizada a 90°C por 10 minutos, 50°C por 10 minutos, 38°C por 10 minutos e 38°C por 5 minutos usando um termociclador, e colocadas a hibridar a 37°C em câmara úmida. A sonda marcada com biotina (DNAr 45S) foi detectada com solução de avidina/FITC 1:100 (em BSA 5%) e os cromossomos contra-corados com iodeto de propídeo. As preparações foram montadas em Vectashield (*antifade*).

Os estudos foram realizados no Laboratório de Biosistemática do Departamento de Botânica/IB/UNICAMP, no LABRE (Laboratório de Biodiversidade e Restauração de Ecossistemas - Genética), do Departamento de Biologia Geral/CCB/UEL e no Laboratório de Citogenética do Departamento de Biologia Celular/IB/UNICAMP.

3. Resultados

O número de sítios de DNAr 45S observados variou de 4 a 10 nas espécies de *Lychnophora* e *Minasia* analisadas (Tabela 6.1, Figuras 6.1 e 6.2). Em todas as espécies, os sinais de DNAr 45S foram observados nas regiões terminais dos braços curtos dos cromossomos, variando apenas no número de sítios e na intensidade do sinal fluorescente, não tendo sido observados sinais intercalares.

Das oito espécies da seção *Lychnophora* (sensu SEMIR 1991), quatro apresentaram $2n=34$, sendo observados 6 sítios de DNAr 45S em três espécies (*L. diamantinana*, *L. ericoides* e *L. staavioides*) e 8 sítios em uma delas (*L. pinaster*) (Figura 6.1). Dentre as três espécies desta seção com $2n=36$, em duas foram observados 6

sítios de DNAr 45S (*L. cryptomerioides* e *L. itacambirensis*) e 8 sítios em uma (*L. rosmarinifolia*). Em *L. pseudovilosissima*, única espécie da seção *Lychnophora* aqui analisada com $2n=38$, foram observados 10 sítios de DNAr 45S, sendo este o maior número de sítios registrado para ano gênero *Lychnophora*. É interessante destacar que, dos 10 sítios observados nesta espécie, seis são bem menores do que os outros quatro (Figura 6.1F).

As duas espécies da seção *Lychnophoriopsis* (sensu SEMIR 1991) apresentaram número cromossômico $2n=36$. Em *Lychnophora hatschbachii* e *L. montesclarensis* foram evidenciados 6 sítios de DNAr 45S (Figura 6.2). Nestas espécies, apesar da semelhança do número de sítios de hibridação, algumas diferenças foram destacadas. Em *L. hatschbachii*, pode-se evidenciar dois sinais grandes e outros dois bem menores. Em *L. montesclarensis*, os quatro sinais eram grandes.

Na seção *Lychncephaliopsis*, em *L. grazielae* ($2n=38$) foram observados 6 sítios de DNAr 45S (Figura 6.2), todos com fraca intensidade de fluorescência. Na seção *Sphaeranthus*, em *Lychnophora santosii* ($2n=38$) também foram observados 6 sítios de DNAr 45S (Figura 6.2F).

Na seção *Lychnophorioides*, *L. syncephala* ($2n=34$) mostrou 8 sítios de DNAr 45S (Figura 6.2C). Nesta espécie foram observadas células com polissomatia, isto é, células tetraplóides esporádicas em meio às células normais. O uso da FISH evidenciou que estas células polissomáticas apresentavam o número de sítios de hibridação duplicados em relação ao número observado nas células diplóides normais (Figura 6.2D).

Para a espécie do gênero *Minasia* aqui analisada, *M. morfoespécie 1*, a técnica

de hibridação revelou 8 sítios de DNAr 45S.

4. Discussão

Os números cromossômicos obtidos para as espécies analisadas coincidem com os dados previamente citados em literatura de $2n=34$, 36 e 38 (MANSANARES *et al.* 2001, 2002) e MANSANARES (2004, Capítulos 2, 3 e 4). Os cariótipos das espécies de *Lychnophora* são em sua maioria do tipo simétrico, com pequenos cromossomos (1,10 a 2,58 μm) metacêntricos e submetacêntricos (MANSANARES 2004, Capítulos 2 e 3), o que dificulta a identificação de pares cromossômicos.

Todas as espécies analisadas apresentaram os sinais de hibridação terminais, no braço curto dos cromossomos, concordando com a sugestão de LIMA DE FARIA (1973, 1976), que esta é uma tendência geral dentro de Asteraceae. Estudos envolvendo hibridação de DNAr 45S em espécies desta família também mostraram esta tendência (GATT *et al.* 1998, 1999; VANZELA *et al.* 2002; WEISS-SCHNEEWEISS *et al.* 2003; GARNATJE *et al.* 2004; FREGONEZI *et al.* 2004).

Embora a localização dos sítios de DNAr 45S tenha se mostrado constante nas espécies analisadas, variações foram encontradas no número e intensidade. A técnica de hibridação *in situ* é mais qualitativa do que quantitativa, entretanto, uma associação entre o tamanho dos sinais de hibridação e o número de seqüências de DNAr repetidas pode ser demonstrada, de maneira que sinais mais intensos representam sítios com maior número de seqüências repetidas do que os sinais menos intensos (ZURITA *et al.* 1997, FREGONEZI *et al.* 2004).

L. pinaster e *L. ericoides*, sinonimizadas sob *L. ericoides* por COILE e JONES

(1981) , foram diferenciadas por SEMIR (1991), sob cuidadosa observação, pelo hábito, indumento e atributos foliares. Embora estas duas espécies apresentem o mesmo número cromossômico ($2n=34$), o uso da FISH revelou 6 sítios de DNAr 45S em *L. ericoides*, enquanto em *L. pinaster* foram observados 8 sítios, o que reforça a proposição taxonômica de SEMIR (1991).

Outra espécie com relativa proximidade morfológica a estas duas mencionadas acima, é *L. pseudovillosissima*. MANSANARES *et al.* (2002) e MANSANARES (2004, Capítulos 1 e 2) já discutiram estas semelhanças, relacionado-as ao número cromossômico de $2n=38$ observado para esta espécie. A esta discussão podemos acrescentar os dados obtidos no presente estudo com relação ao número de sítios de DNAr 45S observados. As três espécies, *L. ericoides*, *L. pinaster* e *L. pseudovillosissima*, apresentaram números de sítios diferentes: 6, 8 e 10, respectivamente. Estes resultados podem ser mais uma característica que separe estas em três entidades taxonômicas distintas, como sugerido por SEMIR (1991).

A localização de seqüências de DNAr 45S nas espécies da seção *Lychnophoriopsis* também nos permitiu algumas inferências. Apesar das duas espécies analisadas terem mostrado o mesmo número cromossômico e o mesmo número de sítios de hibridação 45S, a variação da intensidade destes sinais pode ser um indicativo da integridade taxonômica, pois em *L. hatschbachii*, dos 8 sítios observados, 2 apresentaram pouca e 2 maior intensidade de fluorescência em relação aos outros 4 sinais observados. Já em *L. montesclarensis*, quatro sítios de DNAr 45S mostraram grande intensidade. Estes dados podem ser acrescentados aos caracteres morfológicos já considerados na distinção das espécies, tais como o padrão de nervação, paralelódomo em *L. hatschbachii* e broquidródromo em *L. montesclarensis*, além de

características do indumento foliar, número de flores por capítulo, e também pelo tipo de receptáculos (SEMIR 1991).

As diferenças de tamanho dos sítios de DNAr observadas podem estar relacionadas a pequenas alterações estruturais nos cromossomos, uma vez que já foram observadas algumas irregularidades meióticas em espécies de *Lychnophora*. Ainda pode-se sugerir que estas diferenças sejam decorrentes de perdas de segmentos por hibridação entre espécies, com formação de aloploplóides segmentares (MANSANARES 2000, 2004, capítulo 5).

A disploidia parece ter papel proeminente na evolução das espécies estudadas, assim como é o caso para muitas espécies da família Asteraceae. Em espécies de *Hypochaeris* pequenas alterações estruturais, tais como translocações, inversões envolvendo perda e ganho de fragmentos cromossômicos, algumas vezes contendo a região de DNAr 45S, são sugeridas para explicar a disploidia encontrada na sua evolução cariotípica (WEISS-SCHNEEWEISS *et al.* 2003). A espécie considerada como ancestral seria *H. maculata*, que através de translocação, seguida de perda cromossômica, teria originado formas transitórias, as quais por perda da região contendo DNAr teriam originado a espécie *H. rosenfurtii*, ou ainda por inversão, *H. apergioides* (WEISS-SCHNEEWEISS *et al.* 2003). Em espécies de *Helianthus*, foram detectadas pequenas variações nos cromossomos, indicando em alguns casos, a perda ou ganho de regiões de DNAr, e estas alterações estruturais teriam papel importante na especiação deste gênero (VANZELA *et al.* 2002). Entretanto, esses dados ainda são prematuros para concluir quais são os mecanismos envolvidos na evolução cariotípica das espécies de *Lychnophora* e dos outros gêneros da subtribo Lychnophorinae.

Outras investigações devem ser conduzidas para gerar um futuro conhecimento

da evolução cariotípica da subtribo Lychnophorinae, tais como a utilização de outros tipos de sondas na hibridação *in situ*, como mapeamento físico de seqüências DNAr 5S, teloméricas e microssatélites, para determinar possíveis alterações estruturais nos cromossomos, como parece estar ocorrendo nas espécies de *Lychnophora* (MANSANARES 2000, 2004, Capítulo 5). A aplicação das técnicas de FISH, utilizando estas outras seqüências gênicas, também possibilitará a comparação de cariótipos, subsidiando a análise taxonômica e evolutiva do grupo.

Tabela 6.1 – Espécies analisadas com respectivos números cromossômicos, número de sítios de DNAr 45S e materiais-testemunhos das espécies de *Lychnophora* e *Minasia*.

ESPÉCIE	2n	DNAr (sítios 45S)	NÚMERO DE COLETOR
Seção <i>Lychnophora</i>			
<i>L. cryptomerioides</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	36	6	<i>Mansanares et al. 01/163</i>
<i>L. ericoides</i> Mart.	34	6	<i>Mansanares et al. 241</i>
<i>L. diamantinana</i> Coile e Jones	34	6	<i>Mansanares et al. 109</i>
<i>L. itacambirensis</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	36	6	<i>Mansanares et al. 266</i>
<i>L. pinaster</i> Mart.	34	8	<i>Mansanares et al. 271</i>
<i>L. pseudovillosissima</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	38	10	<i>Mansanares et al. 112</i>
<i>L. rosmarinifolia</i> Mart.	36	4	<i>Mansanares et al. 00/29</i>
<i>L. staavioides</i> Mart.	34	6	<i>Mansanares et al. 300</i>
Seção <i>Lychnophoriopsis</i>			
<i>L. hatschbachii</i> H.Rob.	36	8	<i>Mansanares et al. 100</i>
<i>L. montesclarensis</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	36	8	<i>Mansanares et al. 189</i>
Seção <i>Lychnophorioides</i>			
<i>L. syncephala</i> (Sch.Bip) Sch.Bip.	34	8	<i>Mansanares et al. 232</i>
Seção <i>Lychnocephaliopsis</i>			
<i>L. grazielae</i> Semir e Leitão Filho (inéd.)	38	6	<i>Mansanares & Verola 376</i>
Seção <i>sphaeranthus</i>			
<i>L. santosii</i> (H.Rob.) Hind	38	6	<i>Aona 753</i>
<i>Minasia</i>			
<i>M. morfoespécie 1</i>	38	8	<i>Mansanares et al. 186</i>

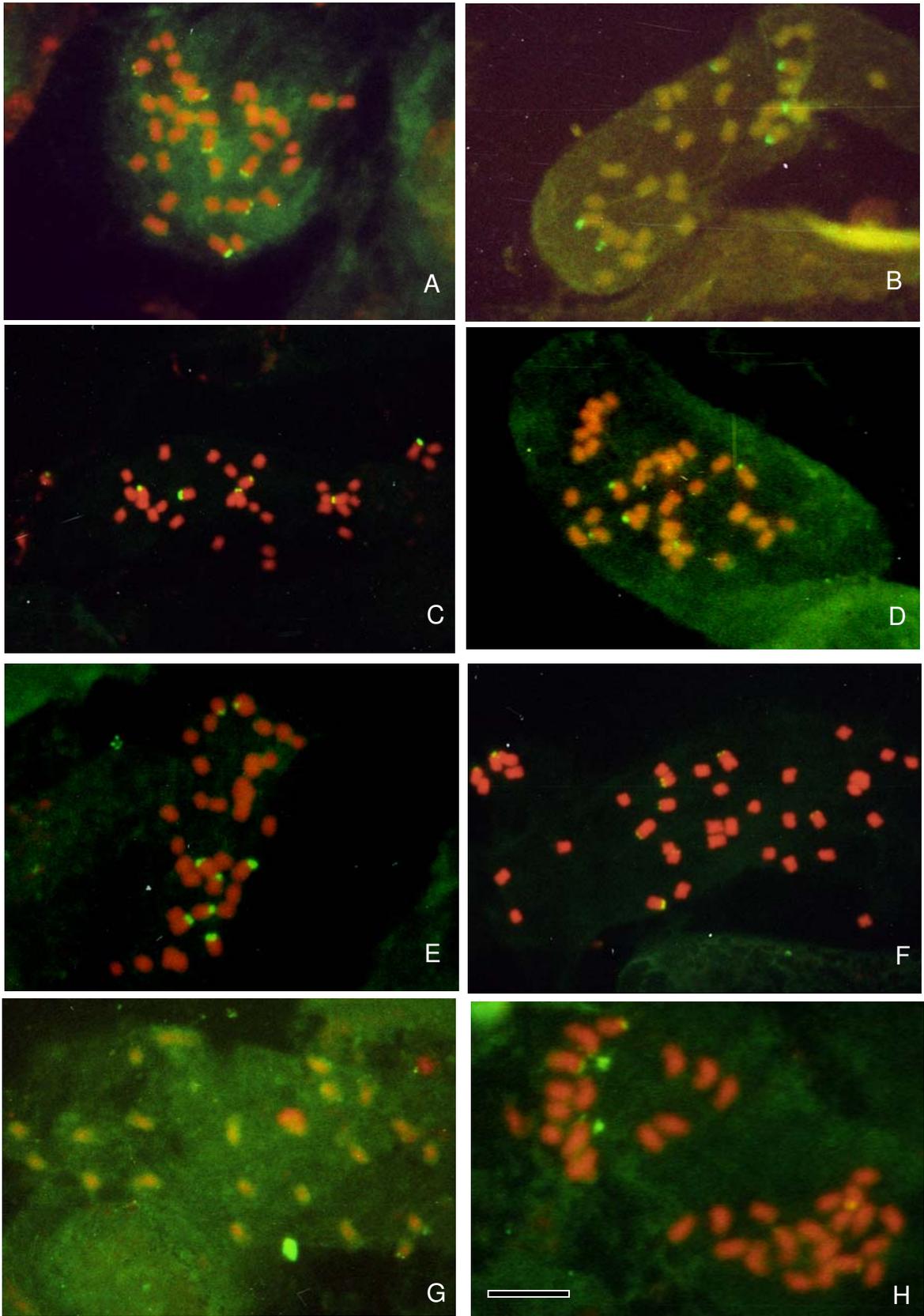


Figura 6.1- Hibridação *in situ* (FISH) 45S em espécies da seção *Lychnophora*. **A-** *L. cryptomerioides*, 6 sítios; **B-** *L. diamantinana*, 6 sítios; **C-** *L. ericoides*, 6 sítios; **D-** *L. itacambirensis*, 6 sítios; **E-** *L. pinaster*, 8 sítios; **F-** *L. pseudovillosissima*, 10 sítios; **G-** *L. rosmarinifolia*, 4 sítios; **H-** *L. staavioides*, 6 sítios. Barra = 10 μ m.

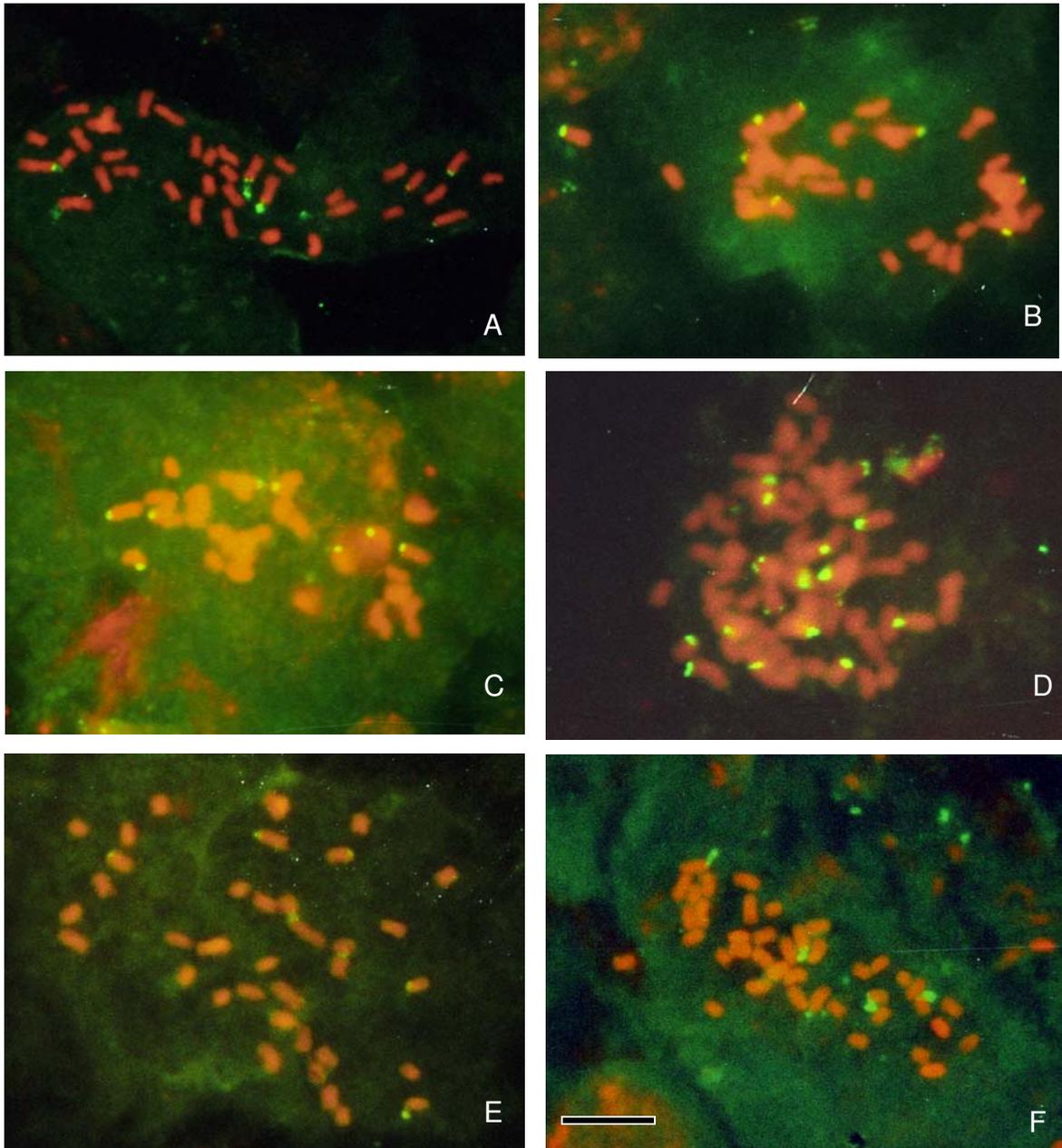


Figura 6.2- Hibridação *in situ* (FISH) 45S em espécies da seção *Lychnophoriopsis*. **A-** *L. hatschbachii*, 8 sítios; **B-** *L. montesclarensis*, 8 sítios. Seção *Lychnophorioides*: **C-** *L. syncephala*, 8 sítios; **D-** *L. syncephala*, célula polissomática, 16 sítios. Seção *Lychnocephaliopsis*: **E-** *L. grazielae*, 6 sítios. Seção *Sphaeranthus*: **F-** *L. santosii*, 2 sítios. Barra = 10 μ m.

5. Referências citadas

- CERBAH, M., COULAUD, J. e SILJAK-YAKOVLEV, S. 1998. *rDNA organization and evolutionary relationships in the Hypochaeris (Asteraceae)*. **J. Hered.** 89: 312-318.
- COILE, N.C. e JONES JR., S.B. 1981. *Lychnophora (Compositae: Vernonieae), a endemic genus to the Brazilian planalto*. **Brittonia**, 33: 528-542.
- CUADRADO, A. e JOUVE, N. 1994. *Mapping and organization of highly-repeted DNA sequences by means of simultaneous and sequential FISH and C-banding in 6x-Triticale*. **Chrom. Res.** 2:231-238.
- FREGONEZI, J.N.; TOREZAN, J.M.D. e VANZELA, A.L.L. 2004 (in press). *A karyotypic study of three southern Brazilian Asteraceae species using fluorescence in situ hybridization with 45S rDNA probe and C-CMA₃*. **Genet. Mol. Biol.**, 27(2)- in press.
- GARNATJE, T.; VALLÈS, J.; VILATERSANA, R.; GARCIA-JACAS, N.; SUSANNA, A. e SILJAK-YAKOVLEV, S. 2004. *Molecular cytogenetics of Xeranthemum L. and related genera (asteraceae, Cardueae)*. **Pl. Biol.**, 6: 140-146.
- GATT, M.; DING, H.; HAMMETT, K. e MURRAY, B. 1998. *Polyploidy and evolution in wild and cultivated Dahlia species*. **Ann. Bot.**, 81: 647-656.
- GATT, M.; HAMMETT, K. e MURRAY, B. 1999. *Confirmation of ancient polyploidy in Dahlia (Asteraceae) species using genomic in situ hybridization*. **Ann. Bot.**, 84: 39-48.
- HESLOP-HARRISON, J.S.; SCHWARZACHER, T.; ANAMTHAWAT-JONSSON, K.; LEITCH, A.R.; SHI, M. e LEITCH, I.J. 1991. *In situ hybridization with automated chromosome denaturation*. **Technique** 3:106-109.
- LIMA-DE-FARIA, A. 1973. *Equations defining the position of ribosomal cistrons in the eukariotic chromosome*. **Nat. New Biol.** 241: 136-139.
- LIMA-DE-FARIA, A. 1976. *The chromosome field: I. Prediction of the localization of ribosomal cistrons*. **Hereditas**, 83: 1-22.
- MALUSZYNSKA, J. e HESLOP-HARRISON, J.S. 1993. *Molecular cytogenetics of the genus arabidopsis: In situ localization of rDNA sites, chromosome numbers and diversity in centromeric heterochromatin*. **Ann. Bot.**, 71: 479-484.
- MANSANARES, M.E. 2004. *Estudos citotaxonômicos de espécies do gênero Lychnophora Mart. (Lychnophorinae: Vernonieae: Asteraceae)*. Tese de doutorado.
- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2001. *IOPB Chromosome data XVII*. **Newsletter**, 33: 23-24.

- MANSANARES, M.E.; FORNI-MARTINS, E.R. e SEMIR, J. 2002. *Chromosome numbers in the genus Lychnophora Mart. (Lychnophorinae:Vernonieae: Asteraceae)*. **Caryologia**, 55(4): 367-374.
- ROBINSON, H. 1992. *Notes of Lychnophorinae from Minas Gerais, Brazil, a synopsis of Lychnophoriopsis Shultz-Bip., and the new genera Anteremanthus and Minasia (Vernonieae: Asteraceae)*. **Proc. Biol. Soc. Wash.**, 105: 640-652.
- SEMIR, J. 1991 (inédito). *Revisão Taxonômica de Lychnophora Mart. (Vernonieae: Compositae)*. Tese de doutorado, Univ. Estadual de Campinas, Campinas.
- SNOWDON, R., KUSTERER, B. e HORN, R. 2001. *Strutural genome analysis using molecular cytogenetic techniques*. **Progr. Bot.**, 63: 55-79.
- STACE, C.A. 2000. *Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21th centuries*. **Taxon**, 49: 451-477.
- SUMNER, A.T. 2003. *Chromosomes – Organization and Function*. North Berwick, United Kingdom, Blackwell Publishing, pp. 287.
- VANZELA, A.L.L.; RUAS, C.F., OLIVEIRA, M.F. e RUAS, P.M. 2002. *Characterization of diploid, tetraploid and hexaploid Helianthus species by chromosome banding and FISH with 45S probe*. **Genetica**, 114: 105-111.
- WEISS-SCHNEEWEISS, H.; STUESSY, T.F.; SILJAK-YAKOVLEV, S.; BAEZA, C.M. e PARKER, J. 2003. *Karyotype evolution in South American of Hypochaeris (Asteraceae, Lactuceae)*. **Pl. Syst. Evol.** 241: 171-184.
- ZURITA, F.; SÁNCHEZ, A.; BURGOS, M.; JIMÉNEZ, R. E DE LA GUARDIÃ, R.D. 1997. *Interchromosomal, intercellular and interindividual variability of NORs studied with silver staining and in situ hybridization*. **Heredity** 78: 229-234.

Considerações Finais

Os estudos envolvendo a determinação de números cromossômicos em *Lychnophorinae* (*Lychnophora*, *Minasia*, *Heterocoma*, *Proteopsis* e *Eremanthus*), embora ainda atinjam uma pequena proporção das espécies da subtribo, permitem visualizar um panorama preliminar sobre a utilidade do uso desse caráter na taxonomia. Conforme pode-se perceber na discussão dos números básicos da subtribo ($x=15, 17, 18$ e 19), acima apresentada, *Lychnophora* possui espécies com três dos números básicos ($n=17, 18$ e 19), os quais se repetem nos outros gêneros ($n=18$ em *Proteopsis*, $n=19$ em *Heterocoma* e $n=17$ e 19 em *Minasia*). Apenas para *Eremanthus*, há diferenciação em relação aos números básicos de *Lychnophora*, com espécies com $n=15$ e $n=18$. Assim, em termos citotaxonômicos, dificilmente tais gêneros poderão ser individualizados/diferenciados com base nos números cromossômicos. O pequeno valor distintivo entre as seções de *Lychnophora sensu* SEMIR (1991) também parece ocorrer quando se faz a comparação de cariótipos, com base na coloração convencional, pois os cromossomos apresentam tamanho e morfologia bastante semelhantes. Entretanto, em nível específico, a comparação de cariótipos (incluindo números cromossômicos e sítios de hibridação com sonda de DNAr 45S) tem se mostrado efetiva. Contudo, ainda há total ausência de informações para espécies de outros gêneros da subtribo.

A análise da microsporogênese em algumas poucas espécies de *Lychnophora* tem indicado irregularidades meióticas, com a perspectiva de trazer bons subsídios ao estudo reprodutivo e biosistemático da subtribo *Lychnophorinae*. Estudos referentes à polinização, dispersão, germinação de sementes e estabelecimento de plântulas, são praticamente inexistentes. Estudos recentes envolvendo isozimas em espécies e populações de *Lychnophora*, *Proteopsis* e *Minasia* estão sendo efetuados em colaboração pelos Departamentos de Botânica e de Genética do Instituto de

Biologia/UNICAMP. Em *Proteopsis argentea*, JESUS *et al.* (2001) encontraram uma diversidade genética intrapopulacional bastante baixa, entretanto, alguns *loci* indicaram uma grande diferenciação entre algumas populações, principalmente entre as duas mais distantes, localizadas na Serra do Cipó e Grão Mogol. Este tipo de informação poderá sugerir hipóteses que talvez elucidem os processos evolutivos das espécies de Lychnophorinae.