

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA
DEPARTAMENTO DE BOTÂNICA**

VANESSA MANCUSO DE OLIVEIRA

**ESTUDOS CITOTAXONÔMICOS EM ESPÉCIES DO GÊNERO *VERNONIA*
SCHREB. (ASTERACEAE: VERNONIEAE)**

**Tese apresentada ao Instituto de Biologia
da Universidade Estadual de Campinas
como requisito parcial para obtenção do
Título de Mestre em Biologia Vegetal**

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

2005

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Eliana Regina Forni Martins
DBT/IB/UNICAMP
Orientadora

Prof^a Dr^a Maria Teresa Schifino Wittmann
Depto. Plantas Forrageiras e Agrometeorologia/ Faculdade
de Agronomia/UFRGS

Prof^a Dr^a Cecília Alzira Ferreira Pinto Maglio
Centro de Pesquisa e Desenvolvimento de Recursos Genéticos
Vegetais/IAC

Dr^a. Mariana Esteves Mansanares
DBT/IB/UNICAMP

Campinas, 5 de julho de 2005.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a Eliana Regina Forni Martins, pela orientação, incentivo e amizade durante a realização deste trabalho e na iniciação da minha carreira científica.

Ao Prof. Dr. João Semir, pelas sugestões, críticas e co-orientação.

À FAPESP pela bolsa de estudos concedida para realização deste estudo e pelo seu patrocínio ao projeto Temático do qual este estudo faz parte.

Ao Departamento de Botânica/IB/UNICAMP pela estrutura que me permitiu crescer como profissional.

Aos colegas e docentes, da Universidade Estadual de Campinas, em especial, Júlia, Mariana, Andréa, Itayguara, Christiano, Kayna e Lara pela amizade e convívio.

Minha gratidão ao meu marido, meus pais e, meus irmãos, pelo apoio e compreensão constantes.

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

SUMÁRIO

Lista de Tabelas.....	V
Lista de Figuras.....	VII
I. Resumo.....	IX
II. Abstract.....	XI
III. Introdução Geral.....	1
Caracterização geral da família.....	1
Caracterização geral da tribo Vernonieae e gênero <i>Vernonia</i>	6
Os estudos cromossômicos em <i>Vernonia</i>	10
IV. Objetivos Gerais.....	13
V. Organização Geral da Tese.....	14
VI. Referências Bibliográficas.....	17
Capítulo 1 - Estudos citotaxonômicos em espécies de <i>Vernonia</i> , seção <i>Lepidaploa</i> , subseção <i>Axilliflorae</i> (Asteraceae: Vernonieae).....	25
Introdução.....	28
Material e Métodos.....	32
Resultados.....	34
Discussão.....	35
Referências Bibliográficas.....	44
Capítulo 2 - Estudos citotaxonômicos em espécies de <i>Vernonia</i> , seção <i>Lepidaploa</i> (Asteraceae: Vernonieae).....	56
Introdução.....	59
Material e Métodos.....	62
Resultados.....	64
Discussão.....	65
Referências Bibliográficas.....	76

Capítulo 3 - Caracterização cariotípica de <i>Vernonia geminata</i> (Asteraceae, Vernonieae) com técnicas de diferencial longitudinal de cromossomos (bandamento e hibridação de DNA <i>in situ</i>).....	92
Introdução.....	94
Material e Métodos.....	97
Resultados.....	102
Discussão.....	103
Referências Bibliográficas.....	107
VI.Considerações Finais.....	115

LISTA DE TABELAS

Introdução Geral

Tabela I - Espécies de <i>Vernonia</i> analisadas, distribuídas nas respectivas subseções, de acordo com BAKER (1873).....	15
--	----

Capítulo 1

Tabela I - Espécies de <i>Vernonia</i> analisadas, com respectivas localidades, habitats e material-testemunho.....	49
Tabela II - Número cromossômico, variação de tamanho cromossômico, comprimento total de cromatina (CTC), índice de assimetria (TF%), índice de assimetria intracromossômica (A1) e índice de assimetria intercromossômica (A2) das espécies de <i>Vernonia</i> estudadas.....	50
Tabela III – Fórmulas cariotípicas das espécies de <i>Vernonia</i> estudadas.....	51

Capítulo 2

Tabela I – Espécies de <i>Vernonia</i> analisadas, com respectivas localidades, habitats e material-testemunho. Subseções de acordo com BAKER (1873).....	82
Tabela II – Número cromossômico, fórmula cariotípica (m=metacêntrico, sm=submetacêntrico), variação de tamanho cromossômico, comprimento total de cromatina (CTC), índice de assimetria (TF%), índice de assimetria intracromossômica (A1) e índice de assimetria intercromossômica (A2) das espécies de <i>Vernonia</i> estudadas. Subseções de acordo com BAKER (1873).....	83
Tabela III – Fórmulas cariotípicas das espécies de <i>Vernonia</i> estudadas.....	84
Tabela IV – Espécies de <i>Vernonia</i> , pertencentes à seção <i>Lepidaploa</i> , agrupadas de acordo com as subseções segundo BAKER (1873) e Bentham (1873), gêneros <i>sensu</i> ROBINSON (1999a), número cromossômico e referências bibliográficas.....	85

LISTA DE FIGURAS

Introdução Geral

Figura 1 – Espécies de *Vernonia* pertencentes à seção *Lepidaploa sensu* BAKER (1873). *Vernonia polyanthes* Less. (subseção *Scorpioideae* Benth.), A – Detalhes da inflorescência e B – Hábito da planta. *Vernonia geminata* HBK (subseção *Axilliflorae* Benth.), C – Detalhes da inflorescência e D – Hábito da planta.....16

Capítulo 1

Figura 1 – Ideograma de espécies de *Vernonia*, pertencentes à subseção *Axilliflorae*. A – *V. chamissonis* (2n=30), B – *V. riedelli* (2n=36), C – *V. cotoneaster* (2n=32), D – *V. remotiflora* pop.1 (2n=32) , E – *V. fruticulosa* (2n=32), F – *V. remotiflora* pop.2 (2n=32), G – *V. adamantium* (2n=34), H – *V. geminata* pop.1 (2n=20)..52

Figura 2 – Dispersão cariotípica para as espécies de *Vernonia* estudadas.....53

Figura 3 – Cromossomos mitóticos de espécies de *Vernonia*, pertencentes à subseção *Axilliflorae*. A – *V. cotoneaster* (2n=32), B – *V. chamissonis* (2n=30), C – *V. geminata* pop. 1 (2n=20), D – *V. adamantium* (2n=40), E – *V. riedelli* (2n=36) F– *V. fruticulosa* (2n=32), G – *V. remotiflora* pop. 1 (2n=32), H – *V. remotiflora* pop. 2 (2n=32).54

Figura 4 – Cromossomos mitóticos de *Vernonia geminata* pop.2 (A a F, 2n=20 + 0-6Bs) e *V. geminata* pop.1 (G, 2n=20). A – Célula sem cromossomos Bs. B – Célula com 1 cromossomo B, C – Célula com 2 cromossomos Bs, D – Célula com 3 cromossomos Bs, E - Célula com 4 cromossomos Bs, F - Célula com 5 cromossomos Bs, G - *V. geminata* pop. 1, polissomatia (2n=40).....55

Capítulo 2

Figura 1 – Ideogramas de algumas espécies de *Vernonia* pertencentes às subseções *Scorpioideae* (A a D), *Macrocephalae* (E) e *Oligocephalae* (F). A – *V. polyanthes* pop. 2 (2n=34), B – *V. polyanthes* pop. 1 (2n=32), C – *V. polyanthes* pop.3 (2n=34), D – *V. tweediana* (2n=34), E - *V. buddleiaefolia* (2n=32) e F – *V. simplex* (2n=34).....89

Figura 2 – Dispersão cariotípica para as espécies de *Vernonia* estudadas.....90

Figura 3 – Cromossomos mitóticos de *Vernonia* estudadas, pertencentes às subseções *Macrocephalae* (A e B), *Scorpioideae* (C a F), *Oligocephalae* (G) e *Paniculatae* (H). A – *V. buddleiaefolia* (2n=32), B – *V. tomentella* (2n=32), C - *polyanthes* pop. 1 (2n=32), D – *V. polyanthes* pop. 3 (2n=34), E – *V. tweediana* (2n=34,) F – *V. polyanthes* pop. 2 (2n=34), F – *V. simplex* (2n=34) e H – *V. shwenkiaefolia* (2n=34).....91

Capítulo 3

Figura 1 - Ideograma de *V. geminata* indicando, número e posição de bandas C, CMA+, NOR e número de sítios observados na hibridação *in situ* (FISH) para DNA 45S.....113

Figura 2 – Cromossomos mitóticos de *Vernonia geminata* pop.1 (2n=20). A – Bandamento C (setas = bandas), B – Hibridação *in situ* (FISH, etas = sítios de DNAr 45S), C – Bandamento CCD – CMA (setas=bandas CMA+), D – Bandamento CMA/DA/DAPI e E – Bandamento NOR.....114

I. RESUMO

Foram estudadas, através da análise mitótica (técnica de Giemsa), 14 espécies do gênero *Vernonia sensu* Baker (Asteraceae, Vernonieae), pertencentes à seção *Lepidaploa*, correspondentes às subseções *Axilliflorae*, *Macrocephalae*, *Oligocephalae*, *Paniculatae* e *Scorpioideae*, objetivando subsidiar as propostas de seu desmembramento em gêneros menores (*sensu* Robinson) ou da manutenção de sua integridade (*sensu* Baker). As espécies foram coletadas em áreas de cerrado e campo rupestre, nos Estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás. Foram realizadas contagens cromossômicas, que variaram de $2n=20$ a $2n=ca.80$ e, elaborados cariótipos, verificando-se o predomínio de cromossomos metacêntricos, e alguns submetacêntricos. Foram observados cromossomos B em uma das populações analisadas de *V. geminata*. O tamanho dos cromossomos variou de 0,9 a 4,9 μ m, o tamanho total de cromatina (CTC) de 29,7 a 50,7 μ m e, o índice de assimetria TF% de 41,2 a 46,9. O índice de assimetria intracromossômica (A1) variou de 0,13 a 0,29, enquanto o índice de assimetria intercromossômica (A2) de 0,14 a 0,21. A população 1 da espécie *V. geminata* foi a que mostrou ter cariótipo mais assimétrico. Foram observadas diferenças cariotípicas entre populações de *V. remotiflora* e *V. polyanthes*. Foram aplicados em *V. geminata* bandamentos C, NOR, CMA/DA/DAPI e a técnica de hibridação de DNA *in situ* para a seqüência de 45S de rDNA. A espécie apresentou dois pares de bandas C, sendo duas bandas terminais e duas centroméricas; um par de bandas CMA⁺ terminais; dois pares de bandas NOR, sendo duas bandas terminais e duas centroméricas. A hibridação *in situ* evidenciou dois pares de

sítios de rDNA 45S, sendo dois sítios terminais e dois centroméricos. Houve coincidência de localização entre bandas C, CMA, NOR e sítios de rDNA 45S. Não foi possível comparar os resultados dos bandamentos e sítios de hibridação *in situ* com outras espécies de *Vernonia*, por não existir dados disponíveis para o gênero na literatura. Embora a representatividade da amostra seja pequena, os dados cariotípicos obtidos, no presente trabalho e em literatura, ainda não permitiram apoiar conclusivamente qualquer das propostas taxonômicas vigentes para *Vernonia*, devido à inexistência de um padrão cariotípico característico/distintivo para cada grupo taxonômico, ou seja, seções e subseções (*sensu* BAKER 1873) ou novos gêneros (*sensu* ROBINSON 1999a). No entanto, até o momento, parece existir, uma tênue relação com a conceituação de ROBINSON (1999a) para os gêneros *Lessingianthus*, *Vernonanthura*, e *Chrysolaena*.

II. ABSTRACT

We studied, from the mitotic analyses (Giemsa technique), 14 species of *Vernonia sensu* BAKER (Asteraceae, Vernonieae), belonging to *Lepidaploa* section, purposing to assistant the proposal of its separate in little genus (*sensu* ROBINSON) or maintenance of its complete (*sensu* BAKER). We colleted species in “cerrado” and “campo rupestre” areas, in São Paulo, Minas Gerais and Goiás states. Chromosome numbers ($2n=20$ to ca.80) and karyotypes are analyzed, with predominance of metacentric and some submetacentric chromosomes. We observed B chromosomes in a population of *V. geminata* analyzed. Chromosomes size varied 0,9 to 4,9 μ m, total size of chromatin 29,7 to 50,7 μ m and, asymmetry index TF% 41,2 to 46,9. The intrachromosomal asymmetry index (A_1) varied 0,13 to 0,29 and, the interchromosomal asymmetry index (A_2) varied 0,14 to 0,21. The population 1 of *V. geminata* showed the most asymmetric karyotype. Some differences of karyotypes are observed in *V. remotiflora* and *V. polyanthes* populations. We applied banding in *V. geminata* neither C, NOR, CCD and *in situ* hybridization technique for 45S rDNA sequences. It showed two pairs of bands C, it are two terminal bands and two centromeric; one pair of CMA⁺ terminal bands; two neither pairs of NOR band, its are two terminal and Two centromeric. The *in situ* hybridization showed two pairs of rDNA 45S sites, two terminal and two centromeric bands. There are coincidence of localization among C, CMA, NOR bands and rDNA 45S sites. We can not compare the results of the banding and *in situ* hybridization sites with others *Vernonia* species, because there are not datas for the genus in literature. The karyotype datas obtained here do not permitted support conclusively the taxonomic proposes to *Vernonia*, because the inexistence of a characteristic/distinctive karyotype pattern for each taxonomic group, [ou seja,](#)

sections and subsections (*sensu* BAKER 1873) or new genus (*sensu* ROBINSON 1999a). Além disso, the representative of the samples is little. However, while, look exist, a little relationship between the chromosomes number obtained here and in the literature with ROBINSON's propose (1999a) for the genus *Lessingianthus*, *Vernonanthura* e *Chrysolaena*.

III. INTRODUÇÃO GERAL

CARACTERIZAÇÃO GERAL DA FAMÍLIA

A família Asteraceae (Compositae), com aproximadamente 1.535 gêneros e 23.000 espécies, é a mais numerosa de todas Eudicoliledôneas, representando cerca de 10% da flora mundial (BREMER 1994, 1996; JUDD *et al.* 1999). Estima-se que, nos neotrópicos existam aproximadamente 580 gêneros e 8.040 espécies (PRUSKI & SANCHO 2004). De acordo com BARROSO (1986), no Brasil existem, aproximadamente, 196 gêneros e 1.900 espécies. Os representantes da família ocorrem no mundo todo e em quase todos os tipos de ambiente, principalmente nos trópicos e, apenas alguns em regiões muito frias ou subárticas, como por exemplo espécies dos gêneros, *Arnica* L., *Antenaria* Gaerth. e *Petasites* Mill. (LAWRENCE 1951, CRONQUIST 1981).

Pela sua diversidade e por apresentar gêneros com grande número de espécies como, por exemplo, *Aster* L., *Senecio* L., *Eupatorium* L. e *Vernonia* Schreb., a filogenia, conceituação e delimitação das subfamílias e tribos, além da real circunscrição dos inúmeros gêneros, têm gerado muitos posicionamentos taxonômicos diferentes (BREMER 1994, ROBINSON 1999A, PANERO & FUNK 2002).

Segundo KING *et al.* (1995), Cassini pode ser considerado o primeiro autor que propôs uma classificação para a família, principalmente devido às suas contribuições sobre as Compositae, em um total de 65 trabalhos e revisões publicadas entre 1812 e 1821 no “Bulletin des Sciences par la Société Philomatique” de Paris. Ele passou muito tempo examinando exemplares da

mesma, descrevendo numerosos gêneros e muitas das tribos reconhecidas atualmente.

Dentre estes trabalhos, CASSINI (1817) publicou um diagrama mostrando as inter-relações das 19 tribos reconhecidas, propôs duas novas tribos e reduziu uma por sinonimização como sinônimo, ficando o seu sistema com 20 tribos (BREMER 1994, KING & DAWSON 1975, KING *et al.* 1995).

LESSING (1832) reconheceu apenas sete tribos, algumas das quais são muito amplas e artificiais. Por sua vez, DE CANDOLLE (1836) adotou um esquema similar ao de LESSING (1832), reorganizando a família em 13 tribos dispostas em duas subfamílias, Liguliflorae contendo a tribo Cichorieae, e Tubuliflorae contendo todas as outras tribos.

BENTHAM (1873a) desenvolveu um esquema muito similar ao de CASSINI (1817), considerando 13 tribos e alterando a circunscrição de algumas destas. O autor adotou para os representantes da tribo Vernonieae, características como inflorescências discóides, de cores azul, branco, rosa e vermelho, semelhantes à tribo Eupatorieae que, de certa forma, possui essas mesmas características e, colocando ambas no mesmo grupo. Muitos anos após, WAGENITZ (1976), classificou corretamente as duas tribos em grupos distintos, baseando-se principalmente em caracteres das regiões estigmáticas do estilete, sendo as suas semelhanças apenas aparente.

HOFFMANN (1890) essencialmente repetiu a classificação de BENTHAM (1873a, 1873b), com pequenas alterações, sendo sua classificação usada como referência geral por mais de 100 anos.

Segundo BREMER (1987, 1994), em 1967, Poljakov caracterizou as subfamílias Asteroideae e Chichoriadeae com base na superfície estigmática, apêndices das anteras e lobos da corola. ROBINSON & BRETTELL (1973), concordaram e reconheceram esses dois grupos, com base nas mesmas características.

CARLQUIST (1976), em sua discussão sobre as inter-relações de Asteraceae, utilizando características morfológicas, anatômicas e número de cromossomos, concluiu que existiam dois grupos principais, com as tribos distribuídas naquelas duas subfamílias. Nas Cichorioideae, considerou as tribos Mutisieae, Vernonieae, Cardueae, Arctoteae, Cichorieae e Eupatorieae, e nas Asteroideae, englobou as tribos Heliantheae, Astereae, Inuleae, Anthemideae, Senecioneae e Calenduleae. No entanto, WAGENITZ (1976) discordou em parte de CARLQUIST (1976), por considerar a tribo Eupatorieae entre as Asteroideae, com base nas características acima mencionadas.

HEYWOOD *et al.* (1977) adotaram como base para revisão das tribos, as classificações de BENTHAM (1873) e de HOFFMANN (1890), onde algumas alterações foram sugeridas. No entanto, segundo BREMER (1994), a nova circunscrição sugerida para tribo Helenieae é muito diferente das de BENTHAM (1873) e de HOFFMANN (1890).

CRONQUIST (1977) concluiu que a tribo Heliantheae seria a ancestral em relação às demais tribos, observando que características primitivas estavam presentes em vários de seus membros. Nos últimos anos, estudos sobre morfologia, anatomia, ontogenia, citogenética, ecologia, fitoquímica e estrutura

macromolecular (HEYWOOD *et. al* 1977; HIND & BEENTJE 1996) têm possibilitado uma melhor compreensão taxonômica da família como um todo, permitindo a realização de diversas revisões de tribos, tais como Anthemideae (BREMER & HUMPHRIES 1993), Astereae (NESOM 1994), Eupatorieae (KING & ROBINSON 1987), Heliantheae *sensu lato* (ROBINSON 1981), Inuleae *sensu lato* (ANDERBERG 1989, 1991a, 1991b, 1991c, 1996), Liabeae (ROBINSON 1983), Mutisieae (HANSEN 1991) e Senecioneae (NORDENSTAM 1978; JEFFREY 1992).

Os estudos nas tribos, mencionados acima, também forneceram evidências para o reconhecimento das subfamílias. JEFFREY (1978) e WAGENITZ (1976), apoiando-se em trabalhos de anatomia, química, palinologia e micromorfologia, dividiram as Asteraceae em duas subfamílias, Cichorioideae e Asteroideae, como CARLQUIST (1976), mas de forma diferente, totalizando 17 tribos. Também levaram à aceitação da subfamília Carduoideae, descrita por KITAMURA (1937) e reconhecida por BREMER (1996), e da nova subfamília Barnadesioideae (BREMER & JANSEN 1992; BREMER *et al.* 1992). BREMER (1996) apresentou uma classificação com os principais clados da família Asteraceae, reconhecendo assim quatro subfamílias: Barnadesioideae, Carduoideae, Cichorioideae e Asteroideae, e resolvendo alguns problemas relativos ao posicionamento das tribos nestas subfamílias. Em recente estudo, baseado na comparação de dados de seqüência de DNA de cloroplasto, PANERO & FUNK (2002) criaram uma nova classificação, reconhecendo as quatro subfamílias citadas em BREMER (1996) e propondo mais cinco novas subfamílias: Corymbioideae, Gochnatioideae, Gymnarrhenoideae, Hecastocleioideae e Pertyoideae.

BREMER (1987) realizou uma análise cladística para esclarecer as relações entre as tribos da família. Os resultados indicaram que existe uma dicotomia basal, sendo que a subtribo Barnadesiinae da tribo Mutisieae é o grupo irmão de todas as demais tribos da família, que formam um grupo monofilético.

JANSEN & PALMER (1987) relataram que a organização da estrutura do DNA do cloroplasto de todas as Asteraceae é similar, sustentando que a subtribo Barnadesiinae da tribo Mutisieae está relacionada com o resto das Asteraceae. Esta relação também recebeu apoio com base na análise cladística de dados primariamente morfológicos (BREMER 1987). Em 1992, BREMER & JANSEN elevaram as Barnadesiinae para o nível de subfamília, Barnadesioideae. Segundo BREMER (1994), a ocorrência de muitas Asteraceae filogeneticamente consideradas basais na América do Sul, como os representantes da subfamília Barnadesioideae, sugere que a família tenha se originado neste continente. As subfamílias Barnadesioideae e Asteroideae são consideradas monofiléticas, enquanto que Cichorioideae é considerada parafilética (BREMER 1994, JEFFREY 1995).

CARACTERIZAÇÃO GERAL DA TRIBO VERNONIEAE E GÊNERO *VERNONIA*

Estabelecida por CASSINI (1817) e revista globalmente por LESSING (1829, 1831a, 1931b), DE CANDOLLE (1836), BENTHAM (1873a, b) e HOFFMANN (1890), a tribo Vernonieae é, provavelmente, uma das mais conhecidas. É diferenciada das outras Asteraceae pelo seu capítulo homógomo, de flores hermafroditas, corolas somente tubulosas e os ramos do estilete longos e agudos (BREMER 1994). Possui distribuição pantropical, apresentando, muitas vezes, espécies com um pronunciado endemismo para uma dada localidade (JONES 1977; BARROSO 1986; SEMIR 1991; BREMER 1994). No Brasil, a tribo Vernonieae (*sensu* BENTHAM) foi revista por BAKER (1873), compreendendo cerca de 40 gêneros e 450 espécies. Segundo BREMER (1994), apesar de ser considerada monofilética e bem estabelecida, as classificações propostas para esta tribo não definem claramente os limites genéricos; há dúvidas e posições conflitantes quanto ao número de gêneros e de suas respectivas espécies. BENTHAM (1873b) e HOFFMAN (1894) reconheceram duas subtribos para a tribo Vernonieae: Vernoninae e Lychnophoreae. No entanto, segundo JONES (1977), essa classificação foi baseada na presença ou ausência de agregação secundária dos capítulos (formando glomérulos), o que levanta vários problemas com essa classificação, pelo fato destas características serem gradativas entre alguns gêneros.

BENTHAM (1873b) classificou os gêneros na tribo Vernonieae com base, principalmente, na variação do pappus e em algumas características da inflorescência, citando o gênero *Vernonia* como o mais representativo. Esta classificação foi aceita quase sem mudanças por HOFFMAN (1894), que não

concordou apenas com a inclusão do gênero *Gorceixia* Baker e a transferência de *Gongrothammus* Steetz ex Peters para o gênero *Vernonia*. Em uma revisão bibliográfica, JONES (1977) relacionou cerca de 70 gêneros e 1.456 espécies na tribo Vernonieae, com base na morfologia de pólen, número cromossômico e presença de terpenóides, sendo que apenas o gênero *Vernonia* Schreb. contribuiria com cerca de 1.000 espécies.

A divisão em apenas duas subtribos, propostas por BENTHAM (1873b) e HOFFMAN (1894), não foi aceita por ROBINSON (1996a, 1999a). ROBINSON (1999a) publicou sua classificação para os representantes americanos desse taxon, onde distribuiu 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: Stokesiinae e Pacouruninae.

De acordo com DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998) do ponto de vista sistemático, *Vernonia* é um dos gêneros mais complexos da família Asteraceae. Esta complexidade é gerada principalmente pela extrema diversidade de formas biológicas que o gênero exhibe (STUTTS 1988), desde pequenas ervas rosuladas escaposas até grandes árvores. Muitos autores já tentaram esclarecer a taxonomia do gênero (CABRERA 1944; JONES 1979a, 1979b, 1981, 1982; STUTTS 1981, 1988; ROBINSON 1987a, 1987b, 1987c, 1988a, 1988b, 1988c, 1990a, 1990b, 1992a, 1992b, 1993a, 1993b, 1994, 1999a), porém, até o presente, seus resultados são contraditórios.

A maioria das espécies de *Vernonia* sul-americanas pertence à seção *Lepidaploa* (Cass.) DC. (BENTHAM 1873b; BAKER 1873). Na América do Sul também ocorrem as seções *Eremosis*, *Critoniopsis* (JONES 1973), *Leiboldia* (JONES 1979), *Trianthara* e *Stenocephalum*, de acordo com BAKER (1873). A maioria das espécies pertencentes à subseção *Leiboldia* são brasileiras (JONES 1979a). Em recente classificação, ROBINSON (1987, 1988a, 1988b, 1990, 1999a) segregou algumas espécies de Vernonieae do Novo Mundo, pertencentes a algumas seções, como por exemplo, *Leiboldia*, *Critoniopsis*, e principalmente, *Lepidaploa*, em novos gêneros, restringindo o gênero *Vernonia* apenas aos representantes localizados na América do Norte, baseado em algumas características morfológicas, como número cromossômico e tipo de pólen. Assim, as espécies de *Vernonia* da América do Sul e, principalmente brasileiras, foram segregadas nos gêneros: *Echinocoryne*, *Cyrtocymura*, *Eirmocephala*, *Lessingianthus*, *Chrysolaena*, *Cuatrecasacanthus*, *Joseanthus*, *Acilepidopsis*, *Mesanthophora*, *Vernonanthura*, *Minasia*, *Dasyandantha*, *Dasyanthina*, *Quechualia*, *Cololobus*, *Pseudopiptocarpha*, *Lepidaploa*, *Critoniopsis*, *Stenocephalum*, *Hololepis*, *Mattfeldonthus* e *Trepadonia*. Destes gêneros, estas transferências, excluindo *Hololepis* DC e *Minasia* H. Rob, não foram aceitas por outros autores. De acordo com HIND (1993), a elevação da seção *Lepidaploa* e de suas subseções para o nível genérico é considerada prematura e essa mudança não resolve os problemas taxonômicos do gênero *Vernonia*. Segundo KEELEY & TURNER (1990) e ROBINSON (1999a), certamente as posições taxonômicas de algumas espécies de Vernonieae ainda são duvidosas e, para resolver esse problema taxonômico, são necessárias informações de áreas importantes, como a citogenética, química e variação morfológica.

OS ESTUDOS CROMOSSÔMICOS EM *VERNONIA*

Citologicamente, o gênero *Vernonia sensu* Baker tem sido pouco estudado. Menos de 20% de suas espécies tiveram seu número cromossômico investigado, o que é incipiente, devido ao grande número de taxons que este apresenta; cerca de 1.000 espécies, de acordo com JONES (1977). Os números cromossômicos variam entre $2n=18$ a $2n=160$ (DARLINGTON & WYLIE 1955; BOLKHOVISKIKH *et al.* 1969; MOORE 1973, 1974, 1977; GOLDBLATT 1981, 1984, 1985, 1988; GOLDBLATT & JOHNSON 1990, 1991, 1996, 1998). De acordo com DEMATTEIS (2002), há diversos relatos de contagens cromossômicas para espécies de *Vernonia* sect. *Lepidaploa* (gênero *Vernonia*), mencionando para a subsect. *Oligocephalae* $x=10$, para *Macrocephalae* $x=16$ e para *Axilliflorae* e *Paniculatae* $x=17$.

Até o momento, apenas cerca de 60 espécies de *Vernonia* tiveram seu cariótipo analisado com técnicas convencionais (Gill, 1978; MATHEW & MATHEW 1982; RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1996, 1997, 1998 e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998, 2000).

MATHEW & MATHEW (1982), RUAS *et al.* (1991), DEMATTEIS (1996, 1998, 2000) e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998, 2000) relataram que em *Vernonia*, apesar de relativamente pequenos, os cromossomos apresentam diferenças de tamanho e morfologia. O tamanho cromossômico pode variar de $0,97 \mu\text{m}$, em *V. saltensis* (DEMATTEIS 1998) a $4,3 \mu\text{m}$, em *V. nudiflora* (DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998). De acordo com DEMATTEIS (1998), os cromossomos, em sua maioria, são metacêntricos e submetacêntricos, no entanto, em quatro espécies, também existem subtlocêntricos, normalmente os menores cromossomos do cariótipo. A

assimetria cariotípica é pouco variável entre as espécies do gênero, sugerindo que a diversificação deste foi acompanhada por pequenas alterações na constituição cariotípica das espécies (DEMATTEIS 1996, 1998; DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998, 2000). Segundo MATHEW & MATHEW (1982), RUAS *et al.* (1991) e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998), algumas espécies sul-indianas, brasileiras e argentinas apresentam assimetria cariotípica moderada, sendo os cariótipos com número básico $x=9$ mais assimétricos (MATHEW & MATHEW 1982).

Em *Vernonia*, a cariotipagem com técnicas de coloração convencionais, como por exemplo, a de Giemsa (GUERRA 1983), não discrimina muito bem as espécies já estudadas (RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1996, 1998; DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998, 2000), devido à pequena variação de tamanho cromossômico e de posição centromérica. Até o momento, informações cariotípicas obtidas por técnicas que promovem a diferenciação linear dos cromossomos (bandamento e hibridação *in situ*) são inexistentes para espécies do gênero *Vernonia*.

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

As contagens cromossômicas realizadas para as espécies paleotropicalis de *Vernonia* do Velho Mundo correspondem a $x=9$ ou $x=10$, tendo sido encontrados poucos poliplóides, enquanto que para as espécies do Novo Mundo são citados os números básicos $x=10$, $x=14$, $x=15$, $x=16$, $x=17$, $x=19$ e $x=31$ (TURNER 1981; RUAS

et al. 1991; DEMATTEIS 1998). No entanto, o número cromossômico ancestral em Vernonieae é considerado como $x=9$ e $x=10$, como aqueles encontrados nas espécies da África e Sudeste Asiático. Uma sugestão sobre a origem do número básico das Vernonieae neotropicais foi proposta por JONES (1979), na qual é sugerida que o número básico $x=17$ foi derivado a partir de $x=10$, que sofreu duplicação para $x=20$, seguida de redução aneuplóide para 17, ou ainda, por origem anfidiplóide de $x=9+10$, seguida de redução.

IV. OBJETIVOS GERAIS

O objetivo geral deste trabalho foi o estudo cariotípico de algumas espécies do gênero *Vernonia*, ampliando o conhecimento da flora brasileira do ponto de vista cromossômico.

De forma mais específica, pretendeu-se subsidiar a análise citotaxonômica do gênero *Vernonia* contribuindo para a discussão sobre a integridade do mesmo (*sensu* Baker) ou sobre o seu desmembramento em gêneros menores (*sensu* Robinson). Caracteres cariotípicos, obtidos com técnicas de coloração convencional, de bandamento e de hibridação de DNA *in situ*, foram confrontados ao posicionamento taxonômico das respectivas espécies, seja nas categorias infragenéricas (*sensu* Baker) ou nos correspondentes gêneros propostos a partir do desmembramento de *Vernonia* (*sensu* Robinson).

V. ORGANIZAÇÃO GERAL DA TESE

Para facilitar o entendimento, esta tese encontra-se dividida em três capítulos. No primeiro, foram apresentados números cromossômicos e cariótipos, e feita uma abordagem citotaxonômica para sete espécies de *Vernonia*, pertencentes à seção *Lepidaploa*, subseção *Axilliflorae*, enquanto no segundo foram abordadas outras sete espécies pertencentes a quatro subseções, totalizando o estudo de 14 espécies (Tabela I), algumas dessas ilustradas na Figura 1. No terceiro capítulo foi feita uma caracterização longitudinal de cromossomos da espécie *Vernonia geminata*, com alguns tipos de bandamento (C, CMA/DA/DAPI e NOR) e hibridação *in situ* de rDNAr45S. Cada capítulo segue os padrões de formatação para submissão de periódicos, ainda indefinidos.

Tabela I – Espécies de *Vernonia* analisadas no presente trabalho, distribuídas nas respectivas subseções, de acordo com BAKER (1873).

SUBSEÇÃO	ESPÉCIE
<i>Axilliflorae</i> Benth.	<i>V. adamantium</i> Gardn.
	<i>V. chamissonis</i> Less.
	<i>V. cotoneaster</i> (Willd. ex Sprengel) Less.
	<i>V. fruticulosa</i> Mart. ex DC.
	<i>V. geminata</i> HBK
	<i>V. remotiflora</i> LE Rich.
	<i>V. riedelli</i> Sch. Bip. ex Baker
<i>Macrocephalae</i> Benth.	<i>V. buddleiaefolia</i> Mart. ex DC.
	<i>V. onoporoides</i> Baker
	<i>V. tomentella</i> Mart. ex DC.
<i>Oligocephalae</i> Benth.	<i>V. simplex</i> Less.
<i>Paniculatae</i> Benth.	<i>V. polyanthes</i> Less.
	<i>V. shwenkiaefolia</i> Mart. in DC.
<i>Scorpioideae</i> Benth.	<i>V. tweediana</i> Baker

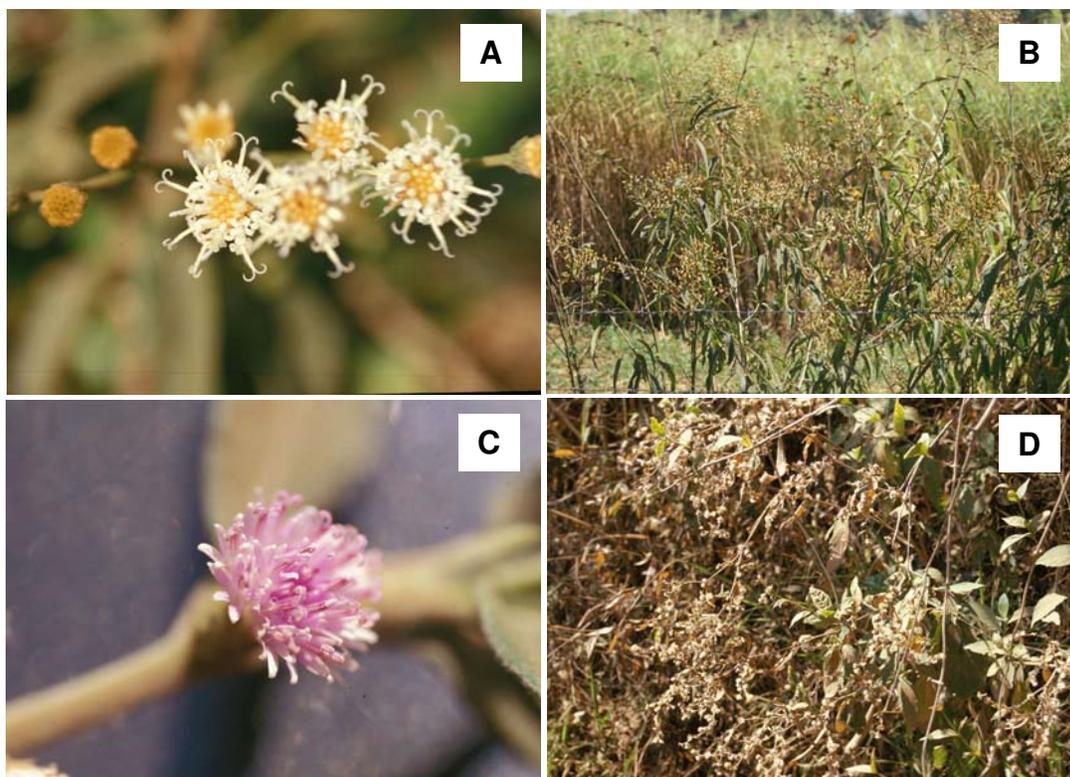


Figura 1 – Espécies de *Vernonia* pertencentes à seção *Lepidaploa sensu* BAKER (1873). *Vernonia polyanthes* Less. (subseção *Scorpioideae* Benth.), A – Detalhes da inflorescência e B – Hábito da planta. *Vernonia geminata* HBK (subseção *Axilliflorae* Benth.), C – Detalhes da inflorescência e D – Hábito da planta.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

- ANDERBERG, A.A. 1989. Phylogeny and reclassification of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Canad. J. Bot.* 67: 2277-2296.
- ANDERBERG, A.A. 1991a. Taxonomy and phylogeny of the tribe Inuleae (Asteraceae). *Pl. Syst. Evol.* 176: 75-123.
- ANDERBERG, A.A. 1991b. Taxonomy and phylogeny of the tribe Plucheae (Asteraceae). *Pl. Syst. Evol.* 176: 145-177.
- ANDERBERG, A.A. 1991c. Taxonomy and phylogeny of the tribe Gnaphalieae (Asteraceae). *Opera Bot.* 104: 5-187.
- ANDERBERG, A.A. 1996. "Inuleae" - A paraphyletic assemblage. In D.J.N. Hind & H.J. Beentje. Eds. *Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference. Vol. 1.* Kew: Royal Botanic Gardens. pp. 569-573.
- BAKER, J.G. 1873. Compositae I. Vernonieae: In Martius, C.F & Eichler, A.G. (eds.). 6(2). *Flora brasiliensis.* Lipsiae, Monachii. pp. 180.
- BARROSO, G.M. 1986. Sistemática de Angiospermas do Brasil. Vol. III. Viçosa, Imp. Universitária da Univ. Federal de Viçosa, pp. 326.
- BENTHAM, G. 1873a. Compositae: In: G. Bentham & J.D. Hooker (eds.) *Genera Plantarum.* London, Lovell Reeve 2: 163-533.
- BENTHAM, G. 1873b. Notes of the classification history, and geographical distribution of the Compositae. *Jour. Linn. Soc. Bot.* 13: 355-577.
- BOLKHOVSKIKH, Z.; GRIF, V.; MATVEJEVA, T.; ZAKHARYEVA, H.V. 1969. *Chromosome number of flowering plants.* V.L. Komarov Botanical Institute. Academy of Sciences of the USSR, Moscou.
- BREMER, K. 1987. Tribal interrelationships of the Asteraceae. *Cladistics* 3:210-253.
- BREMER, K. 1994. *Asteraceae – Cladistic & Classification.* Portland, Oregon, Timber Press. pp. 752.
- BREMER, K. 1996. Major clades and grades of the Asteraceae. In D.J.N. Hind & H.J. Beentje. Eds. *Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference. Vol. 1.* Kew: Royal Botanic Gardens. pp. 1-7.
- BREMER, K. & JANSEN, R.K. 1992. A new subfamily of the Asteraceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 79: 414-415.

- BREMER, K., JANSEN, R. K., KARIS, P. O., KÄLLERSJÖ, M., KEELEY, S. C., KIM, K.-J., MICHAELS, H. J., PALMER, J. D. & WALLACE, R. S. 1992. A review of the phylogeny and classification of the Asteraceae. *Nordic J. Bot.* 12:141-148.
- BREMER, K. & HUMPHRIES, C.J. 1993. Generic monograph of the Asteraceae - Anthemideae. *Bull. Brit. Mus. Nat. Hist. Bot.* 23: 71-177.
- CABRERA, A.L. 1944. *Vernonieae argentinas* (Compositae). *Darwiniana* 6 (3): 265-379.
- CARLQUIST, S. 1976. Tribal interrelationships and phylogeny of the Asteraceae. *Aliso* 8: 465-492.
- CASSINI, H. 1817. Aperçu des genres nouveaux foumes par M. Henri Cassini dans la famille dès Synanthéreés. Paris. *Bull. Sci. Soc. Phill.* 4: 66-68.
- CRONQUIST, A. 1977. The Compositae revisited. *Brittonia* 29: 137-153.
- DARLINGTON, C.; WYLIE, A.P. 1955. Chromosome Atlas of Flowering Plants. 2° edição. George Allen & Unwin LTD, Ruskin House Museum Street, London.
- DE CANDOLLE, A.P. 1836. *Compositae. Prodomus Systematics Naturalis Regni Vegetabilis* 5: 4-706.
- DEMATTEIS, M. 1996. Estúdios cromosomicos en especies Argentinas de *Vernonia* (Asteraceae). *Bonplandia* 9(1-2): 103-110.
- DEMATTEIS, M. 1998. Chromosome studies of some *Vernonia* species. (Asteraceae). *Genetics and Molecular Biology* 21: 381-385.
- DEMATTEIS, M. 2002. Cytotaxonomic analysis of South American species of *Vernonia* (Vernonieae: Asteraceae). *Bot. Linn. Soc.*, 139: 401-108.
- DEMATTEIS, M. & FERNÁNDEZ, A. 1998. karyotypes of seven South American species of *Vernonia* (Asteraceae). *Cytologia* 63: 323-328.
- DEMATTEIS, M. & FERNÁNDEZ, A. 1998. karyotypes of seven South American species of *Vernonia* (Asteraceae). *Cytologia* 63: 323-328.
- DEMATTEIS, M. & FERNÁNDEZ, A. 2000. Chromosomes studies on nine South American species of *Vernonia* (Vernonieae, Asteraceae). *Caryologia* 53(1): 61.
- GILL, L.S. 1978. Karyotype of *Vernonia aemulans* Vatke (Compositae). *Adansonia* 18: 375-376.

- GOLDBLATT, P. 1981. Index to plant chromosome numbers 1975-1978. *Monographs in systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V5. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1984. Index to plant chromosome numbers 1979-1981. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V8. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1985. Index to plant chromosome numbers 1982-1983. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V13. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1988. Index to plant chromosome numbers 1984-1985. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V23. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1990. Index to plant chromosome numbers 1986-1987. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V30. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1991. Index to plant chromosome numbers 1988-1989. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V40. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1996. Index to plant chromosome numbers 1992-1993. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V58. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1998. Index to plant chromosome numbers 1994-1995. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V69. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GUERRA, M. 1983. O uso de Giemsa em citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandamento. *Ciência e cultura*, 35: 190-193.
- HANSEN, H.V. 1991. Phylogenetic studies in Compositae tribe Mutisieae. *Opera Bot.* 109: 1-50.
- HEYWOOD, V.H., HARBORNE, J.B. & TURNER, B.L. 1977. An overture to Compositae. In V.H. Heywood, J.B. Harborne & B.L. Turner. Eds. *The Biology and Chemistry of the Compositae*. Vol. 1. London: Academic Press. pp.1-20.
- HIND, D.J.N. 1993. Notes of Compositae of Bahia, Brazil: I. *Kew Bulltein* 48: 245-277.

- HIND, D.J.N. & BEENTJE, H.J. 1996. Compositae: Systematics. Proceedings of the International Compositae Conference. Vol. 1. Kew: Royal Botanic Gardens. pp.621-626.
- HOFFMAN, O. 1890. Compositae. In Die Natürlichen Pflanzenfamilien. Vol.4. In: A. Engler & K. Prantl. Eds. Leipzig: Verlag von Wilhelm Engelmann. pp.87-391
- HOFFMAN, C. 1894. Vernonieae: In Engler, A. & Prantl, K. (eds.) *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. Leipzig, Wilhelm Engelmann, 8: 120-129.
- JANSEN, R.K. & PALMER, J.D. 1987. A chloroplast DNA inversion marks an ancient evolution split in the sunflower family (Asteraceae). *Proc. Natl. Acad. U.S.A.* 84:5818-5822.
- JEFFREY, C. 1978. Compositae. In: V.H. Heywood (ed.). *Flowering plants of the world*. Mayflower Books. New York.
- JEFFREY, C. 1992. The tribe Senecioneae (Compositae) in the Mascarene Islands with an annotated world checklist of the genera of the tribe. *Notes on Compositae: VI. Kew Bull.* 47: 49-109.
- JEFFREY, C. J. 1995 Compositae systematics 1975–1993. Developments and desiderata. In D. J. N. Hind, C. Jeffrey, and G. V. Pope [eds.], *Advances in Compositae systematics*, 3–21. Royal Botanic Gardens, Kew, UK.
- JONES, S.B. 1973. Revision of *Vernonia* section *Eremosis* (Compositae) in North America. *Brittonia* 25(2): 86-115.
- JONES, S.B. 1977. Vernonieae – systematic review. In: Heywood VH, Harbone JB, Turner BL, eds. *The biology and chemistry of the Compositae*, Vol. I, pp. 503-521. London: American Press.
- JONES, S.B. 1979a. Synopsis and pollen morphology of *Vernonia* (Compositae: Vernonieae) in the New World. *Rhodora* 81: 425-447.
- JONES, S.B. 1979b. Chromosome numbers of Vernonieae (Compositae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club.* 106: 79-86.
- JONES, S.B. 1981. Synoptic classification and pollen morphology of *Vernonia* (Compositae: Vernonieae) in the Old World. *Rhodora* 83: 59-75.
- JONES, S.B. 1982. In: Lové A, ed. IOPB chromosome number report LXXIV. *Taxon* 31: 126-127.
- KEELEY, S.C. & TURNER, B.L. 1990. A preliminary Cladistic analysis of the genus *Vernonia* (Vernonieae: Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution, Supplementum*, 4: 45-66.

- KING, R.M. & DAWSON, H.W. 1975. Cassini on Compositae. Vol. 1-3. Oriole Editions. New York.
- KING, R.M. & ROBINSON, H. 1987. The genera of the Eupatorieae (Asteraceae). Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 22. St. Louis: Missouri Botanical Garden. 581pp.
- KING, R.M., PAUL C. JANASKE, & DAVID B. LELLINGER (org.). 1995. Cassini on Compositae II. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 54. pp.190.
- KING, R.M., PAUL C. JANASKE, & DAVID B. LELLINGER (org.). 1995. Cassini on Compositae III. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden 54. pp.507.
- KITAMURA. 1937. *Asteraceae*. Mem. Coll. Sc. Kyoto Imp. Univ., *Ser. B*, 13 : 301.
- LAWRENCE, G.H.M. 1951. *Taxonomy of vascular plants*. The Macmillan Company. pp. 726-732.
- LESSING, C.F. 1829. De synanthereis herbarii regii barolinensis dissetationes. I - Vernonieae. *Linnaea* 4: 240-356.
- LESSING, C.F. 1831a. De synanthereis dissertatio Quarta. *Linnaea* 6:240-288, 295-399.
- LESSING. C.F. 1831b. De synanthereis herbarii regii barolinensis dissetationes. I – Verninieae. IV. *Vernoniearum mantissa*. *Linnaea* 6: 624-721.
- LESSING, C.F. 1832. Synopsis generum compositarum. Berlin: Duncker & Humblot.
- MATHEW, A. & MATHEW, P.M. 1982. Studies on South Indian Compositae II. Cytology of the genus *Vernonia* Schreb. *Cytologia* 47: 163-169.
- MOORE, R.J. (eds) 1973. Index to plant chromosome numbers 1967 – 1971. *Regnum veg.* 90: 1-539.
- MOORE, R.J. (eds) 1974. Index to plant chromosome numbers 1972. *Regnum veg.* 91: 1-108.
- MOORE, R.J. (eds) 1977. Index to plant chromosome numbers 1973 – 1974. *Regnum veg.* 96: 1-257.
- NESOM, G. 1994. Subtribal classification of the Astereae (Asteraceae). *Phytologia* 76: 193-274.

- NORDENSTAM, B. 1978. Taxonomic studies in the tribe Senecioneae (Compositae). *Opera Bot.* 44:1-83.
- PANERO, J.L. & FUNK, V.A. 2002. Toward a phylogenetic subfamilial classification for the Compositae⁴ (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 115(4): 909-922.
- PRUSKI, J.F. & SANCHO, G. 2004. Asteraceae. In: N. Smith et al. (eds.). Flowering plants of the Neotropics. Princeton University Press. p.33-39.
- ROBINSON, H. 1981. A revision of the tribal and subtribal limits in the Heliantheae (Asteraceae). *Smithsonian Contr. Bot.* 51:1-102.
- ROBINSON, H. 1983. A generic review of the tribe Liabeae (Asteraceae). *Smithsonian Contr. Bot.* 54:1-69.
- ROBINSON, H. 1987a. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), III: two new genera, *Cyrtucymura* and *Eirmocephala*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 844-855.
- ROBINSON, H. 1987b. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), the genus *Stenocephalum* Sch. Bip. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 578-583.
- ROBINSON, H. 1987c. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), a new genus *Echinocoryne*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 584-589.
- ROBINSON, H. 1988a. A new combination of *Vernonia libertadensis*. S.B. Jones, with notes and descriptions of additional Andean species of *Baccharis*. *Phytologia*, 65: 34-46.
- ROBINSON, H. 1988b. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae) IV. The new genus *Lessinglanthus*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100 (4): 929-951.
- ROBINSON, H. 1988c. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae) V. The new genus *Chrysolaeana*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100 (4): 952-958.
- ROBINSON, H. 1990a. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), VII: the genus *Lepidaploa*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 103: 248-253.
- ROBINSON, H. 1990b. Six combinations in *Baccharoides* Moench and *Cyanthillium* Blume. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 103: 248-253.
- ROBINSON, H. 1992a. A new genus *Vernonanthura* (Vernonieae: Asteraceae) *Phytologia* 73: 65-76.

- ROBINSON, H. 1992b. *Mesanthopora*, a new genus of Vernonieae (Asteraceae) from Paraguay. *Novon* 2: 169-172.
- ROBINSON, H. 1993a. Three new genera of Vernonieae from South America, *Dasyandantha*, *Dasyandanthina* and *Quechualia* (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 106 (4): 775-785.
- ROBINSON, H. 1993b. A review of the genus *Critoniopsis* in Central and South America (Vernonieae: Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 106 (3): 606-627.
- ROBINSON, H. 1994. *Cololobus*, *Pseudopiptocarpha* and *Trepadonia*, three new genera from South America (Vernonieae: Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 107 (3): 557-568.
- ROBINSON, H. 1996. The status of generic and subtribal revisions in the Vernonieae. In: Hind, D.J.N. & Beentje, H.J. (eds.). 1996. *Compositae: Systematics*. Kew, Whitestable Litho Printers Ltd., 1: 511-529.
- ROBINSON, H. 1999a. Generic and subtribal classification of American Vernonieae. *Smithonian Contributions to Botany*, 89: 1-116.
- ROBINSON, H. 1999b. Two new subtribes, Stokessinae and Pacourinae, of the Vernonieae (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 112(1): 216-219.
- ROBINSON, H. & BRETTELL, R.D. 1973. Tribal revisions in the Asteraceae. VIII. A new tribe, Ursinieae. *Phytologia* 26: 76-86.
- RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; VIEIRA, O.S.; MATZENBACHER, N.I. & 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.
- SOLBRIG, O.T. 1977. Chromosomal cytology and evolution in the family Compositae. In: Heywood, V.H.; Harbone, J.B. & Turner, B.L. (eds.). *The biology and chemistry of the Compositae*. London, Academic Press, 1: 267-281.
- STUTTS, J.G. 1981. Taxonomic revision of *Pollalesta* H.B.K. (Compositae: Vernonieae). *Rhodora* 83: 385-419.
- STUTTS, J.G. 1988. Taxonomic revision of Vernonieae Subsect. *Chamaedrys* (Compositae: Vernonieae). *Rhodora* 90: 37-99.

TURNER, B.L. 1981. New species and combinations in *Vernonia* sections *Leiboldia* and *Lepidonia* (Asteraceae), with a revisional conspectus of the groups. *Brittonia*, 33: 401-412.

WAGENITZ, G. 1976. Systematics and phylogeny of the Compositae (Asteraceae). *Pl. Syst. Evol.* 125: 29-46.

**Citotaxonomia em espécies de *Vernonia*, seção *Lepidaploa*,
subseção *Axilliflorae* (Asteraceae: Vernonieae)¹**

Vanessa Mancuso de Oliveira^{2,3}; Eliana Regina Forni Martins³; João Semir³

Running title: Cytotaxonomic studies in *Vernonia*, sect. *Lepidaploa*, subsect. *Axilliflorae*

¹Parte da tese de Mestrado da primeira autora

²Estudante de pós-graduação em Biologia Vegetal/UNICAMP; autora para correspondência: elianafm@unicamp.br

³Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Resumo

Foram estudadas, através da análise mitótica (técnica de Giemsa), 10 populações, correspondentes a sete espécies do gênero *Vernonia sensu* Baker (Asteraceae, Vernonieae), pertencentes à seção *Lepidaploa*, subseção *Axilliflorae*, objetivando subsidiar as propostas de seu desmembramento em gêneros menores (*sensu* Robinson) ou da manutenção de sua integridade (*sensu* Baker). As espécies foram coletadas em áreas de cerrado e campo rupestre, nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás. Foram realizadas contagens cromossômicas, que variaram de $2n=20$ a $2n=40$ e, elaborados cariótipos, verificando-se predomínio de cromossomos metacêntricos, e alguns submetacêntricos. Foram observados cromossomos B em uma das populações de *V. geminata* analisadas. O tamanho dos cromossomos variou de 0,9 a 4,6 μ m, o tamanho total de cromatina (CTC) de 29,7 a 45,0 μ m e, o índice de assimetria TF% de 41,2 a 46,9. O índice de assimetria intracromossômica (A1) variou de 0,13 a 0,29, enquanto o índice de assimetria intercromossômica (A2) de 0,14 a 0,21. O diagrama de dispersão mostrou que a espécie *V. geminata* pop. 1 foi a que apresentou cariótipo mais assimétrico. Os resultados obtidos até o momento ainda não possibilitam a discussão citotaxonômica do grupo de forma conclusiva, devido à impossibilidade de associar qualquer agrupamento infagenérico (seção/subseção) a determinados caracteres cariotípicos e à grande quantidade de espécies ainda não analisadas.

Introdução

O gênero *Vernonia* Schreb. pertence à família Asteraceae, tribo Vernonieae e compreende espécies arbustivas, arbóreas, herbáceas perenes e anuais, distribuídas nas regiões tropicais da Ásia, África e América (JONES, 1977). Na América do Sul existem cerca de 350-400 espécies, com maior ocorrência no sudeste do Brasil, norte da Argentina, Paraguai e Bolívia (DEMATTEIS & FERNÁNDEZ, 2000).

O gênero *Vernonia*, do ponto de vista sistemático, é um dos gêneros mais complexos da família Asteraceae (DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998). Esta complexidade é gerada principalmente pela extrema diversidade de formas biológicas que o gênero exhibe (STUTTS 1988), desde pequenas ervas rosuladas escaposas até grandes árvores. Muitos autores já tentaram esclarecer a taxonomia do gênero (CABRERA 1944; JONES 1979a, 1981, 1982; STUTTS 1981, 1988; ROBINSON 1987a, 1987b, 1987c, 1988a, 1988b, 1988c, 1990a, 1990b, 1992a, 1992b, 1993a, 1993b, 1994, 1996, 1999a, 1999b), porém, até o presente, seus resultados são contraditórios.

Citologicamente, o gênero *Vernonia sensu* Baker não tem sido muito estudado. Menos de 20% de suas espécies tiveram seu número cromossômico investigado. Os números cromossômicos variam entre $2n=18$ a $2n=160$ (DARLINGTON & WYLIE 1955; BOLKHOVISKIKH *et al.* 1969; MOORE 1973, 1974, 1977; GOLDBLATT 1981, 1984, 1985, 1988; GOLDBLATT & JOHNSON 1990, 1991, 1996, 1998).

A maioria das espécies de *Vernonia* sulamericanas pertence à seção *Lepidaploa* (Cass.) DC. (BENTHAM 1873b; BAKER 1873a, 1973b). Na América do sul também ocorrem as subseções *Eremosis*, *Critoniopsis* (JONES 1973), *Leiboldia* (JONES 1979b), *Hololepis*, *Trianthara* e *Stenocephalum* (BAKER 1873).

A maioria das espécies pertencentes à subseção *Leiboldia* são brasileiras (JONES 1979a). Em recente classificação, ROBINSON (1987a, 1987b, 1988a, 1990a, 1990b, 1990c, 1999a, 1999b) segregou algumas espécies de Vernonieae do Novo Mundo em novos gêneros, restringindo o gênero *Vernonia* apenas à América do Norte, com base em algumas características morfológicas, número cromossômico e tipo de pólen. Assim, as espécies da América do Sul e principalmente brasileiras de *Vernonia* passaram a compor outros gêneros, como *Echinocoryne*, *Cyrtocymura*, *Eirmocephala*, *Lessingianthus*, *Chrysolaela*, *Cuatrecasacanthus*, *Joseanthus*, *Acilepidopsis*, *Mesanthophora*, *Vernonanthura*, *Minasia*, *Dasyandantha*, *Dasyanthina*, *Quechualia*, *Cololobus*, *Pseudopiptocarpha*, *Lepidaploa*, *Critoniopsis*, *Stenocephalum*, *Hololepis*, *Mattfeldonthus* e *Trepadonia*. As transferências de espécies para estes gêneros, excluindo *Hololepis* DC e *Minasia* H. Rob, não foram aceitas por outros autores. De acordo com HIND (1993), a elevação da seção *Lepidaploa* e de suas subseções para o nível genérico é considerada prematura e essa mudança não resolve os problemas taxonômicos do gênero *Vernonia*. Segundo KEELEY & TURNER (1990) e ROBINSON (1999a), certamente as posições taxonômicas de algumas espécies de Vernonieae ainda são duvidosas e, para resolver esse problema taxonômico, são necessárias informações de áreas importantes, como a citologia, química e variação morfológica.

A seção *Lepidaploa sensu* BAKER (1873) é subdividida em seis subseções: *Axilliflorae*, *Glomeratae*, *Macrocephalae*, *Oligocephalae*, *Paniculatae* e *Scorpioideae* (BAKER 1873). A subseção *Axilliflorae* é caracterizada por apresentar inflorescências do tipo cimosa-seriada (DEMATTEIS 2002).

A subseção *Axilliflorae sensu* Baker é a que mais possui espécies de *Vernonia* neotropicais, compreendendo mais de 110 espécies distribuídas do México até o nordeste da Argentina (ROBINSON 1990a, 1990b, 1990c). Entretanto, dispõe de poucos registros de números cromossômicos para espécies dessa subseção, com variação de $2n=28$ em *V. remotiflora* (DEMATTEIS 2002) até $2n=120$ em *V. trinitatis* (KEELEY 1978). ROBINSON (1987a, 1987b, 1988a, 1990a, 1990b, 1990c, 1999a, 1999b) transferiu suas espécies para outros gêneros, como *Lepidapla* e *Lessingianthus*. As contagens feitas para esse grupo (KEELEY 1978; JONES 1979b, DEMATTEIS 1998, 2002) indicam quatro números básicos diferentes. O número mais freqüente é $x = 16$, mas também ocorrem espécies com $x = 14$, 15 e 17 . Esses números básicos encaixam-se nas citações apresentadas para *vernonia* do Novo Mundo, ou seja, $x=10$, $x=14$, $x=15$, $x=16$, $x=17$, $x=19$ e $x=31$ (TURNER 1981; RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1998).

Em algumas espécies, além dos cromossomos que compõem o cariótipo normal, aparecem cromossomos extras, chamados cromossomos B. Estes geralmente são heterocromáticos (GUERRA 1988), menores que os cromossomos A (JONES 1995), e podem estar presentes ou ausentes em indivíduos da mesma população (JONES 2003). O número de cromossomos B por indivíduo pode ser muito variável, inclusive entre suas células (GUERRA 1988); isso já foi relatado em

espécies de *Vernonia* (JONES 1979a, GALIANO & HUNZIKER 1987, DEMATTEIS 1997, 1998) e de outras Asteraceae, como *Mikania* (MAFFEI *et al.* 1999, RUAS *et al.* 2000), *Crepis capillaris* (WHITEHOUSE *et al.* 1981) e *Calycademia paniciflora* (CARR & CARR 1982). Geralmente o comportamento meiótico dos cromossomos B é irregular, com formação de univalentes, migração preferencial para um dos pólos ou, retardo anafásico (GUERRA 1988, JONES 1995).

Neste trabalho, objetivou-se o estudo citotaxonômico da subseção *Axiliflorae*, da seção *Lepidaploa*, do gênero *Vernonia*, procurando subsidiar a discussão sobre a manutenção das espécies neste taxon (*sensu* Baker) ou sobre a sua transferência para alguns dos 22 gêneros menores (*sensu* Robinson 1987, 1988a, 1988b, 1990, 1999a). Foram determinados os números cromossômicos e elaborados cariótipos com técnicas convencionais, possibilitando a análise da relação entre os caracteres cromossômicos e o posicionamento taxonômico de suas espécies.

Material e Métodos

Foram analisadas nove populações, correspondentes a sete espécies de *Vernonia*, da subseção *Axilliflorae*, ocorrentes em áreas de cerrado e campo rupestre. No estado de São Paulo, as coletas foram feitas nos municípios de Assis, Itirapina, Santa Cruz do Rio Pardo, Analândia e Campinas (Tabela I). Foram coletados e herborizados ramos florais e vegetativos, seguindo as técnicas usuais. Materiais testemunhos de todas as espécies foram depositados no Herbário UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas). As espécies foram identificadas de acordo com BENTHAM (1873) e BAKER (1873).

Para a realização dos estudos cromossômicos (número e morfologia) em mitose, pontas de raízes recém-germinadas foram coletadas e submetidas a pré-tratamento com 8 – hidroxiquinoleína (8Hq) – solução 0,002M, por 5 horas, a 14-15°C. Em seguida, as raízes foram fixadas em solução Farmer (etanol: ácido acético/ 3:1) por 24 horas, transferidas para álcool 70% e estocadas em freezer. As preparações citológicas foram obtidas pela técnica convencional de Giemsa (GUERRA 1983). As contagens cromossômicas foram realizadas, em média, em 20 células por espécie/população.

Na elaboração dos cariótipo, as células foram desenhadas com auxílio de câmara clara; os cromossomos desenhados foram medidos com a ajuda de um paquímetro digital, fazendo-se a devida comparação com uma escala micrométrica ampliada na mesma proporção. Os cromossomos foram medidos, em média, em 10 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 a caracterização do cariótipo foram também calculadas medidas como o CTC (comprimento total de cromatina) e o IC (índice centromérico), de acordo com GUERRA (1988), além do índice TF% (índice de assimetria, HUZIWARA 1962). Os índices de assimetria cariotípica intracromossômico (A1) e intercromossômico (A2) foram calculados segundo ZARCO (1986).

Para a confecção de ideogramas, optou-se pelo arranjo dos cromossomos pela forma e não pelo tamanho, seguindo os estudos anteriores de DEMATTEIS (1998) e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998), em que foram apresentados cariótipos de espécies da tribo Vernonieae. Foi verificado que a visualização das diferenças cromossômicas torna-se mais evidente com este tipo de arranjo dos cromossomos no ideograma (DEMATTEIS 1998).

A análise das lâminas foi feita através de observação em microscópio óptico. Células em condições adequadas de espalhamento e condensação cromossômica foram fotografadas, utilizando filmes Agfa Pan ISO 25.

Resultados

Cinco números cromossômicos diferentes foram encontrados para as sete espécies de *Vernonia*, da subseção *Axilliflorae*, $2n=20$, $2n=30$, $2n=32$, $2n=36$ e $2n=40$ (Tabela II, Figuras 3 e 4). Em *V. geminata* pop.2, além dos 20 cromossomos do cariótipo normal, observaram-se estruturas pequenas e arredondadas, interpretadas como sendo cromossomos B, que variaram (0 a 6) entre diferentes células de um mesmo indivíduo (Figura 4).

As fórmulas cariotípicas e os ideogramas apresentados para *V. adamantium*, *V. geminata*, *V. fruticulosa*, *V. riedelli*, *V. chamissonis*, *V. cotoneaster*, e outras duas populações de *V. remotiflora* (Tabela III, Figura 1) revelam algumas diferenças entre as espécies. Todas as espécies apresentaram cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, com exceção de *V. cotoneaster* que apresentou apenas cromossomos metacêntricos. No entanto, os cromossomos de *Vernonia* são, em sua maioria, metacêntricos.

O tamanho cromossômico variou de 0,9 a 4,6 μ m (Tabela II). O comprimento total de cromatina variou de 29,7 a 45,0 μ m e a simetria cariotípica TF% de 41,2 a 46,9 (Tabela II). O índice de assimetria intracromossômico A_1 variou de 0,13 a 0,29 e, o índice de assimetria intercromossômica A_2 variou de 0,14 a 0,21 (Tabela II). O diagrama de dispersão mostrou que a espécie *V. geminata* pop. 1 é a que possui cariótipo mais assimétrico (Figura 2).

Em *V. geminata* foram observadas algumas células com número de cromossomos duplicado, fenômeno chamado polissomatia (Figura 4G).

Discussão

Nas diversas obras de referências bibliográficas referentes a contagens cromossômicas, como DARLINGTON & WYLIE (1955), BOLKHOVISKIKH *et al.* (1969), MOORE (1973, 1974, 1977), GOLDBLATT (1981, 1984, 1985, 1988) e GOLDBLATT & JOHNSON (1990, 1991, 1996, 1998), constata-se que, no gênero *Vernonia*, os números cromossômicos variam entre $2n=18$ a $2n=160$, porém os mais freqüentes são $2n=32$ e $2n=34$. Das espécies de *Vernonia*, pertencentes à subseção *Axilliflorae*, encontradas no Brasil, apenas oito tinham número cromossômico já conhecido: *V. aurea* ($n=17$, JONES 1982; $2n=32$, DEMATTEIS 2002), *V. chalybae* ($2n=32$, DEMATTEIS 2002), *V. glabrata* Less. ($n=51$, ca. 52; Jones 1979b), *V. cotoneaster* ($2n=30$, DEMATTEIS 1998), *V. polyphyla* ($2n=64$, DEMATTEIS 2002), *V. trinitatis* ($2n=102$, KEELEY 1978), *V. sericea* ($n=17$, KEELEY 1978) e *V. remotiflora* ($2n=28$, DEMATTEIS 2002). No presente estudo, alguns números cromossômicos encontrados não coincidiram com citações anteriores. Obteve-se $2n=32$ para *V. cotoneaster* e para duas populações de *V. remotiflora*, enquanto, DEMATTEIS (1998, 2002) relatou $2n=30$ para *V. cotoneaster* e $2n=28$ para *V. remotiflora*, respectivamente. Por outro lado, o número cromossômico obtido para *V. fruticulosa* ($2n=32$) no presente estudo, concorda com o obtido por DEMATTEIS (1998) ($n=16$). As contagens cromossômicas para *V. adamantium* ($2n=40$), *V. geminata* ($2n=20$ e $20+0-6Bs$), *V. riedelli* ($2n=36$) e *V. chamissonis* ($2n=30$) são inéditas.

Segundo JONES (1979b) e RUAS *et al.* (1991), as Vernonieae do Novo Mundo, em contraste com as do Velho Mundo, mostram grande diversidade de

números cromossômicos e alta proporção de espécies poliplóides. JONES (1979b) propôs $x=17$ como número básico para espécies de *Vernonia* do Novo Mundo, considerando o número $x=16$ pouco freqüente ou duvidoso. Entretanto, de acordo com outros relatos (RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1998; DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 2000) e com o presente estudo, números cromossômicos múltiplos de 16 são relativamente freqüentes em espécies de *Vernonia* da América do Sul.

Para a subseção *Axilliflorae*, KEELEY (1978), JONES (1979b) e DEMATTEIS (1998, 2002) indicam quatro números básicos diferentes. O número mais freqüente é $x = 16$, mas também ocorrem espécies com $x = 14, 15$ e 17 . A maioria das espécies dessa subseção é diplóide ($2n=28, 30, 32$ e 34), enquanto *V. polyphylla* é tetraplóide ($2n=64$) a partir de $x=16$. *V. glabrata* enquadra-se no grupo de $x=17$, com relatos de indivíduos com diferentes níveis de ploidia ($2n=2x=34, 3x=51$ e $4x=ca.68$). Apenas uma espécie hexaplóide (a partir de $x=17$) foi relatada, *V. trinitatis* ($2n=102$) (KEELEY 1978).

No presente trabalho, não foram encontrados poliplóides e a maioria das contagens cromossômicas concorda com os números básicos definidos para este grupo, à exceção de *V. adamantium* ($2n=40$), *V. geminata* ($2n=20, 20+0-6B$) e *V. riedelli* ($2n=36$). Todas as espécies, com dados cromossômicos disponíveis, pertencentes à subseção *Axilliflorae*, foram incluídas no gênero *Lepidaploa* (ROBINSON 1999a), à exceção de duas, *V. glabrata* HBK ($2n=51, ca.52$, JONES 1979B) e *V. polyphylla* Sch. Bip. ex Baker ($2n=64$, RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 2002), transferidas para o gênero *Lessingianthus*.

Observou-se variação cromossômica intraespecífica numérica em *V. geminata*, pela ocorrência de até seis cromossomos B ($2n=20+0-6B$) em células

de uma das duas populações estudadas (pop.2) (Figura 3). Esses cromossomos extras ocorrem em várias espécies de plantas, incluindo *Vernonia* (JONES 1979a, GALIANO & HUNZIKER 1987, DEMATTEIS 1997, 1998) e outras Asteraceae, como *Mikania* (MAFFEI *et al.* 1999, RUAS *et al.* 2000), *Crepis capillaris* (WHITEHOUSE *et al.* 1981) e *Calycademia paniciflora* (CARR & CARR 1982). Os cromossomos B são geralmente heterocromáticos, pequenos e em número muito variável por indivíduo (GUERRA 1988). A confirmação dos cromossomos B exige mais estudos, tendo em vista que, espera-se que seu comportamento meiótico seja irregular: formação de univalentes, migração preferencial para um dos pólos ou, retardo anafásico (GUERRA 1988, JONES 1995). Entretanto, em milho, cromossomos B podem se parear entre si, formando quiasmas, embora não sejam homólogos com os cromossomos do complemento normal (JONES & REES 1982). Por outro lado, baseado em diversos estudos em diferentes grupos taxonômicos, CAMACHO *et al.* (2000) apontaram que os cromossomos B podem ser derivados dos cromossomos A ou de cromossomos sexuais.

A polissomatia cromossômica observada em *V. geminata*, isto é, células tetraplóides em meio às células diplóides normais, é um fenômeno já registrado para um grande número de espécies. Seus mecanismos e fatores responsáveis não são bem conhecidos e, parecem estar freqüentemente associados com hibridização, poliploidia e tratamentos químicos (RAO & NIRMALA 1985). SCHEREIBER (1966) denominou o fenômeno da variação da ploidia durante a histogênese da endoploidia, que pode ser caracterizado pela multiplicação repetida dos genomas, sem que se realize a divisão do núcleo e da célula.

Moisacismos cromossômicos numéricos originam-se de fenômenos citológicos com redução somática, eliminação de cromossomos, duplicação do conjunto cromossômico, divisão assíncrona dos centrômeros, sendo registrada para um grande número de espécies (RAO & NIRMALA 1985).

No presente estudo, a análise dos cromossomos revela, como uma das principais diferenças entre as espécies, a fórmula cariotípica, incluindo números cromossômicos distintos e tamanho total de cromatina bastante diferentes; apenas a forma dos cromossomos e o índice de assimetria foram relativamente semelhantes (Tabela II e III).

Segundo DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (2000), para as espécies pertencentes à subseção *Axillifloarae*, a maior amplitude de tamanho cromossômico foi observada em *V. polyphylla* (de 1.12 μ m a 2.69 μ m). Os resultados obtidos, no presente trabalho, discordam de alguns apresentados por DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (2000): a amplitude de variação do tamanho cromossômico foi maior (0,9 a 4,6 μ m). Apesar disso, pode-se perceber, nos ideogramas (Figura 1) e nas fotomicrografias (Figuras 2 e 3), que a amplitude de variação é bastante semelhante entre as diferentes espécies, exceto *V. geminata*, que apresenta cromossomos maiores que as demais (Figuras 1E, 2C e 3).

O tamanho total da cromatina (CTC) apresentou pequena amplitude de variação entre as espécies estudadas (29,7 a 45,0 μ m). *V. adamantium* foi a espécie que apresentou maior CTC (45,0) por apresentar o maior número cromossômico (2n=40); no entanto, apesar de *V. geminata* pop.1 apresentar apenas 2n=20 cromossomos, foi uma das espécies com maior CTC (32,0 μ m),

devido a seus cromossomos serem grandes (2,0 a 4,6 μ m) em relação às outras espécies analisadas. A espécie que apresentou menor CTC foi *V. fruticulosa* (29,7 μ m), com $2n=32$. Vale ressaltar que esta espécie foi a que apresentou os cromossomos menores (1,0 a 2,5 μ m).

Segundo RUAS *et al.* (1991), DEMATTEIS (1996, 1997) e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998), espécies mais primitivas ($x=10$, $x=17$) possuem cromossomos maiores (entre 1,9 e 2 μ m), enquanto as mais derivadas ($x=14$, 15) seriam um pouco menores (1,3 a 1,4 μ m). Os resultados obtidos no presente estudo, concordam, em parte, com os obtidos por DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998). A espécie *V. chamissonis* ($2n=30$) foi a que apresentou menor tamanho cromossômico (0,9 a 2,2 μ m), enquanto que em *V. geminata* ($2n=20$, $20+0-6B$) observou-se o maior (2,0 a 4,6 μ m). A espécie *V. adamantium*, com $2n=40$, também apresentou cromossomos relativamente grandes (1,5 a 3,3 μ m). As demais espécies, com $2n=32$ (*V. cotoneaster*, *V. fruticulosa* e *V. remotiflora*) e $2n=36$ (*V. riedelli*) apresentaram amplitude de comprimento cromossômico intermediária, entre *V. chamissonis* e *V. geminata*.

Todas as espécies analisadas apresentaram cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, porém em diferentes proporções, à exceção de *V. cotoneaster*, com apenas 16 pares metacêntricos (Tabela III). Os cromossomos submetacêntricos foram os que apresentaram menor tamanho (C e/ou D), à exceção de *V. geminata* (A e B) e *V. adamantium* (B) (Tabela III). Os cromossomos, na maioria metacêntricos, concordam com os dados avaliados em literatura para a tribo Vernonieae. Da mesma forma, os cromossomos

submetacêntricos costumam ser os menores do cariótipo (RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1996, 1998; DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998, 2000). DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (2000) estudaram três espécies pertencentes à subseção *Axilliflorae*, *V. aurea*, *V. chalybae* e *V. polyphylla* e, relataram cromossomos metacêntricos e submetacêntricos; porém, no presente trabalho, *V. polyphylla*, também apresentou dois pares de cromossomos subtlocêntricos, além dos metacêntricos e submetacêntricos.

RUAS *et al.* (1991) sugeriram que a assimetria cariotípica em *Vernonia* é do tipo moderado. No presente trabalho, os índices TF% foram parecidos com os obtidos por RUAS *et al.* (1991) e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (2000) para as espécies pertencentes à subseção *Axilliflorae* (*V. chalybae*, *V. aurea* e para *V. polyphylla*). 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. Os valores de TF% variaram de 41,2 a 46,9, sendo que o máximo possível de simetria estaria representado por 50,0 (LOMBELLO & FORNI-MARTINS 1998).

Com relação aos índices de assimetria intracromossômica (A_1) e intercromossômica (A_2), que são utilizados preferencialmente quando existem semelhanças no tamanho e forma dos cromossomos, pode-se verificar uma pequena diferença entre os cariótipos das espécies analisadas (Tabela II, Figura 2). Embora os índices de assimetria A_1 sejam próximos (0,14 a 0,21), os índices A_2 aqui obtidos mostram uma variação um pouco maior (0,13 a 0,29). No presente estudo, a espécie que apresentou cariótipo mais assimétrico foi *V. geminata* pop.1, com os maiores valores de índices A_1 (0,29) e A_2 (0,21) (Figura 2). Os

resultados obtidos no presente estudo, são muito semelhantes aos obtidos por DEMATTEIS (2000), para as espécies da subseção *Axilliflorae*. A espécie mais assimétrica foi *V. polyphylla*, apresentando valores de índices A_1 e A_2 iguais a 0,285 e 0,210, respectivamente (DEMATTEIS 2000).

Um fato que merece maiores investigações é a diferença de cariótipo entre as duas populações de *V. remotiflora*, aqui analisada (Tabela II), apesar da padronização nos procedimentos de técnica nas preparações cromossômicas. A população 1 apresentou dois pares submetacêntricos, ao invés de um, observado na população 2. Essa diferença na proporção de cromossomos metacêntricos e submetacêntricos pode indicar a ocorrência de citótipos ou ser decorrente de procedimentos de técnica, que podem levar, por exemplo, a um grau de condensação cromossômica diferencial. Isso pode alterar ligeiramente a proporção dos braços cromossômicos e, conseqüentemente, o índice centromérico (IC). Assim, quando o índice centromérico estiver próximo à transição de valores na classificação de tipos cromossômicos, pode haver essa dificuldade de interpretação. Por exemplo, o 15º par cromossômico de *V. remotiflora* pop.2 apresentou IC=39,8, sendo classificado como submetacêntrico. Segundo GUERRA (1988), valores acima de 40,1 já seriam classificados como submetacêntricos. Cromossomos pequenos também dificultam a tomada de medidas de tamanho e de índice centromérico (GUERRA 1988), o que também justifica a diferença relatada para as duas populações de *V. remotiflora*. A fórmula cariotípica, o CTC, o índice de simetria TF% e os índices de assimetria inter e intracromossômico (Tabela III, Figura 2) são muito semelhantes nesta espécie, o que reforça a semelhança cariotípica entre as duas populações estudadas.

Os resultados obtidos até o momento, para a subseção *Axilliflorae* da seção *Lepidaploa* do gênero *Vernonia*, ainda não possibilitam a discussão citotaxonômica do grupo de forma conclusiva, devido à impossibilidade de associar qualquer agrupamento infagenérico (seção/subseção) a determinados caracteres cariotípicos e à grande quantidade de espécies ainda não analisadas. Até o momento, parece ser possível observar pequena relação entre os dados cromossômicos obtidos no presente trabalho e os de literatura com a circunscrição e delimitação do gênero, tanto na conceituação de BAKER (1973) como de ROBINSON (1999a). A distribuição de números cromossômicos ($2n=20, 30, 32, 36, 40, ca.52, 64, 67-68, 102$), relacionados aos números básicos sugeridos para a subseção *Axilliflorae* ($x=14, 15, 16$ e 17) e as demais características cariotípicas não parecem acompanhar qualquer um dos agrupamentos, ou seja, indicando manutenção das espécies no gênero *Vernonia* (*sensu* Baker) ou a sua transferência para alguns dos 22 gêneros menores (*sensu* Robinson 1987, 1988a, 1988b, 1990, 1999a).

Entretanto, pode-se verificar certa diferenciação cariotípica para as duas espécies com $x=10$, *V. geminata* ($2n=20$) e *V. adamantium* ($2n=40$). Além do número atípico para a subseção *Axilliflorae* ($x=14,15,16$ e 17), essas duas espécies se diferenciam por apresentar os maiores cromossomos e também por ter cromossomo(s) do tipo metacêntrico(s) entre os maiores do cariótipo. O número básico $x=10$ é característico da subseção *Oligocephalae*, sendo esse caráter utilizado em discussão citotaxonômica elaborada por DEMATTEIS (2002). Este autor também sugeriu que duas espécies argentinas, *V. lithospermifolia* Hieron. e *V. verbascifolia* Less., com números cromossômicos múltiplos de 10

(DEMATTEIS 1998), e tradicionalmente enquadradas na subseção *Macrocephalae*, poderiam ser transferidas para a subseção *Oligocephalae*, em função da similaridade do número cromossômico e da morfologia polínica. No presente estudo, não se pode propor alterações no enquadramento de *V. geminata* e *V. adamantium* em seções, devido à necessidade de estudos morfológicos e taxonômicos complementares, além da busca de subsídios de outras análises biosistemáticas.

Além disso, dentre as espécies que seguem o número básico sugerido para a subseção *Axilliflorae*, a princípio, poder-se-ia supor que as espécies com número cromossômico em nível diplóide ($2x$) se agrupariam no gênero *Lepidaploa sensu* ROBINSON (1999a), enquanto as poliplóides se agrupariam em *Lessingianthus*. Isso seria embasado no fato de que as duas espécies com números cromossômicos já determinados e as que foram transferidas para o gênero *Lessingianthus* por ROBINSON (1999a), têm em comum os números cromossômicos duplicados, como $2n=51$, ca.52 ou 67-68 para *V. glabrata* (JONES 1979b) e $2n=64$ para *V. polyphylla* (JONES 1979b, DEMATTEIS 2002). Entretanto, tal relação não pode ser confirmada, pois o maior número cromossômico conhecido da subseção *Axilliflorae* é $2n=102$, em *V. trinitatis* (KEELEY 1978), que é mantida por ROBINSON (1999a) em *Lessingianthus*, mesmo gênero em que estão as espécies com números cromossômicos mais baixos.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de estudos de Vanessa Mancuso de Oliveira e financiamento deste trabalho (#02/11805-5).

Referências Bibliográficas

- BAKER, J.G. 1873. Compositae I. Vernonieae: In Martius, C.F & Eichler, A.G. (eds.). 6(2). *Flora brasiliensis*. Lipsiae, Monachii. pp 180.
- BENTHAM, G. 1873a. Compositae: In: G. Bentham & J.D. Hooker (eds.) *Genera Plantarum*. London, Lovell Reeve 2: 163-533.
- BENTHAM, G. 1873b. Notes of the classification history, and geographical distribution of the Compositae. *Jour. Linn. Soc. Bot.* 13: 355-577.
- BOLKHOVSKIKH, Z.; GRIF, V.; MATVEJEVA, T.; ZAKHARYEVA, H.V. 1969. *Chromosome number of flowering plants*. V.L. Komarov Botanical Institute. Academy of Sciences of the USSR, Moscou.
- CABRERA, A.L. 1944. Vernonieae argentinas (Compositae). *Darwiniana* 6 (3): 265-379.
- CAMACHO, J.P.M.; SHARBEL, T.F.; BEUKEBOOM, L.W. 2000. B chromosome evolution. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 355: 163-178.
- CARR, G.D. & CARR, R.L. 1982. Micro and nucleolar-organizing B-chromosomes in *Calycadenia* (Asteraceae). *Cytologia* 47: 79-87.
- DARLINGTON, C.; WYLIE, A.P. 1955. *Chromosome Atlas of Flowering Plants*. 2^o edição. George Allen & Unwin LTD, Ruskin House Museum Street, London.
- DEMATTEIS, M. 1996. Estúdios cromosomicos en especies Argentinas de *Vernonia* (Asteraceae). *Bonplantia* 9(1-2): 103-110.
- DEMATTEIS, M. 1997. Números cromosómicos y cariotipos de algunas especies de *Vernonia* (Asteraceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 33(1-2): 85-90.
- DEMATTEIS, M. 1998. Chromosome studies of some *Vernonia* species. (Asteraceae). *Genetics and Molecular Biology* 21: 381-385.

- DEMATTEIS, M. 2002. Cytotaxonomic analysis of South American species of *Vernonia* (Vernonieae: Asteraceae). *Bot. Linn. Soc.*, 139: 401-108.
- DEMATTEIS, M. & FERNÁNDEZ, A. 1998. karyotypes of seven South American species of *Vernonia* (Asteraceae). *Cytologia* 63: 323-328.
- DEMATTEIS, M. & FERNÁNDEZ, A. 2000. Chromosomes studies on nine South American species of *Vernonia* (Vernonieae, Asteraceae). *Caryologia* 53(1): 61.
- GALIANO, N.G. & HUNZIKER, J.H. 1987. Estudios cariologicos em Compositae. IV. Vernonieae Y Eupatorieae. *Darwianiana*, 28: 1-8.
- GOLDBLATT, P. 1981. Index to plant chromosome numbers 1975-1978. *Monographs in systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V5. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1984. Index to plant chromosome numbers 1979-1981. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V8. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1985. Index to plant chromosome numbers 1982-1983. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V13. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1988. Index to plant chromosome numbers 1984-1985. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V23. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1990. Index to plant chromosome numbers 1986-1987. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V30. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1991. Index to plant chromosome numbers 1988-1989. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V40. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1996. Index to plant chromosome numbers 1992-1993. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V58. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1998. Index to plant chromosome numbers 1994-1995. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V69. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GUERRA, M. 1983. O uso de Giemsa em citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandamento. *Ciência e cultura*, 35: 190-193.

- GUERRA, M. 1986. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan *et al.* *Rev. Brasil. Genet.* IX, 4: 741-743.
- GUERRA, M. 1988. *Introdução à citogenética Geral*. Rio de Janeiro. Editora Guanabara.
- HIND, D.J.N. 1993. Notes of Compositae of Bahia, Brazil: I. *Kew Bulltein* 48: 245-277.
- HUZIWARA Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosomes of *Aster*. *Amer. Jour. Bot.*, 49: 116-119.
- JONES, S.B. 1973. Revision of *Vernonia* section *Eremosis* (Compositae) in North America. *Brittonia* 25(2): 86-115.
- JONES, S.B. 1977. Vernonieae – systematic review. In: Heywood VH, Harbone JB, Turner BL, eds. *The biology and chemistry of the Compositae*, Vol. I, pp. 503-521. London: American Press.
- JONES, S.B. 1979a. Synopsis and pollen morphology of *Vernonia* (Compositae: Vernonieae) in the New World. *Rhodora* 81: 425-447.
- JONES, S.B. 1979b. Chromosome numbers of Vernonieae (Compositae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 106: 79-86.
- JONES, S.B. 1981. Synoptic classification and pollen morphology of *Vernonia* (Compositae: Vernonieae) in the Old World. *Rhodora* 83: 59-75.
- JONES, S.B. 1982. In: Lovë A, ed. IOPB chromosome number report LXXIV. *Taxon* 31: 126-127.
- JONES, R.N & REES, H. 1982. B chromosomes. Academic Press Inc. (London) Ltd. London. 266p.
- JONES, R.N. 1995. B chromosomes in plants. *Transley Reviews* 85: 411-434.
- JONES, N. & HOUBEN, A. 2003. B chromosomes in plants: escapees from the A chromosomes genome? *Trands in Plant Science* 8 (9): 417-423.
- KEELEY, S.C. 1978. A revision fo the West Indian Vernonias (Compositae). *Journal of the Arnold Arboretum* 59: 360-413.
- KEELEY, S.C. & TURNER, B.L. 1990. A preliminary Cladistic analysis of the genus *Vernonia* (Vernonieae: Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution, Supplementum*, 4: 45-66.

- LOMBELLO, R.A. & FORNI-MARTINS, E.R. 1998. Chromosomal studies and evolution in Sapindaceae. *Caryologia* 51 (1): 81-93.
- MAFFEI, E.M.D.; MARIN-MORALES, M.A.; RUAS, P.M. 1999. Chromosomal polymorphism in 12 populations of *Mikania micrantha* (Compositae). *Genet. Mol. Biol.*, 22(3): 433-444.
- MOORE, R.J. (eds) 1973. Index to plant chromosome numbers 1967 – 1971. *Regnum veg.* 90: 1-539.
- MOORE, R.J. (eds) 1974. Index to plant chromosome numbers 1972. *Regnum veg.* 91: 1-108.
- MOORE, R.J. (eds) 1977. Index to plant chromosome numbers 1973 – 1974. *Regnum veg.* 96: 1-257.
- Rao, A. & Nirmala, P.N. 1985. Chromosome numerical mosaicism in pearl millet (*Pennisetum americanum* (L.) Luke). *Can. J. Cytol.* 28: 203-206.
- ROBINSON, H. 1987a. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), III: two new genera, *Cyrtucymura* and *Eirmocephala*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 844-855.
- ROBINSON, H. 1987b. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), the genus *Stenocephalum* Sch. Bip. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 578-583.
- ROBINSON, H. 1987c. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), a new genus *Echinocoryne*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 584-589.
- ROBINSON, H. 1988a. A new combination of *Vernonia libertadensis*. S.B. Jones, with notes and descriptions of additional Andean species of *Baccharis*. *Phytologia* 65: 34-46.
- ROBINSON, H. 1988b. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae) IV. The new genus *Lessinglanthus*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100 (4): 929-951.
- ROBINSON, H. 1988c. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae) V. The new genus *Chrysoaena*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100 (4): 952-958.
- ROBINSON, H. 1990a. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), VII: the genus *Lepidaploa*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 103: 248-253.
- ROBINSON, H. 1990b. Six combinations in *Baccharoides* Moench and *Cyanthillium* Blume. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 103: 248-253.
- ROBINSON, H. 1992a. A new genus *Vernonanthura* (Vernonieae: Asteraceae) *Phytologia* 73: 65-76.

- ROBINSON, H. 1992b. *Mesanthopora*, a new genus of Vernonieae (Asteraceae) from Paraguay. *Novon* 2: 169-172.
- ROBINSON, H. 1993a. Three new genera of Vernonieae from South America, *Dasyandantha*, *Dasyandanthina* and *Quechualia* (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 106 (4): 775-785.
- ROBINSON, H. 1993b. A review of the genus *Critoniopsis* in Central and South America (Vernonieae: Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 106 (3): 606-627.
- ROBINSON, H. 1994. *Cololobus*, *Pseudopiptocarpha* and *Trepadonia*, three new genera from South America (Vernonieae: Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 107 (3): 557-568.
- ROBINSON, H. 1996a. The status of generic and subtribal revisions in the Vernonieae. In: Hind, D.J.N. & Beentje, H.J. (eds.). 1996. *Compositae: Systematics*. Kew, Whitestable Litho Printers Ltd., 1: 511-529.
- ROBINSON, H. 1999a. Generic and subtribal classification of American Vernonieae. *Smithonian Contributions to Botany*, 89: 1-116.
- ROBINSON, H. 1999b. Two new subtribes, Stokessinae and Pacourinae, of the Vernonieae (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 112(1): 216-219.
- RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; VIEIRA, O.S.; MATZENBACHER, N.I. & MARTINS, N.S. 1991. Cytogenetics of genus *Vernonia* Schreber (Compositae). *Cytologia*, 56: 239-247.
- RUAS, P. M., RUAS, C. F., MAFFEI, E. M. D., MARIN-MORALES, M. A. M., AGUIAR-PERECIN, M. L. R.; AGUIAR, M. L. R. 2000. Chromosome studies in the genus *Mikania* (Asteraceae). *Genetics and Molecular Biology* 23(4): 979 – 984.
- SCHREIBER, G. 1966. Genes e Desenvolvimento. In: PAVAN, C. & CUNHA, A.B., org. Elementos de genética. 2ª edição. São paulo, Cia. Ed. Nacional e EDUSP, pp. 214-217.
- STUTTS, J.G. 1981. Taxonomic revision of *Pollalesta* H.B.K. (Compositae: Vernonieae). *Rhodora* 83: 385-419.
- STUTTS, J.G. 1988. Taxonomic revision of Vernonieae Subsect. *Chamaedryx* (Compositae: Vernonieae). *Rhodora* 90: 37-99.
- TURNER, B.L. 1981. New species and combinations in *Vernonia* sections *Leiboldia* and *Lepidonia* (Asteraceae), with a revisional conspectus of the groups. *Brittonia*, 33: 401-412.

WHITEHOUSE, C., EDGAR, L.A., JONES, G.H., PARKER, J.S. 1981. The population cytogenetics of *Crepis capillaris* L. Chiasma variation. *Heredity* 47: 95-103.

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

Tabela I – Espécies de *Vernonia* analisadas, com respectivas localidades, habitats e material-testemunho. C – cerrado CR – campo rupestre.

ESPÉCIE	LOCAL DE COLETA	HABITAT	NÚMERO DO COLETOR
<i>Vernonia adamantium</i> Gardn.	MG, Diamantina	CR	ME Mansanares 389
<i>V. chamissonis</i> Less.	SP, Assis	C	VM Oliveira 50
<i>V. cotoneaster</i> (Willd. ex Sprengel) Less.	SP, Itirapina	C	VM Oliveira 52
<i>V. fruticulosa</i> Mart. ex DC.	GO, Parque Nacional das Emas	C	MA Batalha 2760
<i>V. geminata</i> HBK – pop. 1	SP, Assis	C	VM Oliveira 44
<i>V. geminata</i> HBK – pop. 2	SP, Analândia	C	VM Oliveira 82
<i>V. remotiflora</i> LE Rich. – pop.1	SP, Campinas	C	VM Oliveira 31
<i>V. remotiflora</i> LE Rich. – pop.2	SP, Assis	C	VM Oliveira 42
<i>V. riedelli</i> Sch. Bip. Ex Baker	SP, Santa Cruz do Rio Pardo	C	VM Oliveira 40

Tabela II – Espécies de *Vernonia* estudadas, número cromossômico, variação de tamanho cromossômico, comprimento total de cromatina (CTC), índice de assimetria (TF%), índice de assimetria intracromossômica (A1) e índice de assimetria intercromossômica (A2).

ESPÉCIE	2n	VARIAÇÃO DE TAMANHO (μm)	CTC	TF%	A1	A2
* <i>V. adamantium</i>	40	1,5 - 3,3	45,0	44,7	0,18	0,18
* <i>V. chamissonis</i>	30	0,9 – 2,2	31,3	44,2	0,14	0,15
<i>V. cotoneaster</i>	32	1,2 – 3,0	30,8	45,7	0,15	0,18
<i>V. fruticulosa</i>	32	1,0 - 2,5	29,7	44,9	0,13	0,15
* <i>V. geminata</i> – pop. 1	20	2,0 - 4,6	32,0	41,2	0,29	0,21
* <i>V. geminata</i> – pop. 2	20 + 0-6Bs	-	-	-	-	-
<i>V. remotiflora</i> – pop.1	32	1,7 - 2,6	34,3	46,2	0,22	0,19
<i>V. remotiflora</i> – pop.2	32	1,7 - 2,7	32,6	46,9	0,21	0,19
* <i>V. riedelli</i>	36	1,4 – 2,7	34,7	45,5	0,16	0,14

*Contagens inéditas

Tabela III – Fórmulas cariotípicas das espécies de *Vernonia* estudadas. Posição do centrômero: m=mediana, sm=submediana. Comprimento cromossômico: A – entre 4,6 e 3,6 µm; B – entre 3,5 e 2,6 µm; C – entre 2,5 e 1,6 µm; D – entre 1,5 e 0,9 µm.

ESPÉCIE	FÓRMULA CARIOTÍPICA
<i>V. adamantium</i>	3m(B)+16m(C)+1sm(B)
<i>V. chamissonis</i>	7m(C)+5m(D)+1sm(C)+ 1sm(D)
<i>V. cotoneaster</i>	1m(B)+12m(C)+3m(D)
<i>V. fruticulosa</i>	10m(C)+4m(D)+2sm(C)
<i>V. geminata</i> – pop. 1	1m(A)+2m(B)+3m(C)+2sm(A)+2sm(B)
<i>V. geminata</i> – pop. 2	-
<i>V. remotiflora</i> – pop.1	1m(B)+11m(C)+2m(D)+2sm(C)
<i>V. remotiflora</i> – pop.2	1m(B)+12m(C)+2m(D)+1sm(C)
<i>V. riedelli</i>	1m(B)+13m(C)+3m(D)+1sm(C)

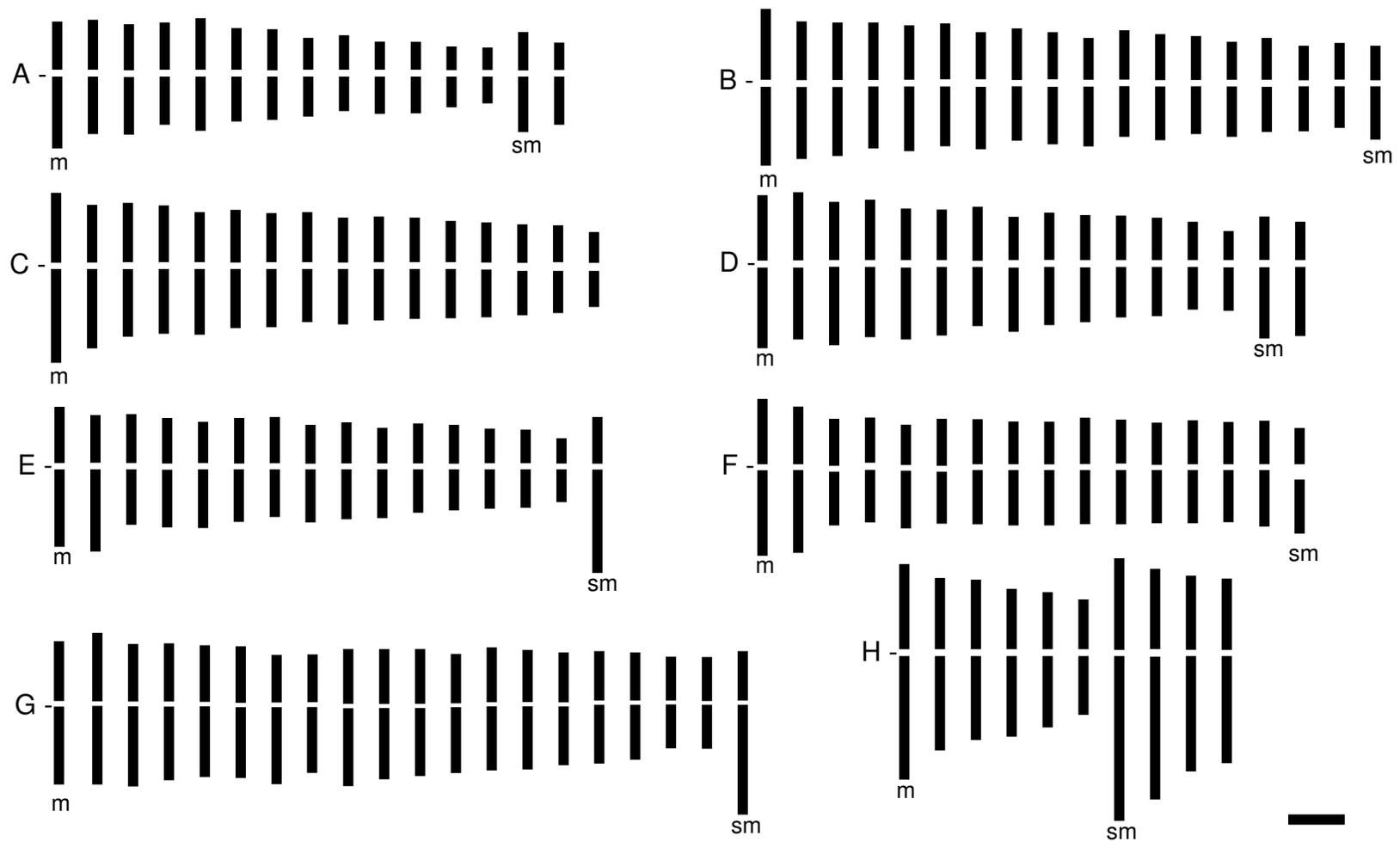


Figura 1 – Ideograma de espécies de *Vernonia*, pertencentes à subseção *Axilliflorae*. A – *V. chamissonis* ($2n=30$), B – *V. riedelli* ($2n=36$), C – *V. cotoneaster* ($2n=32$), D – *V. remotiflora* pop.1 ($2n=32$), E – *V. fruticulosa* ($2n=32$), F – *V. remotiflora* pop.2 ($2n=32$), G – *V. adamantium* ($2n=34$), H – *V. geminata* pop.1 ($2n=20$). m= metacêntrico, sm=submetacêntrico. Barra = $1\mu\text{m}$

Assimetria Cariotípica

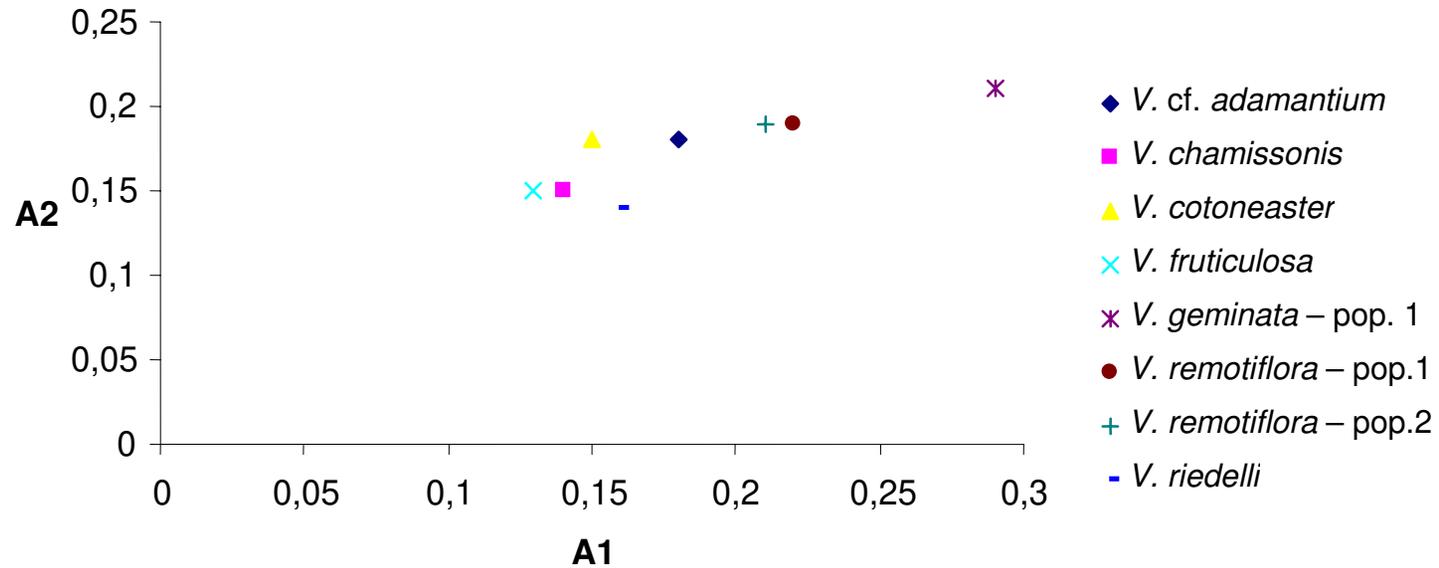


Figura 2 – Dispersão cariotípica para as espécies de *Vernonia* estudadas. A₁ = assimetria cariotípica intracromossômica e A₂ = assimetria cariotípica intercromossômica.

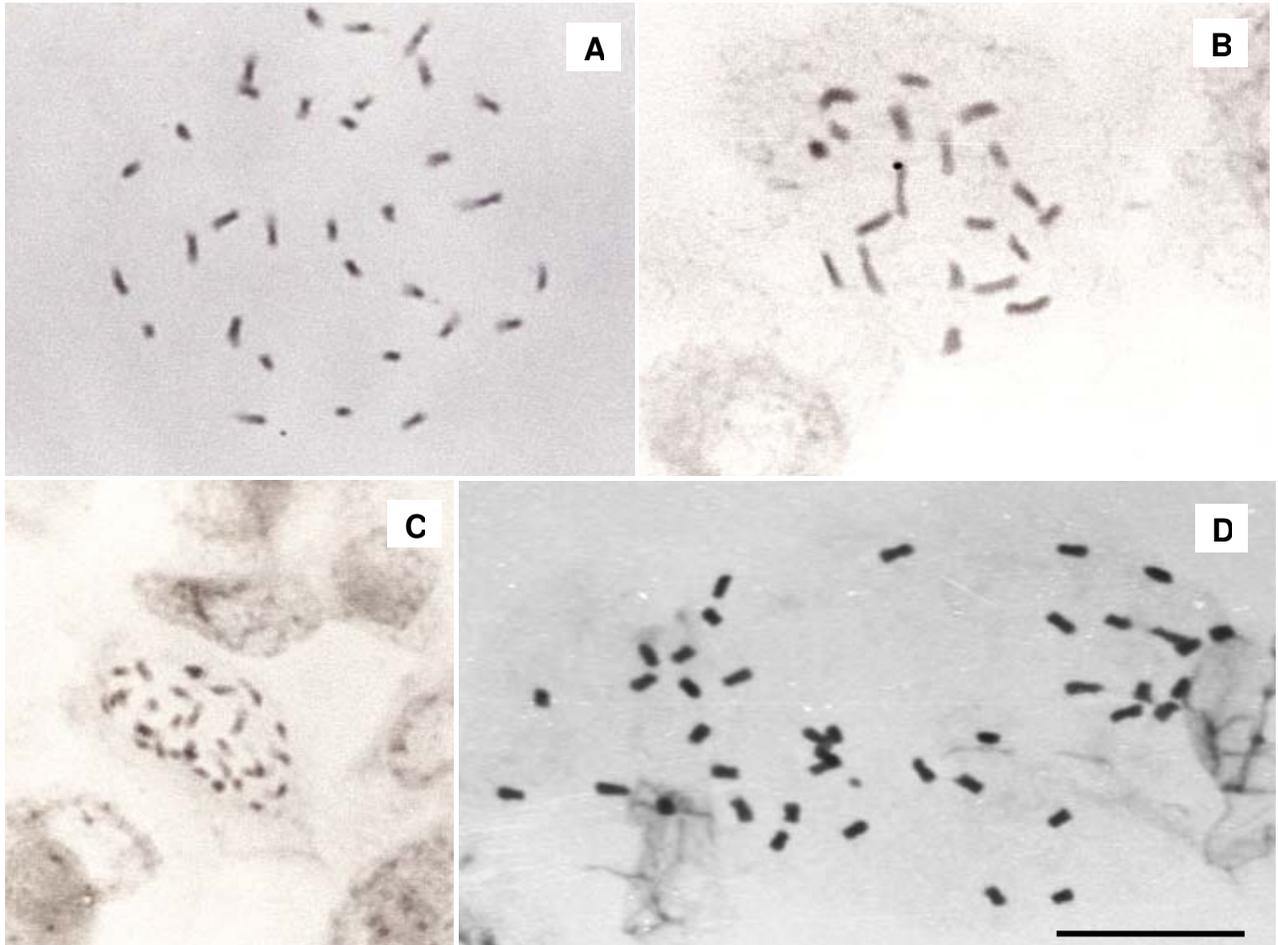


Figura 3 – Cromossomos mitóticos de espécies de *Vernonia*, pertencentes à subseção *Axilliflorae*. A – *V. cotoneaster* ($2n=32$), B – *V. geminata* pop. 1 ($2n=20$), C – *V. chamissonis* ($2n=30$), D – *V. adamantium* ($2n=40$). Barra = $10\mu\text{m}$.

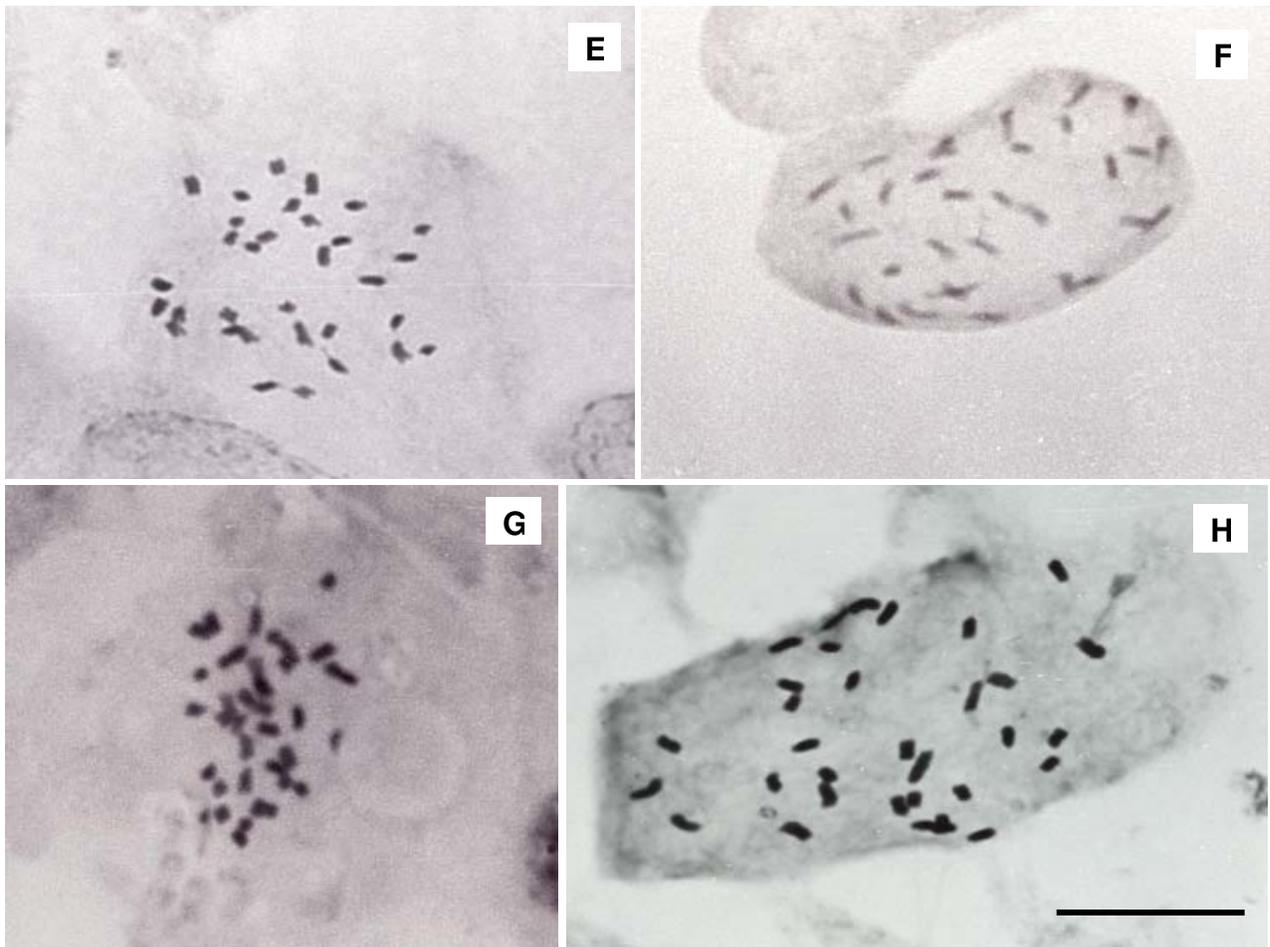


Figura 3 – Cromossomos mitóticos de espécies de *Vernonia*, pertencentes à subseção *Axilliflorae*. E – *V. remotiflora* pop. 1 ($2n=32$), F – *V. fruticulosa* ($2n=32$), G – *V. riedelli* ($2n=36$), H – *V. remotiflora* pop. 2 ($2n=32$). Barra = $10\mu\text{m}$.

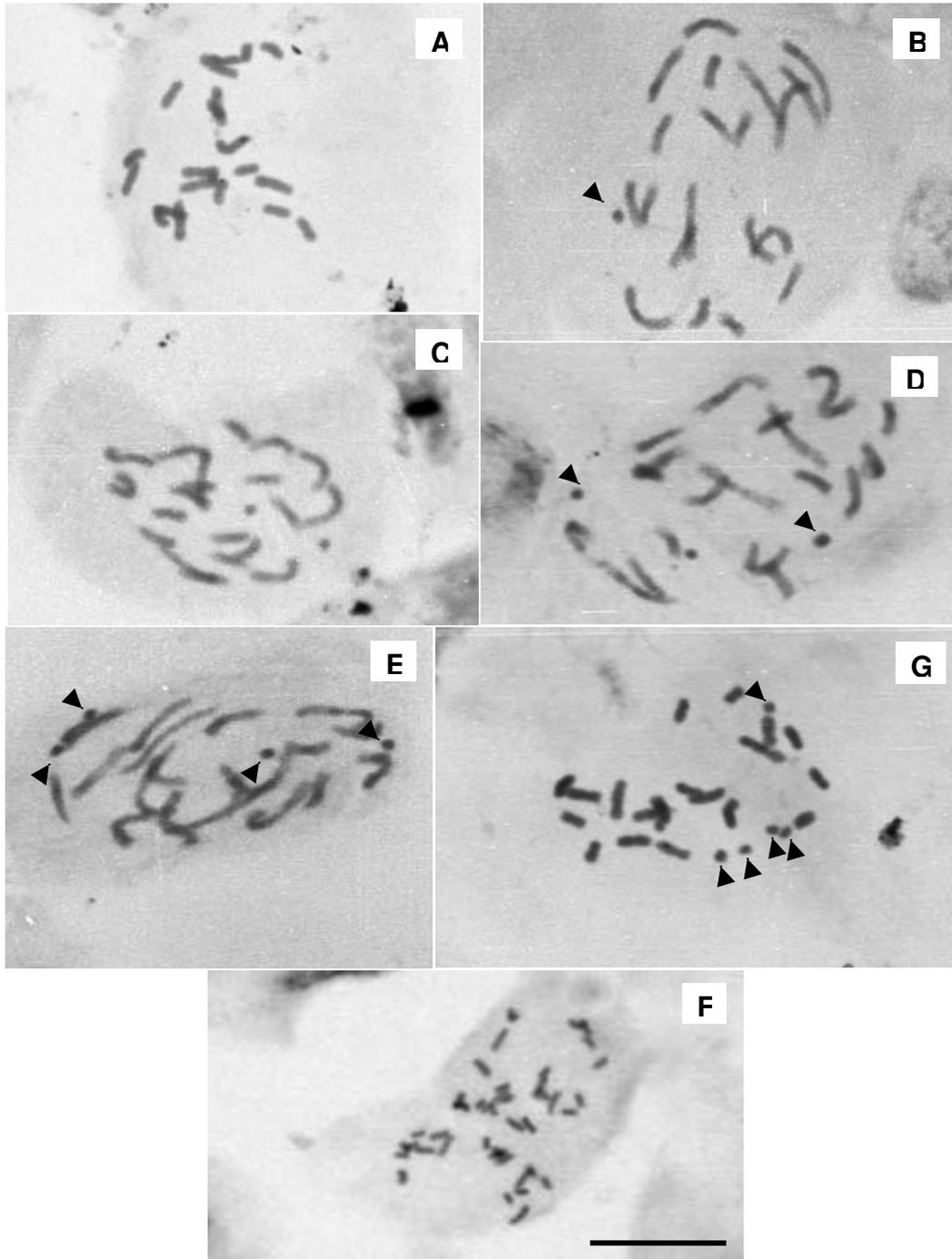


Figura 4 – Cromossomos mitóticos de *Vernonia geminata* pop.2 (A a F, 2n=20 + 0-6Bs) e *V. geminata* pop.1 (G, 2n=20). A – Célula sem cromossomos Bs. B – Célula com 1 cromossomo B, C – Célula com 2 cromossomos Bs, D – Célula com 3 cromossomos Bs, E - Célula com 4 cromossomos Bs, F - Célula com 5 cromossomos Bs, G - *V. geminata* pop. 1, polissomatia (2n=40). Barra = 5 μ m.

**Estudos citotaxonômicos em sete espécies de *Vernonia*
(Asteraceae: Vernonieae)¹**

Vanessa Mancuso de Oliveira^{2,3}; Eliana Regina Forni Martins³; João Semir³

Running title: Cytotaxonomic studies in *Vernonia*

¹Parte da tese de Mestrado da primeira autora

²Estudante de pós-graduação em Biologia Vegetal/UNICAMP; autora para correspondência: elianafm@unicamp.br

³Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Resumo

Foram estudadas, através da análise mitótica (técnica de Giemsa), nove populações, correspondentes a sete espécies do gênero *Vernonia sensu* Baker (Asteraceae, Vernonieae), pertencentes à seção *Lepidaploa*, objetivando subsidiar as propostas de seu desmembramento em gêneros menores (*sensu* Robinson) ou da manutenção de sua integridade (*sensu* Baker). As espécies foram coletadas em áreas de cerrado e campo rupestre, nos estados de São Paulo, Minas Gerais e Goiás. Foram realizadas contagens cromossômicas, que variaram de $2n=32$ a $2n=ca.80$ e, elaborados cariótipos, verificando-se o predomínio de cromossomos metacêntricos, e alguns submetacêntricos. O tamanho dos cromossomos variou de 1,2 a 4,9 μ m, o tamanho total de cromatina (CTC) de 31,3 a 50,7 e, o índice de assimetria TF% de 42,3 a 44,4. O índice de assimetria intracromossômica (A1) variou de 0,15 a 0,19, enquanto o índice de assimetria intercromossômica (A2) de 0,14 a 0,21. O diagrama de dispersão mostrou que a espécie *V. polyanthes* pop. 1 foi a que apresentou cariótipo mais assimétrico. Os resultados aqui obtidos ainda não possibilitam a discussão citotaxonômica do grupo de forma conclusiva, devido à impossibilidade de associar qualquer agrupamento infagênico (seção/subseção) a um determinado padrão cariotípico e à grande quantidade de espécies ainda não analisadas; no entanto, até o momento, parece existir uma tênue relação entre os números cromossômicos obtidos no presente trabalho e os de literatura com a conceituação de ROBINSON (1999a), para os gêneros *Lessingianthus*, *Vernonanthura* e *Chrysolaena*.

Introdução

O gênero *Vernonia* Schreb. (Asteraceae, Vernonieae) compreende mais de 1.000 espécies distribuídas nas regiões tropicais da Ásia, África e América (DEMATTEIS 1998). Na América do Sul existem cerca de 350-400 espécies, com maior ocorrência no Brasil, Argentina, Paraguai e Bolívia (DEMATTEIS & FERNÁNDEZ, 2000). Segundo JONES (1977), o sul do Brasil é o maior centro de diversificação do gênero.

Na América do Sul ocorrem as seções *Eremosis*, *Critoniopsis* (JONES 1973), *Leiboldia* (JONES 1979), *Hololepis*, *Trianthara*, *Stenocephalum* e *Lepidaploa* (BAKER 1873), no entanto, a maioria das espécies de *Vernonia* sulamericanas pertence à seção *Lepidaploa* (Cass.) DC. (BENTHAM 1873b; BAKER 1873).

Do ponto de vista sistemático, é um dos gêneros mais complexos da família Asteraceae (DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998), devido à extrema diversidade de formas biológicas que exhibe, desde pequenas ervas rosuladas escaposas até grandes árvores (STUTTS 1988). Muitos autores já tentaram esclarecer a taxonomia do gênero (CABRERA 1944; JONES 1979a, 1981, 1982; STUTTS 1981, 1988; ROBINSON 1987a, 1987b, 1987c, 1988a, 1988b, 1988c, 1990a, 1990b, 1992a, 1992b, 1993a, 1993b, 1994, 1996, 1999a, 1999 b), porém, até o presente, seus resultados são contraditórios.

Em recente classificação, ROBINSON (1987a, 1987b, 1988a, 1990a, 1990b, 1990c, 1999a, 1999b) desmembrou algumas espécies de Vernonieae do Novo Mundo em 22 gêneros, restringindo o gênero *Vernonia* apenas à América do Norte. No entanto, a maioria das modificações não foi aceita por vários autores.

Segundo HIND (1993), a elevação da seção *Lepidaploa* e de suas subseções para o nível genérico é considerada prematura e essa mudança não resolve os problemas taxonômicos do gênero *Vernonia*.

Citologicamente, o gênero *Vernonia sensu* Baker não tem sido muito estudado. Menos de 20% de suas espécies tiveram seu número cromossômico investigado, sendo que a maioria das contagens é de espécies norte-americanas e africanas. Os números cromossômicos variam entre $2n=18$ a $2n=160$ (DARLINGTON & WYLIE 1955; BOLKHOVISKIKH *et al.* 1969; MOORE 1973, 1974, 1977; GOLDBLATT 1981, 1984, 1985, 1988; GOLDBLATT & JOHNSON 1990, 1991, 1996, 1998). Segundo DEMATTEIS (2002), há diversos relatos de contagens cromossômicas para espécies da seção *Lepidaploa* (gênero *Vernonia sensu* BAKER (1873)), mencionando $x=10$ para a subseção *Oligocephalae*, $x=16$ para *Macrocephalae* e *Axilliflorae* e $x=17$ para *Paniculatae*.

As contagens cromossômicas para as espécies do Novo Mundo correspondem aos números básicos $x=10$, $x=14$, $x=15$, $x=16$, $x=17$, $x=19$ e $x=31$ (TURNER 1981; RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1998). No entanto, o número cromossômico ancestral em Vernonieae é considerado como $x=9$ e $x=10$, como aqueles encontrados nas espécies da África e Sudeste Asiático (JONES 1979a). De acordo com JONES (1979a), poliplóides são muito freqüentes no Novo Mundo, e o número cromossômico mais comum é $2n=34$.

Até o momento, apenas cerca de 65 espécies de *Vernonia* tiveram seu cariótipo analisado (Gill, 1978; MATHEW & MATHEW 1982; RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1996, 1997, 1998a, 1998b; DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998, 2000;

OLIVEIRA *et al.*, em preparação 1). No entanto, destas espécies analisadas apenas 15 são sul-americanas.

Neste trabalho, objetivou-se o estudo citotaxonômico de quatro subseções da seção *Lepidaploa* do gênero *Vernonia*, procurando subsidiar a discussão sobre o arranjo das espécies em diversas subseções (*sensu* Baker) ou sobre seu desmembramento em alguns dos 22 gêneros menores propostos por ROBINSON (1987, 1988a, 1988b, 1990, 1999a). Foram determinados os números cromossômicos e elaborados cariótipos mediante o uso de técnicas convencionais, possibilitando a análise da relação entre os caracteres cromossômicos e o posicionamento taxonômico de suas espécies.

Material e Métodos

Foram analisadas nove populações, correspondentes a sete espécies de *Vernonia*, da seção *Lepidaploa*, ocorrentes em áreas de cerrado e campo rupestre. No estado de São Paulo, as coletas foram feitas nos municípios de Assis, Analândia, Campinas e Mogi Guaçu, enquanto que no estado de Minas Gerais, foram feitas em Diamantina, Ouro Branco e Goiás (Tabela I). Foram coletados e herborizados ramos florais e vegetativos, seguindo as técnicas usuais. Materiais testemunhos de todas as espécies foram depositados no Herbário UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas). As espécies foram identificadas de acordo com BENTHAM (1873) e BAKER (1873).

Para a realização dos estudos cromossômicos (número e morfologia) em mitose, pontas de raízes recém-germinadas foram coletadas e submetidas a pré-tratamento com 8 – hidroxiquinoleína (8Hq) – solução 0,002M, por 5 horas, a 14-15°C. Em seguida, as raízes foram fixadas em solução Farmer (etanol: ácido acético/ 3:1) por 24 horas, transferidas para álcool 70% e estocadas em freezer. As preparações citológicas foram obtidas pela técnica convencional de Giemsa (GUERRA 1983). As contagens cromossômicas foram realizadas, em média, em 20 células por espécie/população.

Na elaboração dos cariótipos, as células foram desenhadas com auxílio de câmara clara; os cromossomos desenhados foram medidos com a ajuda de um paquímetro digital, fazendo-se a devida comparação com uma escala micrométrica ampliada na mesma proporção. Os cromossomos foram medidos, em média, em 10 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 a caracterização do cariótipo foram também calculadas medidas como o CTC (comprimento total de cromatina) e o IC (índice centromérico), de acordo com GUERRA (1998), além do índice TF% (índice de assimetria, HUZIWARA 1962). Os índices de assimetria cariotípica intracromossômico (A1) e intercromossômico (A2) foram calculados segundo ZARCO (1986).

Para a confecção de ideogramas, optou-se pelo arranjo dos cromossomos pela forma e não pelo tamanho, seguindo os estudos anteriores de DEMATTEIS (1998) e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998). Foi verificado que a visualização das diferenças cromossômicas torna-se mais evidente com este tipo de arranjo dos cromossomos no ideograma (DEMATTEIS 1998).

A análise das lâminas foi feita através de observação em microscópio óptico. Células em condições adequadas de espalhamento e condensação cromossômica foram fotografadas, utilizando filmes Agfa Pan ISO 25.

Resultados

Três números cromossômicos diferentes foram encontrados para as sete espécies de *Vernonia*, da seção *Lepidaploa*, $2n=32$, $2n=34$, $2n=ca.80$ (Tabela II, Figura 3).

As fórmulas cariotípicas e os ideogramas apresentados para *V. buddleiaefolia*, *V. tweediana*, *V. simplex* e três populações de *V. polyanthes* (Tabela II, Figura 1) revelam poucas diferenças entre estas. Todas apresentaram cromossomos metacêntricos e submetacêntricos; os cromossomos de *Vernonia* são, em sua maioria, metacêntricos. Foi observado um par de cromossomos com constrição secundária em *V. polyanthes* pop.1, *V. polyanthes* pop.2 e *V. buddleiaefolia* (Figura 1).

O tamanho cromossômico variou de 1,2 a 4,9 μ m (Tabela II). O comprimento total de cromatina (CTC) variou de 31,3 a 50,7 μ m e a simetria cariotípica TF% de 42,3 a 44,4 (Tabela II). O índice de assimetria intracromossômico A_1 variou de 0,14 a 0,22 e, o índice de assimetria intercromossômica A_2 variou de 0,15 a 0,19 (Tabela II). O diagrama de dispersão mostrou que a espécie *V. polyanthes* pop. 1 é a que possui cariótipo mais simétrico (Figura 2).

Discussão

Nas diversas obras de referências bibliográficas referentes a contagens cromossômicas, como DARLINGTON & WYLIE (1955), BOLKHOVISKIKH *et al.* (1969), MOORE (1973, 1974, 1977), GOLDBLATT (1981, 1984, 1985, 1988) e GOLDBLATT & JOHNSON (1990, 1991, 1996, 1998), constata-se que, no gênero *Vernonia*, os números cromossômicos variam entre $2n=18$ a $2n=128$, porém os mais freqüentes são $2n=32$ e $2n=34$ (Tabela IV). No presente estudo, a contagem $2n=32$ encontrada para uma população de *V. polyanthes* (pop.1) não coincidiu com citações anteriores. RUAS *et al.* (1991) mencionaram $2n=34$ enquanto COLEMAN (1968) relatou $n=18$. Entretanto, para as populações 2 e 3, a contagem $2n=34$ coincide com o relato de RUAS *et al.* (1991). O número cromossômico obtido para *V. simplex* ($2n=34$) no presente estudo, concorda com o obtido por JONES (1979a). As contagens cromossômicas para *V. shwenkiaefolia* ($2n=34$), *V. buddleiaefolia* ($2n=32$) e *V. onoporoides* ($2n=ca.80$) são inéditas.

Dentre as subseções da seção *Lepidaploa* há indicação de números cromossômicos básicos para *Oligocephalae* Benth. ($x=10$), *Macrocephalae* Benth. ($x=16$), *Axilliflorae* Benth. ($x=16$) e *Paniculatae* Benth. ($x=17$) (DEMATTEIS 2002). A discussão citotaxonômica da subseção *Axilliflorae* foi abordada por OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1).

JONES (1979b), GALIANO & HUNZIKER (1987) e ROBINSON (1999a) sugeriram que a subseção *Oligocephalae* é a única do Novo Mundo com número cromossômico básico $x=10$. DEMATTEIS (2002) obteve o número básico $x=10$ para quatro espécies da subseção *Oligocephalae* Benth., sendo estas: *Vernonia*

flexuosa Sims ($n=20$ e $2n=40$), *V. platensis* (Spreng.) Less. ($n=10$, 20, 30 e $2n=20$, 40, 50, 60), *V. pronpiqua* Hieron. var. *pronpiqua* ($n=10$ e $2n=20$), *V. pronpiqua* Hieron. var. *canescens* (Chodat) Dematteis ($n=10$ e $2n=20$) e *V. sceptrum* Chodat ($2n=80$); no entanto, BAKER (1873) incluiu *V. platensis* (Spreng.) Less. e *V. flexuosa* Sims na subseção *Scorpioideae* (Tabela IV). Além disso, a subseção *Oligocephalae* é formada por espécies com número cromossômico básico diferente de 10, como *V. mollissima* Hook. & Arn., $n=$ ca. 54 (BERNADELLO 1986) (TabelaIV). No presente trabalho, foi estudada apenas uma espécie pertencente a esta subseção, *V. simplex*, que apresentou número cromossômico $2n=34$. Anteriormente, RUAS *et al.* (1991) haviam relatado para esta espécie, $2n=40$, discordando de JONES (1982), que relatou para a mesma espécie $n=17$, concordando com o resultado aqui obtido.

Números cromossômicos múltiplos de 10 também foram relatados para espécies não pertencentes à subseção *Oligocephalae* Benth. Recentemente, OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1) relataram números cromossômicos múltiplos de 10 em duas espécies da subseção *Axilliflorae*, *V. geminata* ($2n=20$) e *V. adamantium* ($2n=40$), que também apresentaram diferenciação cariotípica (cromossomos maiores, alguns dos quais submetacêntricos) em relação a outras espécies daquele grupo. Além disso, DEMATTEIS (1998) obteve $2n=20$ para duas espécies argentinas, *V. lithospermifolia* Hieron. e *V. verbascifolia* Less., pertencentes à subseção *Macrocephalae* (Tabela IV). De acordo com DEMATTEIS (2002), essas duas espécies poderiam ser transferidas para a subseção *Oligocephalae* por terem morfologia do pólen similar a este grupo e por terem número cromossômico múltiplo de 10. De acordo com a nova proposta taxonômica

de ROBINSON (1998a), as espécies *V. lithospermifolia* Hieron. e *V. verbascifolia* Less, com $2n=20$ (DEMATTEIS 1998a), além de *V. simplex*, com $2n=40$ (RUAS *et al.* 1991), foram incluídas no gênero *Lessingianthus*. É interessante verificar que o gênero *Lessingianthus* abrigou a única espécie da subseção *Oligocephalae* com número cromossômico não múltiplo de 10, *V. mollissima* (ca. 54, BERNADELLO 1986), além de uma população de *V. simplex* ($n=17$, RUAS *et al.* 1991) (Tabela IV). Por outro lado, segundo ROBINSON (1999a), as espécies *V. pronpiqua* Hieron. var. *pronpiqua* ($n=10$ e $2n=20$), *V. pronpiqua* Hieron. var. *canescens* (Chodat) Dematteis ($n=10$ e $2n=20$) e *V. sceptrum* Chodat ($2n=80$) foram incluídas no gênero *Chrysolaena*, desmembrado de *Vernonia* (ROBINSON, 1988) (Tabela IV). As espécies estudadas por OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1), com números múltiplos de 10 (*V. geminata* e *V. adamantium*) foram incluídas por ROBINSON (1999a) num terceiro gênero distinto, *Lepidaploa* (Tabela IV).

Nas subseções *Macrocephalae* e *Axilliflorae*, segundo DEMATTEIS (2002), a maioria das espécies apresenta número cromossômico múltiplo de 16. É característica da subseção *Macrocephalae*, a alta freqüência de poliplóides. DEMATTEIS (2002) estudou 10 espécies desta subseção, das quais nove apresentaram número cromossômico básico múltiplo de 16, sendo cinco diplóides ($2n=32$), três tetraplóides ($2n=64$) e uma octaplóide ($2n=128$). No presente estudo, foram estudadas três espécies pertencentes à subseção *Macrocephalae*, concordando com o número cromossômico básico apontado ($x=16$): *V. buddleiaefolia* ($2n=2x=32$), *V. tomentella* ($2n=2x=32$) e, uma espécie poliplóide, *V. onoporoides* ($2n=5x=ca.80$). Assim, o número cromossômico aqui obtido aumenta a freqüência de poliploidia nesta subseção. JONES (1979b) obteve $n=17$ e 34 para

V. bardanoides Less e DEMATTEIS (2002) relatou $2n=30$ para *V. rugulosa* Sch. Bip. ex Baker, números discordantes para a subseção *Macrocephalae* (Tabela IV). Todas as espécies desta subseção foram incluídas no gênero *Lessingianthus* por ROBINSON (1999a) (Tabela IV).

A subseção *Paniculatae* Benth. compreende arbustos e pequenas árvores. Segundo JONES (1979b, 1982) e STUTTS (1988), todas as espécies sul-americanas deste grupo, e a maioria das norte-americanas, possuem número básico $x=17$. *V. westiniana* Less., encontrada no estado de São Paulo, apresenta número cromossômico $n=17$ (JONES 1979b). Todas as espécies pertencentes a essa subseção, foram incluídas por ROBINSON (1999a), no gênero *Vernonanthura* e possuem número cromossômico múltiplo de 17, à exceção de *V. nudiflora* Less., que além de $n=17$ (JONES 1974, BERNADELLO 1986) e de $2n=34$ (STUTTS *et al.* 1988, RUAS *et al.* 1991), também apresentou $n=16$ e $2n=32$ (COVAS & HUNZIKER 1954, HUNTER 1964) (Tabela IV). No presente trabalho foi estudada apenas uma espécie desta subseção, *V. shwenquiaefolia*, que apresentou número cromossômico $2n=34$ (Tabela II), concordando com o número cromossômico básico relatado para a subseção. A espécie *V. polyanthes*, também foi enquadrada em *Paniculatae* por DEMATTEIS (2002), no entanto BAKER (1973) enquadrou-a na subseção *Scorpioideae*.

Para a subseção *Scorpioideae sensu* Baker foram relatados diversos números cromossômicos, múltiplos, em maior frequência, de 10, 16 e 17. A maioria das espécies pertencentes a essa subseção, foi incluída por ROBINSON (1999a) no gênero *Chrysolaena*. Foram incluídas em *Vernonanthura*, *V. mariana* Mart., *V. polyanthes* Less. e *V. tweediana* Baker e, em *Lepidaploa*, *V. argyrotrichia*

Sch. Bip. ex Baker (ROBINSON 1999a). Neste trabalho foram estudadas três populações de *V. polyanthes*, também enquadrada na subseção *Paniculate* por DEMATTEIS (2002), como mencionado anteriormente (Tabela IV). Duas populações apresentaram $2n=34$ enquanto uma apresentou $2n=32$. RUAS *et al.* (1991) também obteve $2n=34$ para essa espécie, porém, COLEMAN (1968, 1970) obteve número cromossômico discordante, $n=18$, em uma população da cidade de São Paulo (SP).

Há vários relatos na literatura indicando diferenças de números cromossômicos entre populações de uma mesma espécie. Um dos principais problemas para a citotaxonomia são as contagens cromossômicas errôneas citadas na literatura, muitas vezes decorrentes do pequeno tamanho dos cromossomos de plantas (GUERRA 1988). As variações nas contagens cromossômicas de uma espécie também podem ser decorrentes de identificações botânicas incorretas, e que podem trazer sérios problemas para a interpretação dos dados. Erros na identificação botânica podem refletir a complexidade taxonômica do grupo em estudo, devido à sua diversidade e/ou existência de híbridos e poliplóides, o que pode gerar indivíduos/espécies com caracteres morfológicos intermediários (STACE 1989). Como as análises cromossômicas das grandes famílias e gêneros são, na maioria das vezes, realizadas em muitos trabalhos independentes, torna-se necessário uma análise crítica dos dados obtidos previamente (FAVARGER 1978, GUERRA 2000, MANSANARES *et al.* 2002).

Dentre as três populações de *V. polyanthes* abordadas no presente estudo, a população 2, procedente de em Mogi Guaçu ($2n=34$), provavelmente seria um híbrido de *V. polyanthes* com *V. rubriramea*, por apresentar características

morfométricas que lembram essas duas espécies (Semir, comunicação pessoal). De acordo com STUTTS (1988), a hibridização é comum em *Vernonia* e muitas espécies híbridas ocupam ambientes perturbados. Híbridos foram observados entre *V. marginata* e *V. baldwini* ssp *interior* e, além destas espécies, a hibridização é muito comum entre *V. fasciculata* e *V. baldwini* ssp *interior*, *V. gigantea*, *V. arkansa* e *V. missurica* (JONES 1972).

Por outro lado, uma parte dos números cromossômicos discrepantes atribuídos a um mesmo taxon é decorrente, segundo muitas evidências, à existência de raças cromossômicas ou citótipos, comum entre os vegetais (FAVARGER 1978, MORAWETZ 1984, MANSANARES *et al.* 2002). FAVARGER (1978) afirmou que, para que se possam determinar os verdadeiros números básicos de um determinado taxon deve-se conhecer os números cromossômicos de diversos espécimes do grupo (se não todos) e ter explorado muitas populações. MORAWETZ (1984), propôs que a estabilidade cariológica em plantas tropicais é muito mais duvidosa do que se pensa. Neste contexto, este autor cita o caso de *Duguetia furfuraceae* (Annonaceae), uma espécie amplamente distribuída nos cerrados brasileiros, que apresenta três raças cromossômicas, mas com indivíduos morfologicamente indistinguíveis. DEMATTEIS (1998), em seu estudo dos cromossomos de algumas espécies de *Vernonia*, sugeriu a existência de dois citótipos diferentes em *V. saltensis* Hieron. O autor encontrou para essa espécie $2n=64$ e citou a contagem de BERNADELLO (1986) com $n=16$ para o mesmo taxon, considerando que as contagens cromossômicas para outras populações podem ajudar a determinar a real distribuição geográfica dos citótipos e sua relação com

a morfologia dos espécimes. De acordo com RUAS *et al.* (1991), no gênero *Vernonia*, a variação do número cromossômico em uma mesma espécie é comum. Por exemplo, em *V. nudiflora*, foram relatados três números distintos, $2n=16$ (HUNTER 1964, COVAS & HUNZIKER 1954), $2n=32$ (COVAS & HUNZIKER 1954) e $2n=34$ (JONES 1974) (Tabela IV). Citótipos aneuplóides podem ocorrer em *V. polyanthes*, com populações possuindo $2n=32$ (presente estudo), $2n=34$ (RUAS *et al.* 1991 e presente estudo) e $2n=36$ (COLEMAN 1968) (Tabela IV).

Segundo JONES (1979b) e RUAS *et al.* (1991), as *Vernonieae* do Novo Mundo, em contraste com as do Velho Mundo, mostram grande diversidade de número cromossômico e alta proporção de espécies poliplóides. JONES (1979b) propôs $x=17$ como número básico para espécies de *Vernonia* do Novo Mundo, considerando o número $x=16$ pouco freqüente ou duvidoso. Entretanto, de acordo com outros relatos (RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1998; DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 2000; OLIVEIRA *et al.*, em preparação a) e com o presente estudo, números cromossômicos múltiplos de 16 são relativamente freqüentes em espécies de *Vernonia* da América do Sul.

No presente estudo, a análise dos cromossomos revela, como uma das principais diferenças entre as espécies, a fórmula cariotípica, incluindo números cromossômicos distintos e tamanho total de cromatina (CTC) bastante diferentes; apenas a forma dos cromossomos e o índice de assimetria TF% foram relativamente semelhantes (Tabela II).

A amplitude de variação de tamanho cromossômico obtida no presente trabalho é maior (1,2 a 4,9 μ m) do que a apresentada por DEMATTEIS & FERNÁNDEZ

(2000), variando de 1,43 μ m em *V. lilacina* a 2,08 μ m em *V. áurea*. Vale ressaltar que, o pré-tratamento utilizado, pelos autores e no presente estudo, foi o mesmo. Também pode-se constatar que a amplitude de variação é maior do que a relatada por OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1) para as espécies da subseção *Axilliflorae* da seção *Lepidaploa*, à exceção de *V. geminata* e *V. adamantium*, cujos maiores cromossomos atingem 4,6 e 3,3 μ m, respectivamente. Apesar disso, pode-se perceber, nos ideogramas (Figura 1) e nas fotomicrografias (Figura 3), que a amplitude de variação é bastante semelhante entre as diferentes espécies, exceto *V. buddleiaefolia*. Esta espécie apresenta cromossomos maiores que as demais (2,0 a 4,9 μ m).

O tamanho total da cromatina (CTC) exibiu grande amplitude de variação entre as espécies estudadas (31,3 a 50,7). Apesar de *V. buddleiaefolia* possuir apenas 2n=32 cromossomos, foi a espécie que apresentou maior CTC (50,7), devido principalmente à diferença de cromossomos grandes (2,0 a 4,9 μ m), enquanto que, a espécie com menor CTC foi *V. polyanthes* pop.2 (31,3 μ m), com 2n=34, provavelmente por apresentar cromossomos pequenos (1,2 a 3,1 μ m).

No presente trabalho, todas as espécies analisadas apresentam cromossomos metacêntricos e submetacêntricos, porém em diferentes proporções (Tabela III) e, os cromossomos submetacêntricos foram os que apresentaram menor tamanho (C e D), à exceção de *V. buddleiaefolia* e *V. simplex* em que também foram observados cromossomos um pouco maiores (B) (tabela III). Os cromossomos, em sua maioria, metacêntricos, concordam com os dados

avaliados em literatura para a tribo Vernonieae (RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1996, 1998; DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998, 2000).

DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (2000) estudaram nove espécies de *Vernonia* sulamericanas relatando cromossomos metacêntricos e submetacêntricos; houve duas exceções, *V. lilacina* e *V. polyphylla*, que apresentaram dois pares de cromossomos subtelocêntricos.

Com relação aos índices de assimetria intracromossômica (A_1) e intercromossômica (A_2), que são utilizados preferencialmente quando não existem grandes diferenças de tamanho e morfologia cromossômica, observou-se grande semelhança entre as espécies analisadas (Tabela II, Figura 2). Os índices de assimetria A_1 são muito próximos (0,14 a 0,22), os índices A_2 aqui obtidos mostram uma variação um pouco menor (0,15 a 0,19). No presente estudo, a espécie que apresentou cariótipo mais simétrico foi *V. polyanthes* pop.1 por apresentar os menores valores de índices A_1 (0,14) e A_2 (0,15) (Figura 2). Os resultados obtidos no presente estudo são mais homogêneos que os obtidos por DEMATTEIS (2000): a espécie mais assimétrica foi *V. polyphylla*, apresentado valores de índices A_1 e A_2 iguais a 0,285 e 0,210, respectivamente. Já em relação às espécies da subseção *Axilliflorae*, estudadas por OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1), a amplitude de variação de A_1 (0,13 a 0,22) e de A_2 (0,14 a 0,19) foi semelhante à das espécies estudadas no presente trabalho, à exceção de *V. geminata*, que apresentou o cariótipo mais assimétrico ($A_1=0,25$ e $A_2=0,21$).

Segundo RUAS *et al.* (1991), DEMATTEIS (1996, 1997) e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998), espécies mais primitivas ($x=10$, $x=17$) possuem cromossomos maiores do que as mais derivadas ($x=14$, 15). Espécies com número

cromossômico básico $x=17$ apresentaram tamanho cromossômico variando entre 1,9 a $2\mu\text{m}$, enquanto espécies com $x=14$ ou $x=15$ apresentaram tamanho cromossômico variando entre 1,3 a $1,4\mu\text{m}$ (DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998). Aparentemente, os resultados obtidos no presente estudo não concordam com os obtidos por DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998). A espécie *V. tweediana* ($2n=34$) foi a que apresentou menor tamanho cromossômico (1,2 a $3,0\mu\text{m}$), enquanto que em *V. buddleiaefolia* ($2n=32$) observou-se maior tamanho cromossômico (2,0 a $4,9\mu\text{m}$).

Um fato que merece maiores investigações é a diferença entre os cariótipos das três populações de *V. polyanthes* aqui analisadas (Tabela II), apesar da padronização nos procedimentos de técnica nas preparações cromossômicas. Como já mencionado, para *V. polyanthes*, há algumas diferenças na fórmula cariotípica geral, envolvendo número cromossômico, tamanho e forma dos cromossomos, incluindo a localização de constrições secundárias. As populações 2 e 3 ($2n=34$) possuem cariótipos e ideogramas muito parecidos, sendo que a diferença está na população 3, onde não foi possível localizar a constrição secundária com a técnica de coloração convencional (Figura 1). A população 1 ($2n=32$) difere das populações 2 e 3 principalmente no número ($2n=34$) e fórmula cariotípica (Figura 1, Tabela II e III). Os cromossomos são literalmente maiores, sendo que a principal diferença consiste na proporção de cromossomos submetacêntricos de tamanho intermediário, do tipo C (Tabela III): há apenas um par deste tipo nesta população, enquanto nas populações 2 e 3 foram observados três. OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1) discutiram possíveis explicações para a variação cariotípica em populações de *V. remotiflora*.

Os resultados obtidos até o momento, para algumas subseções da seção *Lepidaploa* do gênero *Vernonia*, ainda não possibilitam a discussão citotaxonômica do grupo de forma conclusiva. Isso ocorre devido à falta de um padrão cariotípico característico para as espécies enquadradas em cada um dos diferentes grupos taxonômicos, tanto considerando a proposta de BAKER (1873) como a de ROBINSON (1999a). Além disso, ainda é pequeno o número de espécies analisadas. Entretanto, até o momento, parece existir uma tênue relação entre os números cromossômicos obtidos no presente trabalho e na literatura com a conceituação de ROBINSON (1999a) para os gêneros *Lessingianthus*, *Vernonanthura* e *Chrysolaena*, considerados a partir do desmembramento de *Vernonia sensu* BAKER (1873). ROBINSON (1999a) incluiu algumas espécies pertencentes às subseções *Scorpioideae* e *Oligocephalae sensu* BAKER (1873) no gênero *Chrysolaena*, sendo que a maioria apresenta número básico $x=10$. A maioria das espécies pertencentes à subseção *Macrocephalae sensu* BAKER (1873), transferidas para o gênero *Lessingianthus* por ROBINSON (1999a), apresentou número cromossômico básico $x=16$. Por outro lado, a maioria das espécies pertencentes à subseção *Paniculatae sensu* BAKER (1873), transferidas para o gênero *Vernonanthura* por ROBINSON (1999a), apresentou número cromossômico básico $x=17$.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de estudos de Vanessa Mancuso de Oliveira e financiamento deste trabalho (#02/11805-5).

Referências Bibliográficas

- BAKER, J.G. 1873. Compositae I. Vernoniaeae: In Martius, C.F & Eichler, A.G. (eds.). 6(2). *Flora brasiliensis*. Lipsiae, Monachii. pp 180.
- BENTHAM, G. 1873a. Compositae: In: G. Bentham & J.D. Hooker (eds.) *Genera Plantarum*. London, Lovell Reeve 2: 163-533.
- BENTHAM, G. 1873b. Notes of the classification history, and geographical distribution of the Compositae. *Jour. Linn. Soc. Bot.* 13: 355-577.
- BERNARDELLO, L.M. (1986). Números cromosômicos en Asteraceae de Córdoba. *Darwiniana* 27: 169-178.
- BOLKHOVISKIKH, Z.; GRIF, V.; MATVEJEVA, T.; ZAKHARYEVA, H.V. 1969. *Chromosome number of flowering plants*. V.L. Komarov Botanical Institute. Academy of Sciences of the USSR, Moscou.
- CABRERA, A.L. 1944. Vernoniaeae argentinas (Compositae). *Darwiniana* 6 (3): 265-379.
- COLEMAN, J.R. 1968. Chromosome numbers in Brazilian Compositae. *Rhodora* 70: 228-379.
- COLEMAN, J.R. 1970. Additional chromosome numbers in Brazilian Compositae. *Rhodora* 72: 789-794.
- COVAS, G. & HUNZIKER, J. 1954. Estudios cariologicos en Antófitas IV parte. *Revista Invest. Agric.* 8: 249-253.
- DARLINGTON, C.; WYLIE, A.P. 1955. *Chromosome Atlas of Flowering Plants*. 2º edição. George Allen & Unwin LTD, Ruskin House Museum Street, London.
- DEMATTEIS, M. 1996. Estúdios cromosomicos en especies Argentinas de *Vernonia* (Asteraceae). *Bonplantia* 9(1-2): 103-110.

- DEMATTEIS, M. 1997. Números cromosómicos y cariotipos de algunas especies de *Vernonia* (Asteraceae). *Bol. Soc. Argent. Bot.* 33(1-2): 85-90.
- DEMATTEIS, M. 1998. Chromosome studies of some *Vernonia* species. (Asteraceae). *Genetics and Molecular Biology* 21: 381-385.
- DEMATTEIS, M. 2002. Cytotaxonomic analysis of South American species of *Vernonia* (Vernonieae: Asteraceae). *Bot. Linn. Soc.*, 139: 401-108.
- DEMATTEIS, M. & FERNÁNDEZ, A. 1998. karyotypes of seven South American species of *Vernonia* (Asteraceae). *Cytologia* 63: 323-328.
- DEMATTEIS, M. & FERNÁNDEZ, A. 2000. Chromosomes studies on nine South American species of *Vernonia* (Vernonieae, Asteraceae). *Caryologia* 53(1): 61.
- FAVARGER, C. 1978. Philosophie dès comptages de shromosomes. *Taxon* 27(5-6): 441-448.
- GALIANO, N.G. & HUNZIKER, J.H. 1987. Estudios cariologicos em Compositae. IV. Vernonieae Y Eupatorieae. *Darwianiana*, 28: 1-8.
- GILL, L.S. 1978. Karyotype of *Vernonia aemulans* Vatke (Compositae). *Adansonia* 18: 375-376.
- GOLDBLATT, P. 1981. Index to plant chromosome numbers 1975-1978. *Monographs in systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V5. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1984. Index to plant chromosome numbers 1979-1981. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V8. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1985. Index to plant chromosome numbers 1982-1983. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V13. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1988. Index to plant chromosome numbers 1984-1985. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V23. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1990. Index to plant chromosome numbers 1986-1987. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V30. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1991. Index to plant chromosome numbers 1988-1989. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V40. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.

- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1996. Index to plant chromosome numbers 1992-1993. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V58. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1998. Index to plant chromosome numbers 1994-1995. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V69. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GUERRA, M. 1983. O uso de Giemsa em citogenética vegetal – comparação entre a coloração simples e o bandamento. *Ciência e cultura*, 35: 190-193.
- GUERRA, M. 1986. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan *et al.* *Rev. Brasil. Genet.* IX, 4: 741-743.
- GUERRA, M. 1988. *Introdução à citogenética Geral*. Rio de Janeiro. Editora Guanabara.
- 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.
- HIND, D.J.N. 1993. Notes of Compositae of Bahia, Brazil: I. *Kew Bulltein* 48: 245-277.
- HUNTER, G.E. 1964. Chromosome numbers in *Vernonia*: section Lepidaploa: subsection Paniculatae verae. *Southwest. Nat.* 9: 239-244.
- HUZIWARA Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosomes of *Aster*. *Amer. Jour. Bot.*, 49: 116-119.
- JONES, S.B. 1972. Hibridization of *Vernonia acaulis* and *V. novaboracencis* (Compositae) in the piedmont of North Carolina. *Castanea* 37: 244
- JONES, S.B. 1973. Revision of *Vernonia* section *Eremosis* (Compositae) in North America. *Brittonia* 25(2): 86-115.
- JONES, S.B. 1977. Vernonieae – systematic review. In: Heywood VH, Harbone JB, Turner BL, eds. *The biology and chemistry of the Compositae*, Vol. I, pp. 503-521. London: American Press.
- JONES, S.B. 1979a. Synopsis and pollen morphology of *Vernonia* (Compositae: Vernonieae) in the New World. *Rhodora* 81: 425-447.
- JONES, S.B. 1979b. Chromosome numbers of Vernonieae (Compositae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 106: 79-86.

- JONES, S.B. 1981. Synoptic classification and pollen morphology of *Vernonia* (Compositae: Vernonieae) in the Old World. *Rhodora* 83: 59-75.
- JONES, S.B. 1982. In: Lovë A, ed. IOPB chromosome number report LXXIV. *Taxon* 31: 126-127.
- LOMBELLO, R.A. & FORNI-MARTINS, E.R. 1998. Chromosomal studies and evolution in Sapindaceae. *Caryologia* 51 (1): 81-93.
- MANSANARES, M.E, FORNI-MARTINS, E.R., SEMIR, J. 2002. Chromosome numbers in the genus *Lychnophora* Mart. (Lychnophorinae, Vernonieae, Asteraceae). *Caryologia* 55(4) 367-374.
- MATHEW, A. & MATHEW, P.M. 1982. Studies on South Indian Compositae II. Cytology of the genus *Vernonia* Schreb. *Cytologia* 47: 163-169.
- MOORE, R.J. (eds) 1973. Index to plant chromosome numbers 1967 – 1971. *Regnum veg.* 90: 1-539.
- MOORE, R.J. (eds) 1974. Index to plant chromosome numbers 1972. *Regnum veg.* 91: 1-108.
- MOORE, R.J. (eds) 1977. Index to plant chromosome numbers 1973 – 1974. *Regnum veg.* 96: 1-257.
- MORAWETZ, W. 1984. Kariological races and ecology of the brazilian *Duguetia furfuracea* as compared with *Xylopia aromatica* (Annonaceae). *Flora* 175: 195-209.
- OLIVEIRA, V.M., FORNI-MARTINS, E.R. & SEMIR, J. 2005. Estudos citotaxonômicos em espécies de *Vernonia*, seção *Lepidaploa*, subseção *Axilliflorae* (Asteraceae: Vernonieae). (em preparação 1).
- ROBINSON, H. 1987a. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), III: two new genera, *Cyrtucymura* and *Eirmocephala*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 844-855.
- ROBINSON, H. 1987b. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), the genus *Stenocephalum* Sch. Bip. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 578-583.
- ROBINSON, H. 1987c. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), a new genus *Echinocoryne*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100: 584-589.
- ROBINSON, H. 1988a. A new combination of *Vernonia libertadensis*. S.B. Jones, with notes and descriptions of additional Andean species of *Baccharis*. *Phytologia* 65: 34-46.

- ROBINSON, H. 1988b. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae) IV. The new genus *Lessinglanthus*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100 (4): 929-951.
- ROBINSON, H. 1988c. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae) V. The new genus *Chryso-laena*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100 (4): 952-958.
- ROBINSON, H. 1990a. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), VII: the genus *Lepidaploa*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 103: 248-253.
- ROBINSON, H. 1990b. Six combinations in *Baccharoides* Moench and *Cyanthillium* Blume. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 103: 248-253.
- ROBINSON, H. 1992a. A new genus *Vernonanthura* (Vernonieae: Asteraceae) *Phytologia* 73: 65-76.
- ROBINSON, H. 1992b. *Mesanthopora*, a new genus of Vernonieae (Asteraceae) from Paraguay. *Novon* 2: 169-172.
- ROBINSON, H. 1993a. Three new genera of Vernonieae from South America, *Dasyandantha*, *Dasyandanthina* and *Quechualia* (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 106 (4): 775-785.
- ROBINSON, H. 1993b. A review of the genus *Critoniopsis* in Central and South America (Vernonieae: Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 106 (3): 606-627.
- ROBINSON, H. 1994. *Cololobus*, *Pseudopiptocarpha* and *Trepadonia*, three new genera from South America (Vernonieae: Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 107 (3): 557-568.
- ROBINSON, H. 1996a. The status of generic and subtribal revisions in the Vernonieae. In: Hind, D.J.N. & Beentje, H.J. (eds.). 1996. *Compositae: Systematics*. Kew, Whitestable Litho Printers Ltd., 1: 511-529.
- ROBINSON, H. 1999a. Generic and subtribal classification of American Vernonieae. *Smithonian Contributions to Botany* 89: 1-116.
- ROBINSON, H. 1999b. Two new subtribes, Stokessinae and Pacourinae, of the Vernonieae (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 112(1): 216-219.
- RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; VIEIRA, O.S.; MATZENBACHER, N.I. & MARTINS, N.S. 1991. Cytogenetics of genus *Vernonia* Schreber (Compositae). *Cytologia* 56: 239-247.
- STACE, C.A. 1989. *Plant Taxonomy and Biosystematics*. 2 edition. New York, Cambridge University Press.

- STUTTS, J.G. 1981. Taxonomic revision of *Pollalesta* H.B.K. (Compositae: Vernonieae). *Rhodora* 83: 385-419.
- STUTTS, J.G. 1988. Taxonomic revision of *Vernonieae* Subsect. *Chamaedryx* (Compositae: Vernonieae). *Rhodora* 90: 37-99.
- TURNER, B.L. 1981. New species and combinations in *Vernonia* sections *Leiboldia* and *Lepidonia* (Asteraceae), with a revisional conspectus of the groups. *Brittonia* 33: 401-412.
- ZARCO, C.R. 1986. A new method for estimating karyotype asymetry. *Taxon*. 35(3): 526-530.

Tabela I – Espécies de *Vernonia* analisadas, com respectivas localidades, habitats e material-testemunho. Subseções de acordo com BAKER (1873). C – cerrado, CR – campo rupestre.

ESPÉCIE	LOCAL DE COLETA	HABITAT	NÚMERO DO COLETOR
Subseção <i>Macrocephalae</i> Benth.			
<i>V. buddleiaefolia</i> Mart. ex DC.	GO, Parque Nacional das Emas	C	MA Batalha 2757
<i>V. onoporoides</i> Baker	SP, Assis	C	VM Oliveira 49
<i>V. tomentella</i> Mart. ex DC.	MG, Diamantina	CR	ME Mansanares 413
Subseção <i>Oligocephalae</i> Benth.			
<i>V. simplex</i> Less.	MG, Ouro Branco	CR	IR Costa 555
Subseção <i>Paniculatae</i> Benth.			
<i>V. polyanthes</i> Less. – pop. 1	SP, Campinas	C	VM Oliveira 55
<i>V. polyanthes</i> Less. – pop 2	SP, Mogi Guaçu	C	VM Oliveira 11
<i>V. polyanthes</i> Less. – pop 3	SP, Analândia	C	VM Oliveira 79
<i>V. shwenkiaefolia</i> Mart. in DC.	MG, Diamantina	CR	ME Mansanares 387
Subseção <i>Scorpioideae</i> Benth.			
<i>V. tweediana</i> Baker	SP, Campinas	C	VM Oliveira 30

Tabela II – Espécies de *Vernonia* estudadas, número cromossômico, fórmula cariotípica (m=metacêntrico, sm=submetacêntrico), variação de tamanho cromossômico, comprimento total de cromatina (CTC), índice de assimetria (TF%), índice de assimetria intracromossômica (A1) e índice de assimetria intercromossômica (A2). Subseções de acordo com BAKER (1873).

ESPÉCIE	2n	VARIAÇÃO DE TAMANHO (µm)	CTC	TF%	A1	A2
Subseção <i>Macrocephalae</i> Benth.						
<i>V. buddleiaefolia</i>	32	2,0 - 4,9	50,7	43,6	0,22	0,19
<i>V. onoporoides</i>	ca. 80	-	-	-	-	-
<i>V. tomentella</i>	32	-	-	-	-	-
Subseção <i>Oligocephalae</i> Benth.						
<i>V. simplex</i>	34	1,8-3,8	44,3	44,2	0,20	0,19
Subseção <i>Paniculatae</i> Benth.						
<i>V. shwenkiaefolia</i>	34	-	-	-	-	-
Subseção <i>Scorpioideae</i> Benth.						
<i>V. polyanthes</i> – pop. 1	32	1,4 – 3,4	40,7	44,4	0,14	0,15
<i>V. polyanthes</i> – pop. 2	34	1,2 – 3,1	31,3	42,5	0,20	0,19
<i>V. polyanthes</i> – pop. 3	34	1,4 – 3,3	32,0	42,3	0,21	0,19
<i>V. tweediana</i>	34	1,2 - 3,0	33,3	44,0	0,20	0,18

Tabela III – Fórmulas cariotípicas das espécies de *Vernonia* estudadas. Posição do centrômero: m=mediana, sm=submediana. Comprimento cromossômico: A – entre 4,6 e 3,6 μm ; B – entre 3,5 e 2,6 μm ; C – entre 2,5 e 1,6 μm ; D – entre 1,5 e 0,9 μm .

ESPÉCIE	FÓRMULA CARIOTÍPICA
<i>V. buddleiaefolia</i>	6m(A)+3m(B)+5m(C)+1sm(B)+1sm(C)
<i>V. onoporoides</i>	-
<i>V. polyanthes</i> – pop. 1	6m(B)+8m(C)+1sm(C)+1sm(D)
<i>V. polyanthes</i> – pop. 2	1m(B)+8m(C)+4m(D)+3sm(C)+1sm(D)
<i>V. polyanthes</i> – pop. 3	1m(B)+8m(C)+4m(D)+3sm(C)+1sm(D)
<i>V. simplex</i>	1m(A)+6m(B)+9m(C)+1sm(B)
<i>V. tweediana</i>	2m(B)+3m(C)+10m(D)+2sm(C)
<i>V. tomentella</i>	-

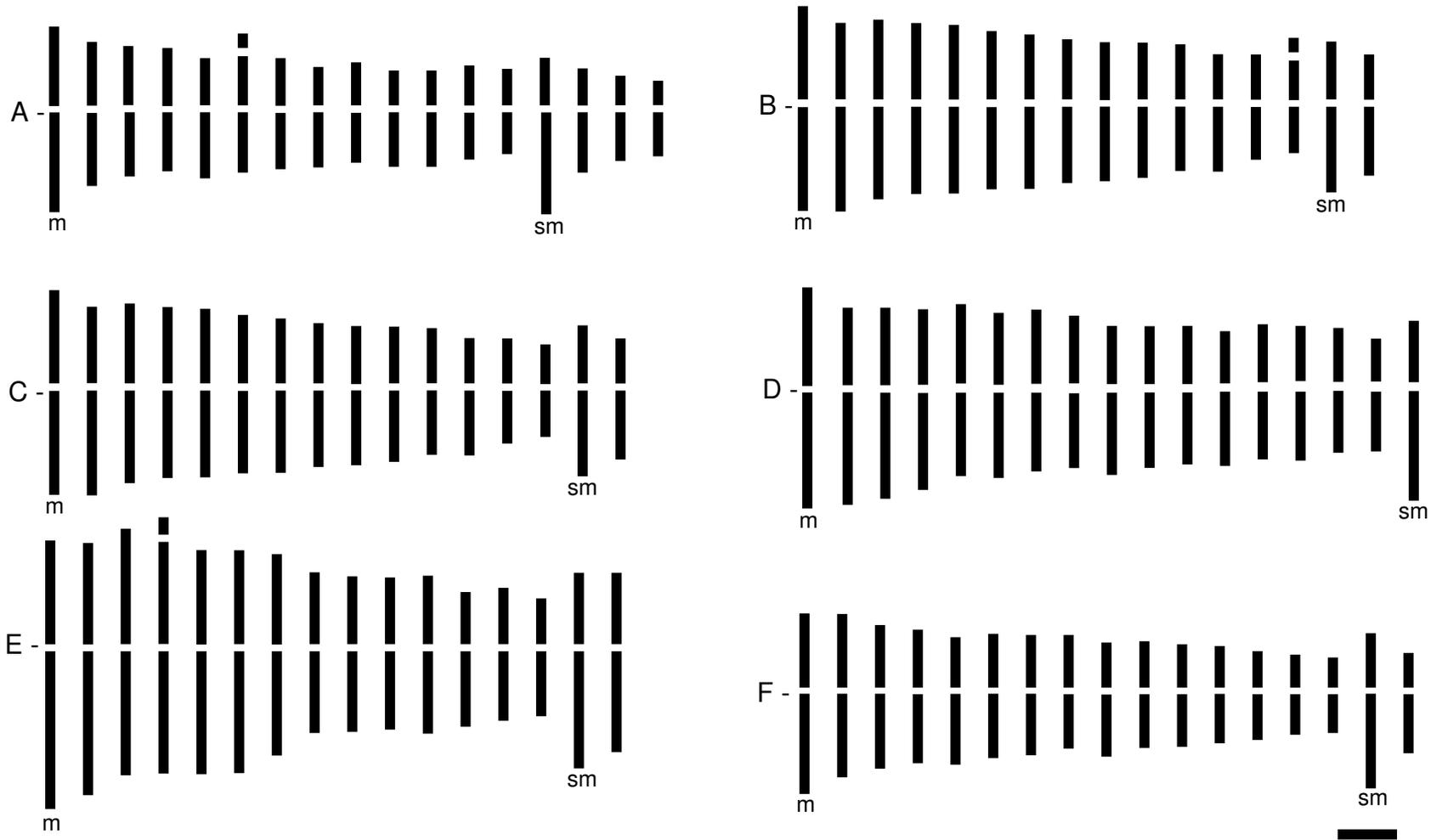


Figura 1 – Ideogramas de espécies de *Vernonia* pertencentes às subseções *Scorpioideae* (A a D), *Macrocephalae* (E) e *Oligocephalae* (F). A – *V. polyanthes* pop. 2 ($2n=34$), B – *V. polyanthes* pop. 1 ($2n=32$), C – *V. polyanthes* pop.3 ($2n=34$), D – *V. tweediana* ($2n=34$), E - *V. buddleiaefolia* ($2n=32$) e F – *V. simplex* ($2n=34$). m= metacêntrico, sm=submetacêntrico. Barra = $1\mu\text{m}$.

Assimetria Cariotípica

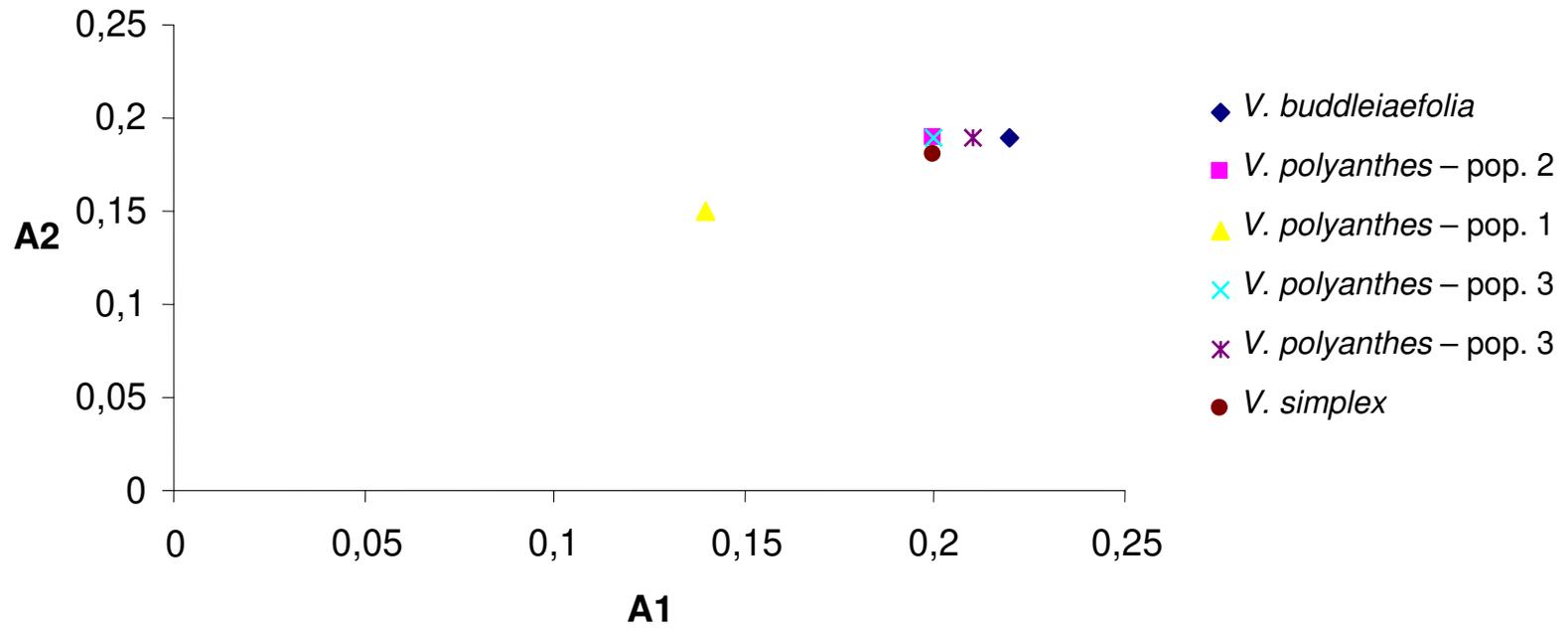


Figura 2 – Dispersão cariotípica para as espécies de *Vernonia* estudadas. A₁ = assimetria cariotípica intracromossômica e

A₂ = assimetria cariotípica intercromossômica.

Tabela IV – Espécies de *Vernonia*, pertencentes à seção *Lepidaploa*, agrupadas de acordo com as subseções segundo BAKER (1873) e Bentham (1873), gêneros *sensu* ROBINSON (1999a), número cromossômico e referência bibliográfica.

ESPÉCIES	GÊNERO <i>SENSU</i> ROBINSON	n	2n	AUTOR
<i>Axilliflorae</i>				
<i>V. adamantium</i> Gardn.	<i>Lepidaploa</i>	-	40	OLIVEIRA <i>et al.</i> (em preparação1)
<i>V. aurea</i> Mart.	<i>Lepidaploa</i>	17	-	JONES (1982)
		-	32	DEMATTEIS (2002)
<i>V. chalybae</i> Mart. ex DC.	<i>Lepidaploa</i>	-	32	DEMATTEIS (2002)
<i>V. chamissonis</i> Less.	<i>Lepidaploa</i>	-	30	OLIVEIRA <i>et al.</i> (em preparação1)
<i>V. cotoneaster</i> (Willd. ex Spreng) Less.	<i>Lepidaploa</i>	-	32	OLIVEIRA <i>et al.</i> (em preparação1)
		-	30	DEMATTEIS (1998)
<i>V. fruticulosa</i> Mart. ex DC.	<i>Lepidaploa</i>	-	32	OLIVEIRA <i>et al.</i> (em preparação1)
<i>V. geminata</i> HBK	<i>Lepidaploa</i>		20	OLIVEIRA <i>et al.</i> (em preparação1)
<i>V. glabrata</i> Less.	<i>Lessingianthus</i>	17, 17+B	51, ca. 52, 67-68	JONES (1979b)
<i>V. polyphylla</i> Sch.-Bip. ex Baker	<i>Lessingianthus</i>	-	64	RUAS <i>et al.</i> 1991
		-	64	DEMATTEIS (2002)
<i>V. remotiflora</i> L.C. Rich	<i>Lepidaploa</i>	14	28	DEMATTEIS (2002), OLIVEIRA <i>et al.</i> (em preparação1)
<i>V. riedelli</i> Sch. Bip. ex Baker	<i>Lepidaploa</i>	-	36	OLIVEIRA <i>et al.</i> (em preparação1)
<i>V. trinitatis</i> Ekman	<i>Lepidaploa</i>		102	KEELEY (1978)
<i>V. sericea</i> Richard	<i>Lepidaploa</i>	17	-	KEELEY (1978)
<i>Glomeratae</i>				
<i>V. chamaedrys</i> Less.	<i>Vernonanthura</i>	-	34	STTUTS <i>et al.</i> (1988)
		17	34	DEMATTEIS (2002)

<i>V. oligolepis</i> Schultz-Bip.	<i>Vernonanthura</i>	-	34	STTUTS <i>et al.</i> (1988) , ZHAO & TURNER (1993)
		17	-	DEMATTEIS (2002)
Macrocephalae				
<i>V. bardanoides</i> Less.	<i>Lessingianthus</i>	17, 34	-	JONES (1979b)
<i>V. brevifolia</i> Less.	<i>Lessingianthus</i>	16	32	DEMATTEIS (2002)
<i>V. buddleiaefolia</i> Mart. ex DC	<i>Lessingianthus</i>	-	32	Este trabalho
<i>V. dura</i> Mart. ex. DC.	<i>Lessingianthus</i>	-	32	DEMATTEIS (2002)
<i>V. heringeri</i> H. Rob.	<i>Lessingianthus</i>	-	32	DEMATTEIS (2002)
<i>V. hystricosa</i> Cabrera <i>et</i> Dematteis	<i>Lessingianthus</i>	-	128	DEMATTEIS (2002)
<i>V. hovaelifolia</i> Gardn.	<i>Lessingianthus</i>	-	64	DEMATTEIS (2002)
<i>V. lithospermifolia</i> Hieron	<i>Lessingianthus</i>	10	20	DEMATTEIS (1998)
<i>V. obtusata</i> Less.	<i>Lessingianthus</i>	-	64	DEMATTEIS (2002)
<i>V. onoporoides</i> Baker	<i>Lessingianthus</i>	-	ca. 80	Este trabalho
<i>V. pseudoincana</i> (Hieron.) Cabrera	<i>Lessingianthus</i>	-	32	DEMATTEIS (2002)
<i>V. rubricaulis</i> Humb. <i>et</i> Bonpl. var. <i>rubricaulis</i>	<i>Lessingianthus</i>	16	32	DEMATTEIS (2002)
<i>V. rubricaulis</i> Humb. <i>et</i> Bonpl. var. <i>australis</i> Hieron.	<i>Lessingianthus</i>	32	64	DEMATTEIS (2002)
<i>V. rugulosa</i> Sch. Bip. ex Baker	<i>Lessingianthus</i>	-	30	DEMATTEIS (2002)
<i>V. tomentella</i> Mart. ex DC.	<i>Lessingianthus</i>	-	32	Este trabalho
<i>V. verbascifolia</i> Less.	<i>Lessingianthus</i>	-	20	DEMATTEIS (1998)
Oligocephalae				
<i>V. mollisima</i> Hook. & Arn.	<i>Lessingianthus</i>	ca. 54	-	BERNADELLO (1986)
<i>V. pronpinqua</i> Hieron. var. <i>pronpinqua</i>	<i>Chrysolaena</i>	10	20	DEMATTEIS (2002)
<i>V. pronpinqua</i> Hieron. var. <i>canescens</i> (Chodat) Dematteis	<i>Chrysolaena</i>	10	20	DEMATTEIS (2002)
<i>V. sceptrum</i> Chodat	<i>Chrysolaena</i>	-	80	DEMATTEIS (2002)
<i>V. simplex</i> Less.	<i>Lessingianthus</i>	17	34	JONES (1982), Este trabalho

		-	40	RUAS <i>et al.</i> 1991
<i>Paniculatae</i>				
<i>V. amplexicaulis</i> R.E. Fries	<i>Vernonanthura</i>		34	DEMATTEIS (2002)
<i>V. echioides</i> Less.	<i>Vernonanthura</i>	34	-	DEMATTEIS (2002)
<i>V. ferruginea</i> Less.	<i>Vernonanthura</i>	-	34	DEMATTEIS (2002)
<i>V. fulva</i> Griseb.	<i>Vernonanthura</i>	17	34	DEMATTEIS (2002)
<i>V. incana</i> Less.	<i>Vernonanthura</i>	34	-	DEMATTEIS (2002)
<i>V. loretensis</i> Hieron.	<i>Vernonanthura</i>	17	34	DEMATTEIS (2002)
<i>V. nitidula</i> Less.	<i>Vernonanthura</i>	-	34	STTUTS <i>et al.</i> (1988)
			34	DEMATTEIS (2002)
<i>V. nudiflora</i> Less.	<i>Vernonanthura</i>	17	-	JONES (1974), BERNADELLO (1986)
		16	-	HUNTER (1964)
		16	32	COVAS & HUNZIKER (1954)
		-	34	RUAS <i>et al.</i> (1991), STTUTS <i>et al.</i> (1988)
<i>V. pinguis</i> Griseb.	<i>Vernonanthura</i>		68	DEMATTEIS (2002)
<i>V. scwenkiaefolia</i> Mart. in DC.	<i>Vernonanthura</i>		34	Este trabalho
<i>V. squamulosa</i> Hook. et Arn.	<i>Vernonanthura</i>	17	34	DEMATTEIS (2002)
<i>V. westiniana</i> Less	<i>Vernonanthura</i>	17		JONES (1979)
<i>Scorpioideae</i>				
<i>V. cognata</i> Less.	<i>Chrysolaena</i>	ca. 17, 34	-	JONES (1979b)
<i>V. flexuosa</i> Sims	<i>Chrysolaena</i>	ca. 17	-	JONES (1979b)
		ca. 30-32	-	HUNZIKER <i>et al.</i> (1990)
		-	40	RUAS <i>et al.</i> 1991
		20	40	DEMATTEIS (2002) *
<i>V. platensis</i> (Sprengel) Less.	<i>Chrysolaena</i>	-	20, 40	HUNTER (1964), CABRERA (1944)
		-	68	JONES (1982)
		10, 20	-	GALIANO & HUNZIKER 1986
		10, 20, 30	20, 40, 50, 60	DEMATTEIS (2002)
<i>V. scorpioides</i> Pers.	<i>Chrysolaena</i>	28±1	-	JONES (1970)

		17	-	JONES (1982)
		-	30	HUYNH (1965)
<i>V. argyrotrichia</i> Sch.-Bip. ex Baker	<i>Lepidaploa</i>	17	-	JONES (1979b)
<i>V. mariana</i> Mart.	<i>Vernonanthura</i>	17	-	JONES (1982)
<i>V. polyanthes</i> Less.	<i>Vernonanthura</i>	18	-	COLEMAN (1968)
		-	34	RUAS <i>et al.</i> (1991)
		-	32, 34	Este trabalho
<i>V. tweediana</i> Baker	<i>Vernonanthura</i>	9	34	JONES (1982), Este trabalho
		17	-	GALIANO & HUNZIKER (1987)

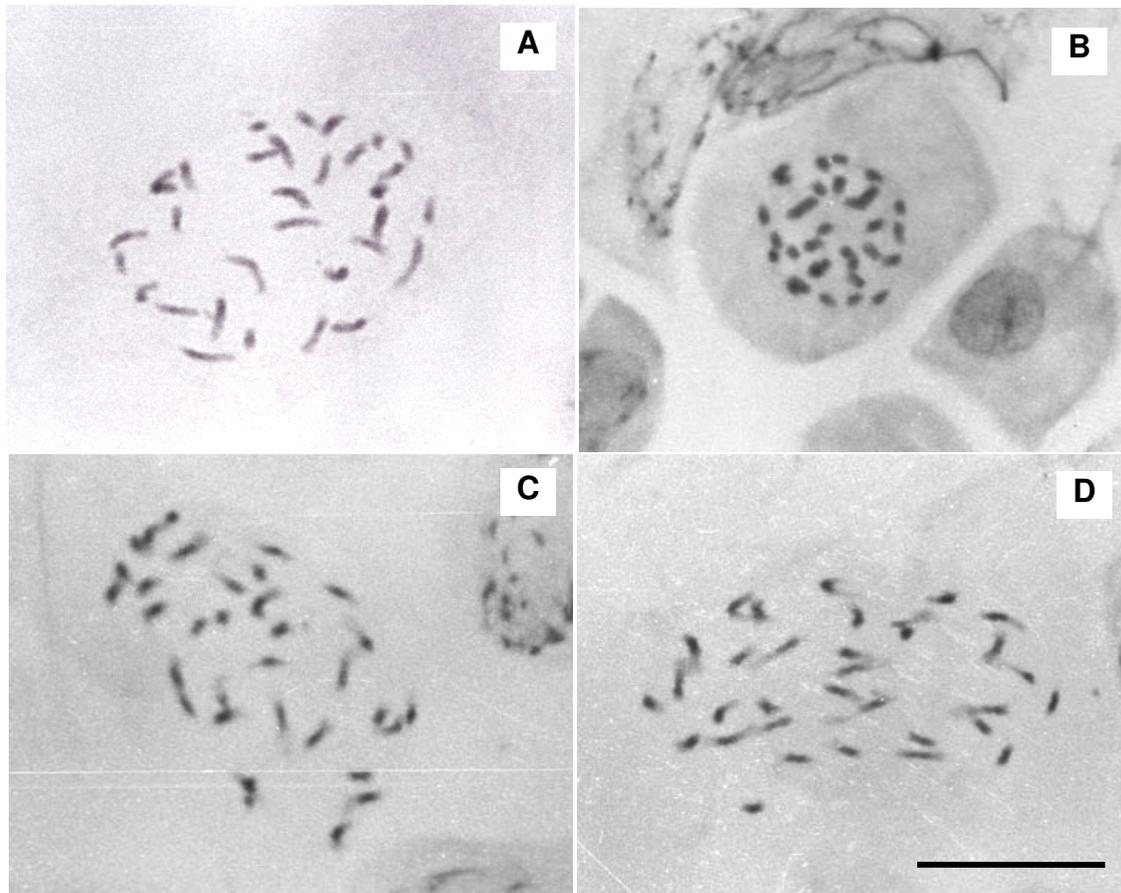


Figura 3 – Cromossomos mitóticos de espécies de *Vernonia* estudadas, pertencentes às subseções *Macrocephalae* (A e B), *Oligocephalae* (G) e *Paniculatae* (H). A – *V. buddleiaefolia* ($2n=32$), B – *V. tomentella* ($2n=32$), C – *V. simplex* ($2n=34$) e D – *V. shwenkiaefolia* ($2n=34$). Barra = $10\mu\text{m}$.

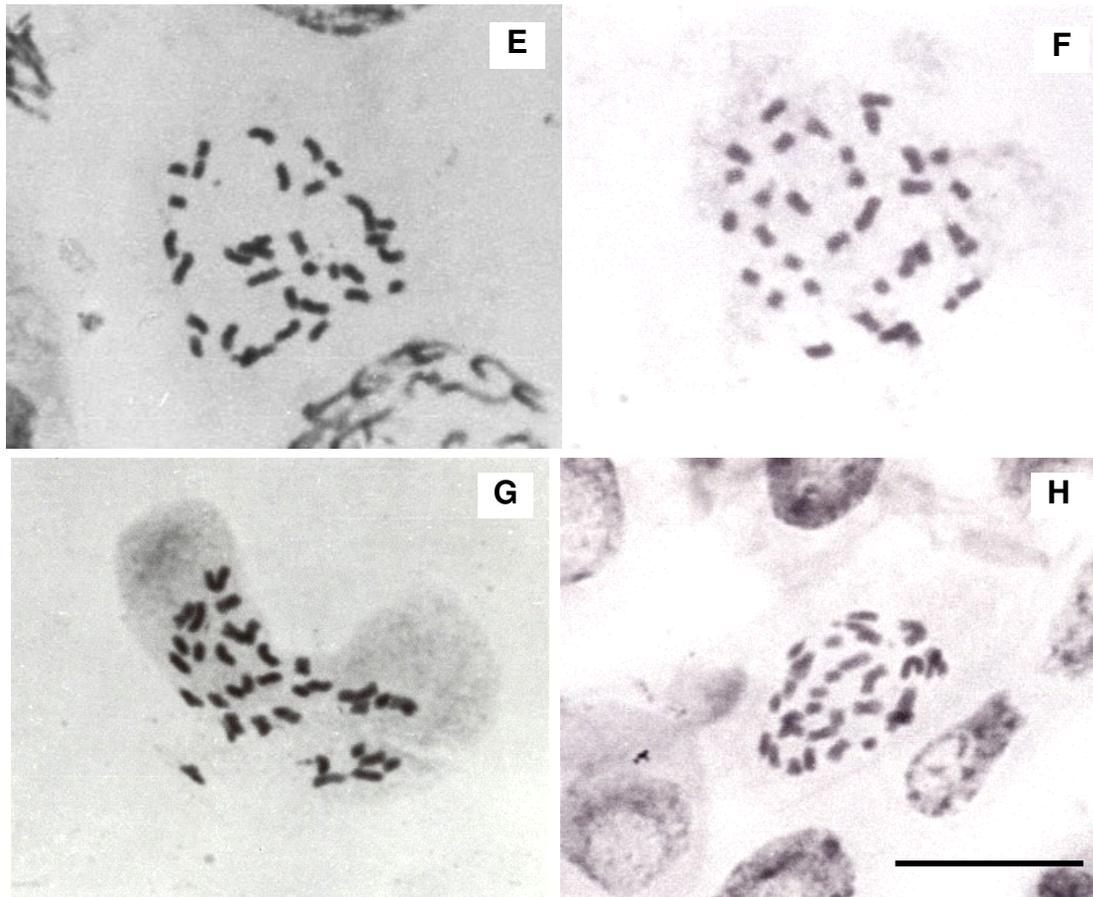


Figura 3 – Cromossomos mitóticos de espécies de *Vernonia* estudadas, pertencentes às subseções *Scorpioideae*. E - *polyanthes* pop. 1 ($2n=32$), F – *V. polyanthes* pop. 3 ($2n=34$), G – *V. tweediana* ($2n=34$), H – *V. polyanthes* pop. 2 ($2n=34$). Barra = $10\mu\text{m}$.

Caracterização cariotípica de *Vernonia geminata* (Asteraceae, Vernonieae) com técnicas de diferencial longitudinal de cromossomos (bandamento e hibridação de DNA *in situ*)”¹

Vanessa Mancuso de Oliveira^{2,3}; Eliana Regina Forni Martins³; João Semir³

Running title: Chromosome banding and FISH in *Vernonia geminata*

¹Parte da tese de Mestrado da primeira autora

²Estudante de pós-graduação em Biologia Vegetal/UNICAMP; autora para correspondência: elianafm@unicamp.br

³Departamento de Botânica, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Caixa Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP, Brasil.

Resumo

Buscando ampliar o conhecimento cariotípico e contribuir para o melhor entendimento taxonômico do gênero *Vernonia*, foram aplicados, em *V. geminata* (Asteraceae, Vernonieae), diferentes técnicas de bandamento cromossômico, incluindo-se bandamentos C, NOR e a tripla coloração com fluorocromos CMA/DA/DAPI (CDD), e a técnica de hibridação de DNA *in situ* para a seqüência de 45S de rDNA. A espécie foi coletada em área de cerrado, no município de Assis, estado de São Paulo. *V. geminata* apresentou dois pares de bandas C, sendo duas bandas terminais e duas centroméricas; um par de bandas CMA⁺ terminais, dois pares de bandas NOR, sendo duas bandas terminais e duas centroméricas. A hibridação *in situ* evidenciou dois pares de sítios de DNAr 45S, sendo dois sítios terminais e dois centroméricos. Houve coincidência de localização entre bandas C, CMA, NOR com um dos sítios de rDNA 45S. Infelizmente não há dados comparativos em outras espécies de *Vernonia*.

Introdução

Vernonia Schreb. (Asteraceae, Vernonieae) compreende pequenas ervas rosuladas escaposas até grandes árvores (STUTTS 1988), distribuídas nas regiões tropicais da Ásia, África e América (DEMATTEIS 1998). De acordo com DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998), do ponto de vista sistemático, *Vernonia* é um dos gêneros mais complexos da família Asteraceae com cerca de 1.000 espécies (JONES 1977). Segundo DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (2000), na América do Sul existem cerca de 350-400 espécies, com maior ocorrência no Brasil, Argentina, Paraguai e Bolívia. O sul do Brasil é o maior centro de diversificação do gênero (JONES 1977). Uma dessas espécies é *V. geminata*, que ocorre na América (ROBINSON 1990A, JORGENSEN & ULLOA 1994), e em região de cerrado (OLIVEIRA *et al.* em preparação a 1, IBGE 1994). É uma espécie melífera importante, sendo seu pólen detectado no mel e alimento larval da espécie de abelha *Tetragonisca angustula*, encontrada em Chiapas, México (MARTINEZ-HERNANDEZ *et al.* 1994).

A análise de cariótipos é fundamental para a caracterização citogenética de uma espécie e para examinar a variação entre seus indivíduos e/ou populações (GUERRA 1988). A comparação de cariótipos de espécies diferentes, também permite a análise taxonômica e evolutiva de um dado taxon, como um gênero. Muitas vezes, diferenças na assimetria de um cariótipo podem indicar como estes cromossomos se diversificaram quanto ao tamanho e à morfologia dentro de um grupo (GUERRA 1988). 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; DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998, 2000).

Os números cromossômicos em *Vernonia* variam entre $2n=18$ a $2n=160$ (DARLINGTON & WYLIE 1955; BOLKHOVSKIKH *et al.* 1969; MOORE 1973, 1974, 1977; GOLDBLATT 1981, 1984, 1985, 1988; GOLDBLATT & JOHNSON 1990, 1991, 1996, 1998). Citologicamente, apenas 20% das espécies foram estudadas até o momento. A cariotipagem com técnicas convencionais abrange apenas 5% das espécies de *Vernonia* e não as discrimina muito bem, devido à pequena variação de tamanho cromossômico e de posição centromérica (RUAS *et al.* 1991; DEMATTEIS 1996, 1998; DEMATTEIS & FERNÁNDEZ 1998, 2000, OLIVEIRA *et al.*, em preparação 1 e 2). Até o momento, informações cariotípicas obtidas por técnicas que promovem a diferenciação linear dos cromossomos (bandamento cromossômico e hibridação de DNA *in situ*) são inexistentes para espécies do gênero *Vernonia*.

Dentre as técnicas de bandamento, utiliza-se o bandamento C para identificar a quantidade e localização da heterocromatina constitutiva (SUMNER 1972) e coloração com fluorocromos para determinar a composição de bases da heterocromatina (SCHWEIZER 1976). O fluorocromo DAPI (4'-6 diamidino -2 fenilindol) evidencia sequências de DNA repetitivas ricas em adenina e timina (A-T), enquanto o CMA (cromomicina A3) se liga à regiões ricas em citosina e guanina (C-G). Além destas duas, pode-se utilizar coloração específica com nitrato de prata, ou bandamento AgNOR (GOODPASTURE & BLOOM 1975), para identificar nucléolos e cromossomos que possuem regiões organizadoras de nucléolo que estiveram ativas na intérfase. MAFFEI *et al.* (1999) analisaram banda C em três de 12 populações investigadas em *Mikania micrantha* (Asteraceae). Este estudo revelou que entre essas populações existe polimorfismo na distribuição de heterocromatina e mostrou que os cromossomos B

apresentam-se com o mesmo padrão heterocromático dos cromossomos do complemento normal, sugerindo uma possível origem a partir destes cromossomos. Usando a coloração específica com nitrato de prata, MOSCONE *et al.* (1995) discutiram possíveis tendências na evolução cariotípica de *Capsicum* (Solanaceae) com $x=12$ cromossomos, e consideraram que a presença de quatro NORs (regiões organizadoras do nucléolo), localizadas no primeiro par de cromossomos metacêntricos e no 12º par de cromossomos subtelo-cêntricos, em um complemento diplóide, é considerada como uma condição plesiomórfica, por ocorrerem em espécies pertencentes ao subgrupo basal (A).

A hibridação *in situ* é um método preciso para localizar sequências específicas de ácidos nucléicos (DNA ou RNA) no citoplasma, organelas, cromossomos ou núcleo de material biológico (LEITCH *et al.* 1994). As seqüências de DNA mais freqüentemente utilizadas são as de genes ribossomais (45S rDNA e 5S rDNA) e as teloméricas (WEISS-SCHNEEWEISS *et al.* 2003). Em algumas Asteraceae, como *Artemisia*, as técnicas de hibridação *in situ* e de bandamento CMA/DA/DAPI (ou CDD) são de grande valia. TORREL *et al.* (2003) observaram que, nos subgêneros *Artemisia* e *Seriphidium*, os sítios de rDNA 5S estão presentes em menor quantidade que os de 18S-5.8S-26S (45S) e que, o loci de rDNA 5S aparece, na maioria das vezes, na região terminal do cromossomo e podem ocorrer na região rica em C-G, subsidiando a não separação destes gêneros independentes.

Buscando ampliar o conhecimento cariotípico e contribuir para o melhor entendimento do gênero *Vernonia*, foram aplicadas, em *V. geminata*, diferentes técnicas de bandamento cromossômico, incluindo-se bandamentos C, NOR e a tripla coloração

com fluorocromos CMA/DA/DAPI (CDD), e a técnica de hibridação de DNA *in situ* para a seqüência de 45S de rDNA. O cariótipo convencional dessa espécie havia sido previamente apresentado por OLIVEIRA *et. al* (em preparação 1).

Material e Métodos

A espécie foi coletada em área de cerrado, no município de Assis, estado de São Paulo. Foram herborizados ramos florais e vegetativos de *Vernonia geminata*, seguindo técnicas usuais. Material testemunho (VM Oliveira 44) foi depositado no Herbário UEC (Departamento de Botânica, IB, Universidade Estadual de Campinas).

1. Preparações mitóticas:

1.1. Pré-tratamento e preparação de lâminas com digestão enzimática

Raízes recém-germinadas foram coletadas e submetidas a pré-tratamento com 8 – hidroxiquinoleína (8Hq) – solução 0,002M, por 5 horas, a 14-15°C. Em seguida, as raízes foram fixadas em solução Farmer (etanol: ácido acético/ 3:1) por 24 horas, transferidas para álcool 70% e estocadas em freezer.

Para a preparação de lâminas com digestão enzimática, as raízes foram lavadas em Tampão citrato-fosfato pH=4,8 e enxutas em papel filtro. As pontas da raiz foram digeridas em solução enzimática com 4% de celulase e 40% de pectinase, em câmara úmida, a 37°C por 2 horas. Foi feito o esmagamento das pontas de raízes entre lâmina e lamínula em uma gota de ácido acético 45%, retirando-se posteriormente a lamínula em nitrogênio líquido. As lâminas utilizadas nas técnicas de bandamento C, CCD e AgNOR foram armazenadas à temperatura ambiente por pelo menos um dia.

1.2. Bandamento C

O bandamento C foi realizado de acordo com MOSCONE *et al.* (1993). As lâminas foram mergulhadas em ácido acético 45% em banho-maria pré-aquecido a 60°C, durante 15 minutos e, depois, lavadas em água corrente. Então, as lâminas foram mergulhadas em solução saturada de hidróxido de bário à temperatura ambiente, por 5 minutos e, lavadas em água corrente novamente. As lâminas foram transferidas para um recipiente com 2xSSC pré-aquecido, em banho-maria a 60°C, durante 60 minutos. As lâminas foram novamente lavadas, secas, coradas com Giemsa 2% e finalmente montadas com resina sintética.

1.3. Bandamento CMA/DA/DAPI (CDD)

O bandamento CCD seguiu o protocolo de MOSCONE *et al.* (1996). As lâminas foram coradas primeiramente com CMA (cromomicina A3) 0,5mg/ml por 60 minutos, em seguida, as lamínulas foram retiradas e as lâminas lavadas com água destilada. Logo após, as lâminas foram coradas com DA (distamicina A) 10mg/ml por 15 minutos e lavadas novamente com água destilada. Finalmente, foram coradas com DAPI (4'-6 diamidino -2 fenilindol) 2mg/ml por 30 minutos. As lâminas foram lavadas novamente com água destilada e montadas com um meio de montagem contendo glicerol para fluorescência e tampão Mallvaine (1:1). Estas lâminas foram mantidas no escuro, à 37°C, por 3 dias, antes de serem observadas em microscópio de epifluorescência.

1.4. Bandamento NOR

O bandamento NOR foi realizado de acordo com MOSCONE *et al.* (1995). As lâminas foram mergulhadas em tampão borato (0,01M; 1 tampão: 10H₂O dd) por 10 minutos e, em seguida, lavadas com água destilada. Após isso, cada lâmina, recebeu uma gota de solução de nitrato de prata e, em cima da gota, foi colocada uma malha de nylon. As lâminas foram mantidas à 60°C durante 60 minutos e, em seguida foram mergulhadas em água destilada por 5 minutos. Após secas, as lâminas foram montadas com Entelan.

1.5. Hibridação *in situ* (FISH)

A hibridação *in situ* foi realizada de acordo com CUADRADO & JOUVE (1994), com modificações de FREGONEZI *et al.* (2004). Foi utilizado o fragmento de DNAr 45S de cerca de 12kb contendo a sequência 28S-5,8S-18S com os seus espaçadores. Este fragmento foi clonado no plasmídeo pUC18 em *E. coli*, resistente a ampicilina. O plasmídeo foi separado pela técnica da miniprep e a concentração foi medida em um fluorômetro. A marcação da sonda foi feita por nick translation (Bionick Gibco) com biotina-14dATP. Antes de iniciar a hibridação, as lâminas foram tratadas com RNase 1% (1 RNase Tipo I: 99 2xSSC) pH 7,0, à 37°C por 1 hora. As lâminas foram lavadas em 2xSSC por 10 minutos sob agitação, mergulhadas em paraformaldeído 4% por mais 10 minutos, e depois lavadas novamente com 2xSSC. As lâminas foram imersas em álcool 70% por 5 min e em álcool 100% por mais 5 min. Após as lâminas secarem, a

preparação foi coberta pela mistura de hibridização. A mistura de hibridização foi composta por formamida 100%, PEG (polietilenoglicol) 50%, 20xSSC, sonda (rDNA 45S; 100-200ng μl^{-1}), DNA de bloqueio (salmão), SDS 10% e água. Depois de acrescentada a mistura de hibridização nas lâminas, estas foram colocadas em um termociclador, sendo submetidas a três ciclos de 10min cada, às temperaturas de 90°C, 50°C e 38°C. As lâminas foram então mantidas na estufa a 37°C, em câmara úmida e no escuro, por toda a noite. Foram feitos os banhos pós-hibridação, primeiramente com 2xSSC a 42°C por 5 min, formamida 20% (20ml de formamida para 80ml de 0,1xSSC) a 42°C por 10 min, 0,1xSSC a 42°C por 5 min e outro novamente em 2xSSC a 42°C por 5 min, 4xSSC/Tween 20 0,2% a 42°C e outro com 4xSSC/Tween 20 0,2% à temperatura ambiente. Todos os banhos foram feitos sob agitação. As lâminas foram tratadas com 50 μl de BSA 5% por 5 min. Foram adicionados 50 μl da solução de detecção, contendo 1:100 de avidina-FITC, e os cromossomos foram contracorados com iodeto de propídio.

2. Análise das lâminas e elaboração dos cariótipos

A análise das lâminas foi feita em microscópio óptico (bandamentos C e AgNOR) e de epifluorescência (hibridação *in situ* e bandamento CCD). Para as fotomicrografias de bandamento C e AgNOR foi utilizado filme preto e branco, ISO 25, enquanto que, para as fotomicrografias de bandamento CCD foi utilizado filme preto e branco, ISO 100. As fotografias da hibridação *in situ* foram feitas com filme colorido Kodak Prolmage, ISO 100. Foram observadas, no mínimo, 10 células em condições adequadas de espalhamento e contração cromossômica para cada coloração.

Foi utilizado o ideograma de *V. geminata* previamente apresentado por OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1) para se indicar a localização das bandas C, CMA e DAPI e NOR, assim como de sítios de rDNA 45S. Os autores utilizaram a coloração convencional de Giemsa (GUERRA 1983) e a classificação de nomenclatura cromossômica sugerida por GUERRA (1986). No ideograma, baseado na análise de 10 metáfases mitóticas, os cromossomos foram arranjados pela forma e não pelo tamanho, seguindo os estudos anteriores de DEMATTEIS (1998) e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998), em que foram apresentados cariótipos de espécies da tribo Vernonieae.

Resultados

A espécie apresentou dois pares de bandas C, uma terminal, localizada no braço curto do quarto par de cromossomos submetacêntricos e, outra centromérica, localizada no braço curto do segundo par de cromossomos submetacêntricos (Figura 1 e 2A).

Foi observado um par de bandas CMA⁺ na região terminal do braço curto do quarto par de cromossomos submetacêntricos (Figura 1 e 2C). A espécie não apresentou bandas DAPI (DAPI neutro).

O bandamento NOR possibilitou a visualização de dois pares de bandas, uma na região terminal do braço curto do quarto par de cromossomos submetacêntricos e, outra na região centromérica do braço curto do sexto par de cromossomos metacêntricos (Figura 1 e 2E). O núcleo interfásico apresentou quatro bandas NOR.

A hibridação *in situ* evidenciou dois pares de sítios de rDNA 45S, um na região centromérica do braço curto do sexto par de cromossomos metacêntricos e, outro na região terminal do braço curto do quarto par de cromossomos submetacêntricos (Figura 1 e 2B).

Discussão

Segundo RUAS *et al.* (1991), DEMATTEIS (1996, 1998), DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998, 2000) e OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1 e 2), em *Vernonia*, a cariotipagem com técnicas convencionais não discrimina muito bem as espécies já estudadas, devido à pequena variação de tamanho cromossômico e de posição centromérica. Dentre as espécies de *Vernonia*, pertencentes à subseção *Axilliflorae*, estudadas por OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1), *V. geminata* é a que possui cariótipo mais diferenciado, por ser a única que possui $2n=20$ (padrão do grupo é $x=16$), por possuir cromossomos com maior amplitude de variação de tamanho (2,0 a 4,6 μ m) e, por apresentar maior proporção de cromossomos submetacêntricos, em relação aos metacêntricos (6m+4sm). Estudos envolvendo técnicas que promovem a diferenciação linear dos cromossomos são inexistentes para espécies do gênero, de forma que não há muitos padrões de comparação com os resultados aqui obtidos.

A coincidência entre algumas bandas e localização das mesmas no bandamento C e CMA sugere que algumas regiões de heterocromatina constitutiva em *V. geminata* são ricas em pares de base CG. Em uma revisão feita por GUERRA (2000), o autor estabelece que a técnica de bandamento C, associada à coloração com fluorocromos, foi reconhecida como sendo um método confiável para distinguir tipos de heterocromatina em plantas, apesar de algumas regiões de bandas C reagirem de forma neutra com fluorocromos. GUERRA (2000) também observou que a heterocromatina mais caracteristicamente detectada com fluorocromos foi a NOR-heterocromatina, quase sempre CMA⁺ e DAPI⁻. Os resultados obtidos no presente estudo, condizem com esse padrão, pois o quarto par de cromossomos

submetacêntricos apresentou no braço curto bandas C e CMA+ (Figura 1 e 2A,C,D), no entanto apresentou banda DAPI neutra.

Com a utilização da hibridação *in situ* para a região de rDNA 45S, uma técnica bastante confiável para o reconhecimento da NOR-heterocromatina em plantas (GUERRA 2000), foi identificada novamente a mesma na região terminal do quarto par de cromossomos submetacêntricos e na região centromérica do braço curto do sexto par de cromossomos metacêntricos, junto às bandas NOR (Figura 1 e 2B, D). De acordo com TORREL *et al.* (2003), em *Artemisia*, sítios de rDNA são sempre ricos em GC e basicamente ligados às NORs. Esse mesmo padrão também ocorre em outras plantas, como *Hypochaeris* (CERBAH *et al.* 1995), *Pinus* (DOUDRICK *et al.* 1995), *Dendranthema* (KONDO *et al.* 1996a), *Chrysanthemum* (KONDO *et al.* 1996b) e *Picea* (SILJAK-YAKOVLEV *et al.* 2002). No entanto, pode não haver sempre coincidência no número de sítios de rDNA 45S e bandas NOR, pois o bandamento NOR detecta somente as regiões ativas, que estão sendo transcritas na intérfase que antecede à divisão celular e, a hibridação *in situ*, detecta as regiões ativas e inativas (MURRAY *et al.* 1992). Em *Lathyrus sativus*, MURRAY *et al.* (1992) não encontraram relação entre o número de sinais de hibridação e o número de bandas NOR, relatando que um dos sítios detectado pela sonda estava inativo. Da mesma maneira, GALASSO *et al.* (1995) relataram em *Vigna unguiculata* que, dentre múltiplos sítios de rDNA 45S apenas os quatro maiores apresentaram marcação pelo nitrato de prata, resultado interpretado como uma inativação das NOR. SHI *et al.* (1996) relataram também que em *Glycine max* e *Phaseolus vulgaris*, na interfase, nem todos os sinais de rDNA 5S e 45S associavam-se ao nucléolo. Por outro lado, em *V. geminata* há coincidência no mesmo número de bandas NOR e de sítios de rDNA 45S. OLIVEIRA *et al.* (em preparação¹) não observaram constrições secundárias e satélites

com técnicas de coloração convencional em *V. geminata*, confirmando as limitações dessa técnica na detecção de regiões organizadoras do nucléolo, já relatados por outros autores, como BERG & GREILHUBER (1993).

A semelhança entre a região corada positivamente com CMA e o sítio de rDNA 45S (região terminal do braço curto do quarto cromossomo submetacêntrico, Figura1) demonstra que a região CMA⁺ é composta por rDNA 45S, porém nem todos os sítios de rDNA foram corados positivamente com CMA (região centromérica do braço curto do sexto par de cromossomos metacêntricos, Figura 1). TORREL *et al.* (2003) observaram, em Asteraceae, nos subgêneros *Artemisia* e *Seriphidium*, pertencentes ao gênero *Artemisia*, que os sítios de rDNA 5S estão presentes em menor quantidade que os de 18S-5.8S-26S e que, o loci de DNAr aparece, na maioria das vezes, na região terminal do cromossomo e podem ocorrer na região rica em C-G, mostrando que não há sentido dividir *Artemisia* nesses dois subgêneros.

Em um estudo realizado por GUERRA *et al.* (2000), o aspecto de bandas heterocromáticas mostrou-se útil também para identificar padrões evolutivos dentro de alguns grupos. Ao estudar o padrão de bandas heterocromáticas, em Rutaceae, subfamília Aurantioideae, os autores observaram que os gêneros mais basais dentro do grupo apresentam menores quantidades de heterocromatina do que os gêneros mais derivados. Essa tendência também foi observada em outras famílias, em gêneros, como *Sesbania* Scop. (FORNI-MARTINS & GUERRA 1999) - Leguminosae, *Capsicum* (MOSCONE *et al.* 1996) - Solanaceae e *Scilla* (GREILHUBER *et al.* 1981) - Hyacinthaceae. Segundo RUAS *et al.* (1991), DEMATTEIS (1996, 1997) e DEMATTEIS & FERNÁNDEZ (1998), em *Vernonia* espécies mais basais apresentam número cromossômico básico $x=10$ e $x=17$

e possuem cromossomos maiores (entre 1,9 e 2 μ m), enquanto que, as mais derivadas apresentam $x=14$ e 15 e, seriam um pouco menores (1,3 a 1,4 μ m). Com base nesse pressuposto, é possível inferir que *V. geminata* pode ser primitiva, já que de acordo com OLIVEIRA *et al.* (em preparação 1) a mesma também apresenta número cromossômico múltiplo de 10 ($2n=20$) e os maiores cromossomos (2,0 a 4,6 μ m) dentre as oito espécies pertencentes à subseção *Axilliflorae sensu* BAKER (1973). Entretanto, dentre as oito espécies pertencentes à subseção *Axilliflorae sensu* BAKER (1973), a espécie também foi a que apresentou cariótipo mais assimétrico, contrariando a idéia de primitividade da mesma, tendo em vista que a assimetria cariotípica seria uma condição derivada (STEBBINS 1971) *V. geminata* apresentou apenas dois pares de bandas heterocromáticas (Figura 1 e 2A), porém infelizmente não há dados comparativos em outras espécies de *Vernonia*. A impossibilidade de comparação também se aplica em relação às demais técnicas, como os bandamentos CMA, DAPI, NOR e sítios de hibridação *in situ*.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pela bolsa de estudos de Vanessa Mancuso de Oliveira e financiamento deste trabalho (#02/11805-5).

Referencias Bibliográficas

- BERG, C., GREILHUBER, J., 1993. Cold-sensitive chromosome regions and heterochromatin in *Cestrum* (Solanaceae): *C. strigillatum*, *C. fasciculatum*, and *C. elegans*. *Pl. Syst. Evol.* 185: 133-151.
- BOLKHOVISKIKH, Z.; GRIF, V.; MATVEJEVA, T.; ZAKHARYEVA, H.V. 1969. *Chromosome number of flowering plants*. V.L. Komarov Botanical Institute. Academy of Sciences of the USSR, Moscou.
- CABRERA, A.L. 1944. Vernonieae argentinas (Compositae). *Darwiniana* 6 (3): 265-379.
- CERBAH, M.; COULAUD, J.; GODELLE, B.; SILJAK-YAKOVLEV, S. 1995. Genome size, fluorochrome banding and karyotype evolution in some *Hypochaeris* (Asteraceae). *J. Hered.* 38: 689-695.
- CUADRADO, A. & JOUVE, N. 1994. Mapping and organization of highly-repeated DNA sequences by means of simultaneous and sequential FISH and C-banding in 6x-triticales. *Chromosome Research*. 2: 331-338.
- DARLINGTON, C.; WYLIE, A.P. 1955. *Chromosome Atlas of Flowering Plants*. 2º edição. George Allen & Unwin LTD, Ruskin House Museum Street, London.
- DEMATTEIS, M. & FERNÁNDEZ, A. 1998. karyotypes of seven South American species of *Vernonia* (Asteraceae). *Cytologia* 63: 323-328.
- DEMATTEIS, M. & FERNÁNDEZ, A. 2000. Chromosomes studies on nine South American species of *Vernonia* (Vernonieae, Asteraceae). *Caryologia* 53(1): 61.
- DEMATTEIS, M. 1996. Estudos cromosomicos en especies Argentinas de *Vernonia* (Asteraceae). *Bonplandia* 9(1-2): 103-110.
- DEMATTEIS, M. 1998. Chromosome studies of some *Vernonia* species. (Asteraceae). *Genetics and Molecular Biology* 21: 381-385.

- DOUDRICK, R.L., HESLOP-HARRISON, J.S., NELSON, C.D.; SCHMIDT, T.; NANCE, W.L.; SCHWARZACHER, T. 1995. karyotype of slash pine (*Pinus elliottii* var. *elliottii*) using pattern of fluorescence *in situ* hybridization and fluorochrome banding. *J. Hered.* 86: 289-296.
- FORNI-MARTINS, E.R. & GUERRA, M. 1999. Longitudinal differentiation in chromosomes of some *Sesbania* Scop. species (Fabaceae). *Caryologia* 52 (1-2): 97-103.
- FREGONEZI, J. N., TOREZAN, J. M.D. & VANZELA, A. L.L. 2004. A karyotypic study of three southern Brazilian Asteraceae species using fluorescence *in situ* hybridization with a 45S rDNA probe and C-CMA₃ banding. *Genet. Mol. Biol.* 27(2): 223-227.
- GALASSO, I.; SCHMIDT, T; PIGNONE, D.; HESLOP-HARRISON, J.S. 1995. The molecular cytogenetics of *Vigna unguiculata* (L.) Walp: the physical organization and characterization of 18S-5.8S-25S rRNA genes, 5S genes, telomere-like sequences, and a family of centromeric repetitive DNA sequences. *Theor. Appl. Gen.* 9: 928-935.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1990. Index to plant chromosome numbers 1986-1987. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V30. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1991. Index to plant chromosome numbers 1988-1989. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V40. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1996. Index to plant chromosome numbers 1992-1993. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V58. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. & JOHNSON, D.E. 1998. Index to plant chromosome numbers 1994-1995. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V69. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1981. Index to plant chromosome numbers 1975-1978. *Monographs in systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V5. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1984. Index to plant chromosome numbers 1979-1981. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V8. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOLDBLATT, P. 1985. Index to plant chromosome numbers 1982-1983. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V13. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.

- GOLDBLATT, P. 1988. Index to plant chromosome numbers 1984-1985. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden*. V23. Sant Louis, Missouri Botanical Garden.
- GOODPASTURE, C. & BLOOM, S.E. 1975. Visualization of nuclear organizer regions in mammalian chromosomes using silver staining. *Chromosoma* 53: 37-50.
- GREILHUBER, J.; DEUMLING, B.; SPETA, F. 1981. Evolutionary aspects of chromosome banding, heterochromatin, satellite DNA, and genome size in *Scilla* (Liliaceae). *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 94: 249-266.
- GUERRA, M. 1988. *Introdução à citogenética Geral*. Rio de Janeiro. Editora Guanabara.
- 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.
- IBGE. 2004. Reserva Ecológica do IBGE. Ambiente e Plantas Vasculares. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro.
- JONES, S.B. 1977. Vernonieae – systematic review. In: Heywood VH, Harbone JB, Turner BL, eds. *The biology and chemistry of the Compositae*, Vol. I, pp. 503-521. London: American Press.
- JONES, S.B. 1979a. Synopsis and pollen morphology of *Vernonia* (Compositae: Vernonieae) in the New World. *Rhodora* 81: 425-447.
- JONES, S.B. 1979b. Chromosome numbers of Vernonieae (Compositae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*. 106: 79-86.
- JORGENSEN, P. M. & C. ULLOA U. 1994. Seed plants of the high Andes of Ecuador---A checklist. *AAU Reports*. 34: 1-443.
- KONDO, K.; HONDA, Y.; TANAKA, R. 1996a. Chromosome marking in *Dendranthema japonica* var. *wakasaense* and its closely related species by fluorescence *in situ* hybridization using rDNA probe. *Kromosomo* 11-81: 2785-2791.
- KONDO, K.; KOKUBUGATA, G.; HONDA, Y. 1996b. Marking and identification of certain chromosomes in wild *Chrysanthemum* and cycads by fluorescence *in situ* hybridization. *Genet. Polon.* 37A: 24-26.
- LEITCH, A.R.; SCHWARZACHER, T.; JACKSON, D. & LEITCH, I.J. 1994. *In situ hybridization*. BIOS Scientific Publishers LTD, Oxford.
- MAFFEI, E.M.D.; MARIN-MORALES, M.A.; RUAS, P.M. 1999. Chromosomal polymorphism in 12 populations of *Mikania micrantha* (Compositae). *Genet. Mol. Biol.*, 22(3): 433-444.

- MARTÍNEZ-HERNÁNDEZ, E., CUADRIELLO-AGUILAR, J. I., RAMÍREZ ARRIAGA, E., MEDINA CAMACHO, M., SOSA-NAJERA, M.S. MELCHOR - SÁNCHEZ, J.E. 1994. Foraging of *Nannotrigona testaceicornis*, *Tetragona jaty*, *scaptotrigona pachysoma* and *Plebeia* sp. at Tacana región, Chiapas, México. *Grana*, V. 33: 205-217.
- MOORE, R.J. (eds) 1973. Index to plant chromosome numbers 1967 – 1971. *Regnum veg.* 90: 1-539.
- MOORE, R.J. (eds) 1974. Index to plant chromosome numbers 1972. *Regnum veg.* 91: 1-108.
- MOORE, R.J. (eds) 1977. Index to plant chromosome numbers 1973 – 1974. *Regnum veg.* 96: 1-257.
- MOSCONE EA, LAMBROU M, EHRENDORFER F. 1996. Fluorescent chromosome banding in the cultivated species of *Capsicum* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* 202: 37–63.
- MOSCONE EA, LAMBROU M, HUNZIKER AT, EHRENDORFER F. 1993. Giemsa C-banded karyotypes in *Capsicum* (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* 186: 213–229.
- MOSCONE EA, LOIDL J, EHRENDORFER F, HUNZIKER AT. 1995. Analysis of active nucleolus organizing regions in *Capsicum* (Solanaceae) by silver staining. *American Journal of Botany* 82: 276–287.
- MURRAY, B.G.; BENNETT, M.D.; HANMET, R.W. 1992. Secondary constrictions and NORs of *Lathyrus* investigated by silver staining and *in situ* hybridization. *Hered.* 68: 473-478.
- ROBINSON, H. 1987a. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), III: two new genera, *Cyrtucymura* and *Eirmocephala*. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 100: 844-855.
- ROBINSON, H. 1987b. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), the genus *Stenocephalum* Sch. Bip. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 100: 578-583.
- ROBINSON, H. 1987c. Studies of the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), a new genus *Echinocoryne*. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 100: 584-589.
- ROBINSON, H. 1988a. A new combination of *Vernonia libertadensis*. S.B. Jones, with notes and descriptions of additional Andean species of *Baccharis*. *Phytologia*, 65: 34-46.
- ROBINSON, H. 1988b. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae) IV. The new genus *Lessinglanthus*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100 (4): 929-951.

- ROBINSON, H. 1988c. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae) V. The new genus *Chrysoaena*. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 100 (4): 952-958..
- ROBINSON, H. 1990a. Studies in the *Lepidaploa* complex (Vernonieae: Asteraceae), VII: the genus *Lepidaploa*. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 103: 248-253.
- ROBINSON, H. 1990b. Six combinations in *Baccharoides* Moench and *Cyanthillium* Blume. *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 103: 248-253.
- ROBINSON, H. 1992a. A new genus *Vernonanthura* (Vernonieae: Asteraceae) *Phytologia* 73: 65-76.
- ROBINSON, H. 1992b. *Mesanthopora*, a new genus of Vernonieae (Asteraceae) from Paraguay. *Novon*, 2: 169-172.
- ROBINSON, H. 1993a. Three new genera of Vernonieae from South America, *Dasyandantha*, *Dasyandanthina* and *Quechualia* (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 106 (4): 775-785.
- ROBINSON, H. 1993b. A review of the genus *Critoniopsis* in Central and South America (Vernonieae: Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 106 (3): 606-627.
- ROBINSON, H. 1994. *Cololobus*, *Pseudopiptocarpha* and *Trepadonia*, three new genera from South America (Vernonieae: Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.* 107 (3): 557-568..
- ROBINSON, H. 1996a. The status of generic and subtribal revisions in the Vernonieae. In: Hind, D.J.N. & Beentje, H.J. (eds.). 1996. *Compositae: Systematics*. Kew, Whitestable Litho Printers Ltd., 1: 511-529.
- ROBINSON, H. 1999a. Generic and subtribal classification of American Vernonieae. *Smithonian Contributions to Botany*, 89: 1-116.
- ROBINSON, H. 1999b. Two new subtribes, Stokessinae and Pacourinae, of the Vernonieae (Asteraceae). *Proc. Biol. Soc. Wash.*, 112(1): 216-219.
- RUAS, P.M.; RUAS, C.F.; VIEIRA, O.S.; MATZENBACHER, N.I. & MARTINS, N.S. 1991. Cytogenetics of genus *Vernonia* Schreber (Compositae). *Cytologia*, 56: 239-247.
- SCHWARZACHER, T.; AMBROS, P.; SCHEIZER, D. 1980. Application of Giemsa banding to orchid karyotype of the world. 13. Elsevier, Amsterdam.
- SCHWEIZER, D. 1976. Reserve fluorescent chromosome banding with Cromomycin and DAPI. *Chromosoma* 58: 307-324.
- SHI, L.; ZHU, T.; KEIN, P. 1996. Ribosomal RNA genes in soybean and common bean: chromosomal organization, expression, and evolution. *Theor. Appl. Gen.*: 93: 136-141.

- SILJAK-YAKOVLEV, S.; CERBAH, M.; COULAUD, J.; STOIAN, V.; BROWN, S.C., JELENIC, S. PAPES, D. 2002. Nuclear DNA content, base composition, heterochromatin and rDNA in *Picea omorika* and *Picea abies*. *Theor. Appl. Genet.* 104: 505-512.
- STEBBINS, G.L. 1971. *Chromosomal evolution in higher plants*. London. Edward Arnold (Publishers) LTD. Pp. 216.
- STUTTS, J.G. 1981. Taxonomic revision of *Pollalesta* H.B.K. (Compositae: Vernonieae). *Rhodora* 83: 385-419.
- STUTTS, J.G. 1988. Taxonomic revision of *Vernonieae* Subsect. *Chamaedrys* (Compositae: Vernonieae). *Rhodora* 90: 37-99.
- SUMNER, A.T. 1972. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp. Cell Res.* 75: 304-306.
- TORREL, M.; CERBAH, M.; SILJAK-YAKOVLEV, S.; VALLÈS, J. 2003. Molecular cytogenetics of the genus *Artemisia* (Asteraceae, Anthemideae): fluorochrome banding and fluorescence *in situ* hybridization. I. Subgenus *Seriphidium* and related taxa. *Plant Syst. Evol.* 239: 141-153.

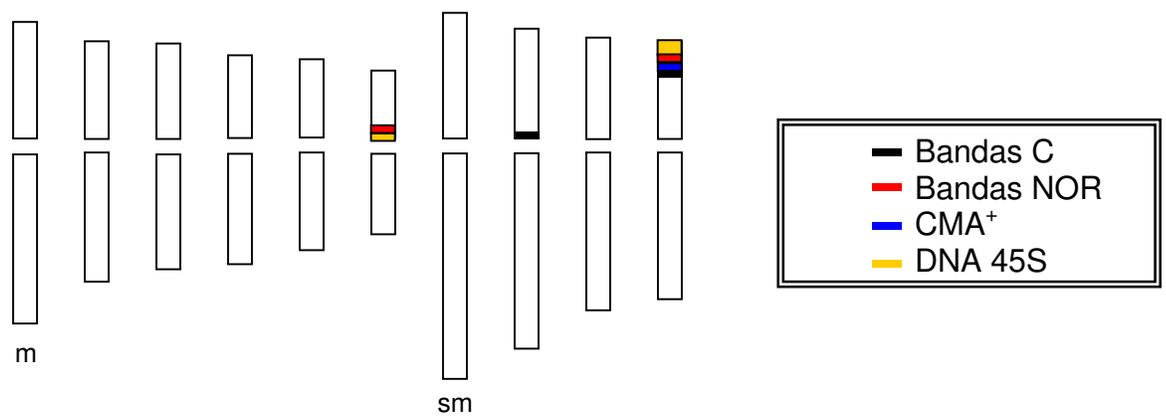


Figura 1 - Ideograma de *V. geminata* indicando, número e posição de bandas C, CMA⁺, NOR e número de sítios observados na hibridação *in situ* (FISH) para DNA 45S.

m=metacêntrico, sm=submetacêntrico.

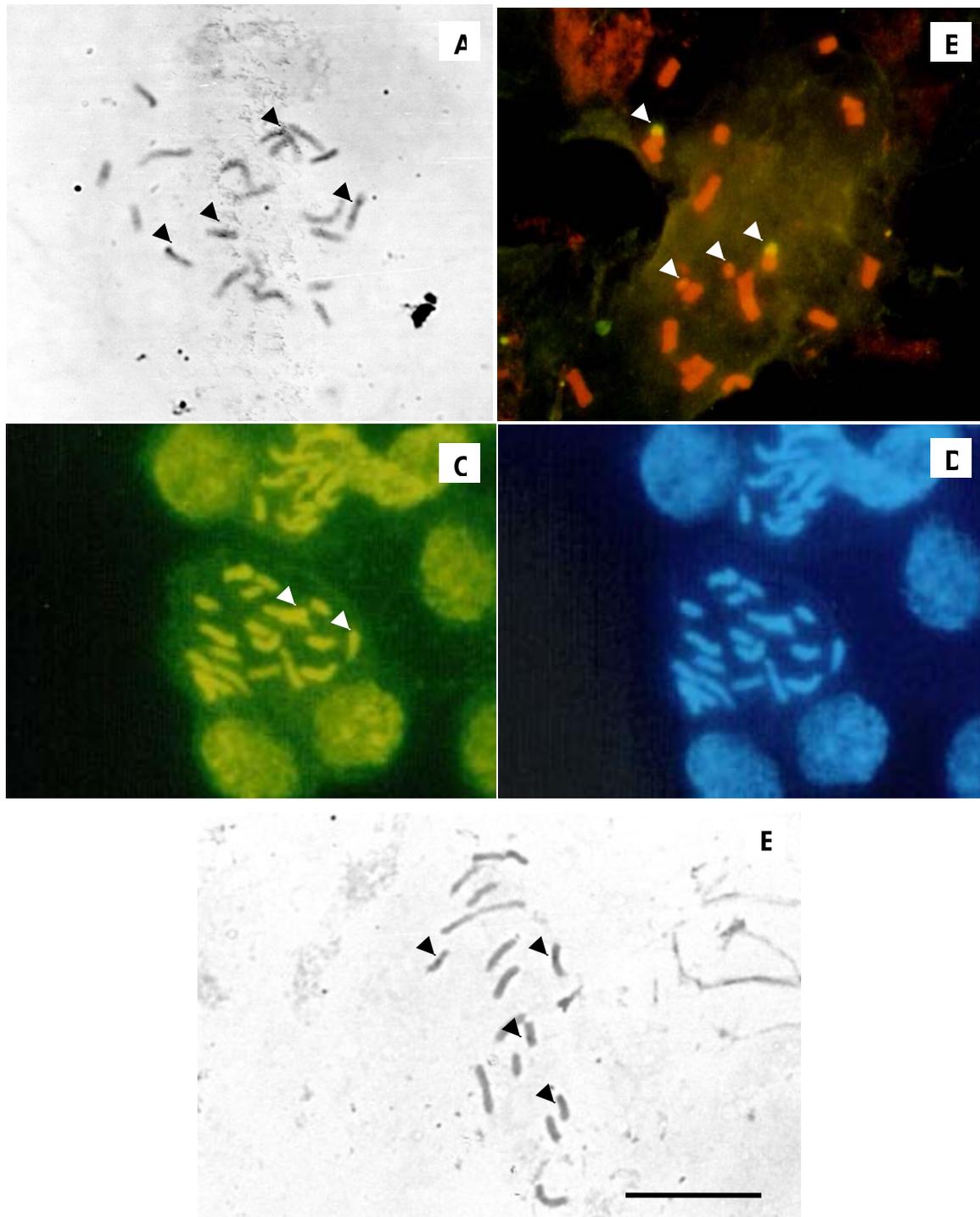


Figura 2 – Cromossomos mitóticos de *Vernonia geminata* ($2n=20$). A – Bandamento C (setas = bandas), B – Hibridação *in situ* (FISH, setas = sítios de DNAr 45S), C – Bandamento CCD – CMA (setas=bandas CMA+), D – Bandamento CCD – DAPI e E – Bandamento NOR (setas=bandas NOR). Barra = $10\mu\text{m}$.

VI. CONSIDERAÇÕES FINAIS

1. Este trabalho contribuiu para um melhor conhecimento cromossômico do gênero *Vernonia*, incluindo contagens para 14 espécies. Deste modo o número de espécies de *Vernonia* sul-americanas com cariótipo analisado passou de oito para 20.

2. Em todos os cariótipos analisados houve predomínio de cromossomos metacêntricos, porém alguns submetacêntricos, em geral de menor tamanho, foram encontrados. Os cromossomos das espécies de *Vernonia* estudadas variam de 0,9 a 4,9 μ m.

3. Foram encontrados citótipos, ou raças cromossômicas, em duas espécies, *V. polyanthes* e *V. remotiflora*. Duas populações de *V. polyanthes* apresentaram $2n=34$ enquanto uma apresentou $2n=32$ e, em *V. remotiflora*, a diferença se deu na fórmula cariotípica de duas populações. No entanto, a ocorrência deste fenômeno, em *V. remotiflora*, pode ser decorrente de procedimentos de técnica, que podem levar, por exemplo, a um grau de condensação cromossômica diferencial. Em *V. polyanthes* a diferença cariotípica pode ser decorrente de hibridização, já que a população com $2n=32$ possui características intermediárias de *V. rubriramea* e *V. polyanthes*, ou ainda indicar polimorfismo intraespecífico.

4. Observou-se variação cromossômica intraespecífica numérica em *V. geminata*, pela ocorrência de até seis cromossomos B ($2n=20+0-6B$) em células de uma das duas populações estudadas (pop.2).

5. Foram encontrados sete números cromossômicos diferentes: $2n=20$, 30, 32, 34, 36, 40 e ca.80, sendo os mais freqüentes $2n=32$ e 34.

6. Foram apresentadas contagens inéditas para sete espécies: *V. adamantium* ($2n=40$), *V. geminata* ($2n=20$ e $20+0-6Bs$), *V. riedelli* ($2n=36$), *V. chamissonis* ($2n=30$), *V. shwenkiaefolia* ($2n=34$), *V. buddleiaefolia* ($2n=32$) e *V. onoporoides* ($2n=ca.80$).

7. Até o momento, parece existir tênue relação entre os números cromossômicos obtidos no presente trabalho e os de literatura, com a conceituação taxonômica de ROBINSON (1999a) para os gêneros *Lessingianthus*, *Vernonanthura* e *Chrysolaena*, considerados a partir do desmembramento de *Vernonia sensu* BAKER (1873).

8. Em *V. geminata*, a coincidência entre algumas bandas e localização das mesmas no bandamentos C e CMA sugere que algumas regiões de heterocromatina constitutiva são ricas em pares de base CG. A semelhança entre a região corada positivamente com CMA e o sítio de rDNA 45S demonstra que a região CMA⁺ é composta por rDNA 45S, porém nem todos os sítios de rDNA foram corados positivamente com CMA. Houve coincidência entre as regiões coradas com nitrato de prata e os sítios de rDNA 45S.