

I

Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia

RICARDO AUGUSTO LOMBELLO

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

ESTUDO CROMOSSÔMICOS EM MALPIGHIACEAE
A. JUSSIEU

Este exemplar corresponde à redação final da tese defendida pelo(a) candidato a)	<i>Ricardo Augusto Lombello</i>
e aprovada pela (omissão) Julgadora	

30/11/2000
Elisandra Forni-Martins

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

Orientador: Profa. Dra. ELIANA REGINA FORNI-MARTINS

200102137

CAMPINAS – SP 2000

UNICAMP

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
	18382
V.	Ex
TOMBO BC/	43796
PROC.	16-892/01
C	☐
D	☒
PRECOS	R\$ 11,00
DATA	14/02/01
N.º CPD	

CM-00154282-4

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

L838e **Lombello, Ricardo Augusto**
 Estudos cromossômicos em Malpighiaceae A.Jussieu / Ricardo
 Augusto Lombello. --Campinas, SP.[s.n.], 2000.
 87f. ilus.

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

1.Cromossomos. 2. Taxonomia. 3. Evolução. I. Forni-Martins,
 Eliana Regina. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
 Biologia. III. Título.

Campinas, 30 de novembro de 2000.

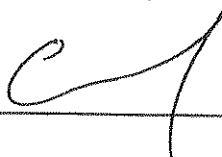
BANCA EXAMINADORA:

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

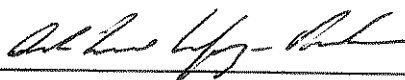
Profa. Dra. ELIANA REGINA FORNI MARTINS (Orientadora)



Prof. Dr. GEORGE JOHN SHEPHERD



Dr. ANDRÉ LUÍS LAFORGA VANZELA



Profa. Dra. CECÍLIA ALZIRA FERREIRA PINTO MAGLIO



Profa. Dra. MARIA CÂNDIDA HENRIQUE MAMEDE



Profa. Dra. LUIZA SUMIKO KINOSHITA

Profa. Dra. SHIRLEI MARIA RECCO PIMENTEL

Ao Gustavo e à Christiane

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

À Profa. Dra. Eliana Regina Forni-Martins, pela orientação, apoio integral e confiança em mim depositada.

Aos professores do Departamento de Botânica da UNICAMP pelos conselhos, sugestões e amizade, e em especial ao Prof. Dr. Fernando Roberto Martins, pelo auxílio na elaboração dos textos para publicação e pelas sugestões na parte estatística do trabalho.

À Iara pela companhia diária alegre, pelo apoio e amizade e pelo auxílio nas técnicas laboratoriais, além da paciência nos momentos difíceis.

Ao Prof. Dr. George John Shepherd, pela valiosa participação na pré-banca.

Ao Dr. André Luis L. Vanzela, pela cessão das sondas utilizadas na técnica de hibridação *in situ* em *Lophanthera lactescens*, bem como pelas importantes sugestões apresentadas na pré-banca.

À PqCa Dra. Cecília Alzira Ferreira Pinto-Maglio, pela importante participação na pré-banca.

À Profa Dra Shirlei Maria Recco Pimentel, Depto de Biologia Celular/UNICAMP, pelo auxílio na preparação das lâminas de hibridação *in situ*, bem como por me proporcionar a estrutura de seu laboratório.

À Profa. Dra. Maria Cândida Henrique Mamede, Instituto de Botânica, pela identificação das plantas estudadas nesta tese.

À Rosângela Sigris pela cessão de sementes de algumas espécies estudadas neste trabalho, pela importante troca de idéias que tivemos e pela amizade.

Aos colegas de laboratório Mariana, Fábio, Carlos Vítor e Júlia pelo companheirismo e amizade.

Aos funcionários do Departamento de Botânica - UNICAMP, especialmente ao João Carlos e Tião pelas várias colaborações e simpatia.

Aos alunos do Depto de Biologia Celular, em especial à Klélia, Luciana, Ana Cristina, Lilian, Cristina e Odair pela ajuda nas técnicas de hibridação e pela simpatia comigo.

Aos meus pais, irmãos e toda a família por tudo, desde o começo.

Índice Geral

Índice Geral	V
Índice de Tabelas	VI
Índice de Figuras	VII
Resumo	VIII
Abstract	IX
1. Introdução	1
1.1- Citogenética de Malpighiaceae.....	5
1.2- Considerações sobre a citogenética vegetal.....	7
1.3- Gêneros estudados.....	9
1.4- Espécies estudadas.....	13
2. Objetivos	15
<u>Trabalhos</u>	
3. Capítulo I- Citogenética de doze espécies de Malpighiaceae A. Juss. do sudeste do Brasil.....	16
4. Capítulo II- Estudos cromossômicos em espécies de <i>Banisteriopsis</i> C.B. Robinson ex Small e <i>Heteropterys</i> Kunth. (Malpighiaceae).....	37
5. Capítulo III- Análise cromossômica e evolutiva de <i>Lophanthera</i> Ducke (Malpighiaceae).....	52
6. Capítulo IV- Derivação de números cromossômicos, do hábito e da morfologia dos frutos em Malpighiaceae A. Jussieu.....	61
7. Discussões e Conclusões Gerais	71
8. Bibliografia da Introdução	75

Índice de Tabelas

1.4 Espécies estudadas -	Tabela 1. Relação das espécies estudadas com respectivos locais de coleta, tipo de vegetação do local (Veg.) e número do coletor (colet.).....	14
Capítulo 1 -	Tabela 1. Relação das espécies de Malpighiaceae estudadas, com respectivos números cromossômicos (n e 2n), localidade de coleta e número de coletor (colet.).....	27
	Tabela 2. Relação das espécies com células em divisão mitótica estudadas, com respectivos comprimentos cromossômicos em μm , comprimento total cromatínico (CTC) em μm , índice TF% (Huziwar 1962) e fórmula cariotípica.....	27
	Tabela 3. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Dicella bracteosa</i> , com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	27
	Tabela 4. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Bunchosia armeniaca</i> , com respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	28
	Tabela 5. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Galphimia brasiliensis</i> , com respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	28
	Tabela 6. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Janusia guaranítica</i> , com respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	29
	Tabela 7. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Mascagnia anisopetala</i> , com respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	29
	Tabela 8. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Mascagnia cordifolia</i> , com respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	30
	Tabela 9. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Tetrapteryx phlomoides</i> , com respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	30
	Tabela 10. Relação das espécies de Malpighiaceae com contagem cromossômica, distribuídas pelas suas respectivas tribos e sub-tribos, segundo Niedenzu (1928), com nomenclatura das sub-famílias e tribos alterada por Morton (1968), Anderson (1977, 1993) e Vogel (1990).....	31
Capítulo 2 -	Tabela 1. Relação das espécies de <i>Banisteriopsis</i> e <i>Heteropteryx</i> estudadas, com respectivos hábitos, números cromossômicos (n e 2n), variação de comprimento dos cromossomos (Comp.), comprimento total da cromatina (CTC), índice TF%, fórmula cariotípica (F.C.), número de coletor (colet.) e local da coleta.....	45
	Tabela 2. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Banisteriopsis pubipetala</i> , com índices centroméricos (ic) e classificação.....	45
	Tabela 3. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Banisteriopsis</i> sp., com respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	46
	Tabela 4. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Banisteriopsis stellaris</i> , com índices centroméricos (ic) e classificação.....	46
	Tabela 5. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Heteropteryx chrysophylla</i> , com índices centroméricos (ic) e classificação.....	47
	Tabela 6. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Heteropteryx pteropetala</i> , com índices centroméricos (ic) e classificação.....	47
	Tabela 7. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Heteropteryx</i> sp., com respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	47
	Tabela 8. Espécies de <i>Banisteriopsis</i> e <i>Heteropteryx</i> com contagem cromossômica na literatura, divididas em sub-gêneros segundo Gates (1982) (<i>Banisteriopsis</i>) e Niedenzu (1928) (<i>Heteropteryx</i>), com números cromossômicos (n e 2n) e referências.....	48
Capítulo 3 -	Tabela 1. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de <i>Lophanthera lactescens</i> , com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.....	59
Capítulo 4 -	Tabela 3. Sub-famílias, tribos e gêneros de Malpighiaceae com contagens cromossômicas, baseado em Niedenzu (1928), com nomenclatura alterada por Morton (1968) e Anderson (1977, 1993) com respectivos hábitos das espécies com contagens (T-trepadeiras, NT-não trepadeiras), tipos de frutos (A-alados, NA-não alados), porcentagem de espécies estudadas em relação ao número total de espécies no gênero - sp(%), e número cromossômico (n e 2n), acompanhados de suas frequências em cada gênero (Fig.).....	70

Índice de Figuras

1.Introdução	Figura 1. Diferentes tipos de hábitos de Malpighiaceae. A- <i>Lophanthera lactescens</i> , árvore cultivada no campus Unicamp, B- <i>Heteropterys chrysophylla</i> , arbusto escandente cultivado no campus Unicamp, C- <i>Stigmaphyllon lalandianum</i> , trepadeira em borda de mata, Bosque dos Jequitibás, Campinas-SP.....	2
	Esquema 1. Organização de Malpighiaceae, segundo Niedenzu (1928), Morton (1968), Vogel (1990) e Anderson (1977, 1993).....	4
Capítulo 1 -	Figura 1. a- <i>Bunchosia armeniaca</i> , b- <i>Byrsonima intermedia</i> , c- <i>Camarea ericoides</i> , d- <i>Dicella bracteosa</i> , e- <i>Galphimia brasiliensis</i> , f- <i>Janusia guaranítica</i> , g- <i>Mascagnia anisopetala</i> , h- <i>M. cordifolia</i> , i- <i>M. sepium</i> , j- <i>Peixotoa tomentosa</i> , k- <i>Tetrapteryx phlomoides</i> , l- <i>Tetrapteryx</i> sp.....	34
	Figura 2. Células em metáfase de: a- <i>Bunchosia armeniaca</i> (2n=60), b- <i>Dicella bracteosa</i> (2n=20), c- <i>Mascagnia cordifolia</i> (2n=40), d- <i>Galphimia brasiliensis</i> (2n=24), e- <i>Janusia guaranítica</i> (2n=40), f- <i>Mascagnia anisopetala</i> (2n=60), g- <i>Tetrapteryx phlomoides</i> (2n=50), h- <i>Camarea ericoides</i> (n=17), i- <i>Mascagnia sepium</i> (n=10), j- <i>Peixotoa tomentosa</i> (n=10). Barra= 5µm.....	35
	Figura 3. Ideogramas de: a- <i>Bunchosia armeniaca</i> , b- <i>Dicella bracteosa</i> , c- <i>Galphimia brasiliensis</i> , d- <i>Janusia guaranítica</i> , e- <i>Mascagnia cordifolia</i> , f- <i>Mascagnia anisopetala</i> , g- <i>Tetrapteryx phlomoides</i> . Barra= 5µm.....	36
Capítulo 2 -	Figura 1. a- <i>Banisteriopsis campestris</i> , b- <i>B. pubipetala</i> , c- <i>B. stellaris</i> , d- <i>Heteropteryx anoptera</i> , e- <i>H. chrysophylla</i> , f- <i>H. pteropetala</i> , g- Fruto de <i>Banisteriopsis</i> sp. h- Fruto de <i>Heteropteryx</i> sp.....	49
	Figura 2. Células em metáfase de: a- <i>Banisteriopsis stellaris</i> (2n=80), b- <i>B. pubipetala</i> (2n=30), c- <i>Banisteriopsis</i> sp. (2n=20), d- <i>Heteropteryx chrysophylla</i> (2n=20) e- <i>H. pteropetala</i> (2n=20), f- <i>Heteropteryx</i> sp. (2n=30), g- <i>B. campestris</i> (n=10), h- <i>B. laevifolia</i> (n=10), i- <i>B. variabilis</i> (n=20), j- <i>H. chrysophylla</i> (n=10). Barra= 5µm.....	50
	Figura 3. Ideogramas de: a- <i>Banisteriopsis pubipetala</i> , b- <i>Banisteriopsis stellaris</i> , c- <i>Banisteriopsis</i> sp., d- <i>Heteropteryx chrysophylla</i> , e- <i>Heteropteryx pteropetala</i> . Barra= 5µm.....	51
Capítulo 3 -	Figura 2. Ideograma cromossômico de <i>Lophanthera lactescens</i> . Barra=5µm.....	59
	Figura 1. a- ramo com inflorescência de <i>Lophanthera lactescens</i> , b- metáfase I da meiose (n=6), c- metáfase mitótica (2n=12), com seta indicando a posição do satélite, d- metáfase mitótica hibridada com pLT11 e corada com rodamina. Barra= 5µm.....	60
Capítulo 4 -	Figura 1. Distribuição de frequências relativas de números cromossômicos de espécies trepadeiras e não trepadeiras da família Malpighiaceae.....	69
	Figura 2. Distribuição de frequências relativas de números cromossômicos de espécies com frutos alados e não alados da família Malpighiaceae.....	69

Resumo

A família Malpighiaceae é composta por aproximadamente 71 gêneros e 1250 espécies, das quais 950 (pertencentes a 41 gêneros) estão distribuídas preferencialmente pelo Novo Mundo. As Malpighiaceae apresentam em geral hábito trepador (mais de 500 espécies), podendo ser encontradas também árvores e arbustos. Em virtude da extensa amplitude ecológica e geográfica, a família Malpighiaceae apresenta uma grande diversidade de hábitos, frutos e grãos de pólen, além de uma notável variedade de registros de número cromossômico. Segundo dados da literatura, a família apresenta uma grande diversidade de números cromossômicos, que envolve poliploidias e disploidias inter e intra-específicas. Além da contribuição para o conhecimento de números cromossômicos para mais espécies de Malpighiaceae, objetivamos comparar as informações obtidas através destes estudos citogenéticos com o posicionamento taxonômico, baseado em aspectos morfológicos e biogeográficos, das espécies estudadas. No presente trabalho foram realizados estudos citogenéticos em 23 espécies de 12 gêneros de Malpighiaceae, coletadas em áreas de cerrado, mata semidecídua, além de algumas cultivadas, sendo obtidos 14 números cromossômicos haplóides e 15 diplóides, sendo 17 destes números inéditos. Os números variam de $2n=12$ (*Lophanthera lactescens* Ducke) até $2n=80$ (*Banisteriopsis stellaris* (Griseb.) Gates). Com exceção feita a *Lophanthera lactescens* e *Galphimia brasiliensis* (L.) A. Juss., todas as espécies estudadas apresentaram cromossomos relativamente pequenos (de 1,1 a 3,9 μ m), predominantemente metacêntricos. Para 14 destas espécies estudadas foram observados os caracteres cariomorfológicos e confeccionados os ideogramas. Não foram observadas anormalidades no processo de divisão meiótica, sendo altos os índices de viabilidade de grãos de pólen aferidos. Foi realizada também hibridação *in situ* com uma sonda específica para regiões teloméricas em células em divisão mitótica de *Lophanthera lactescens*, visando averiguar a origem evolutiva de seus cromossomos grandes. Os resultados ratificam a posição primitiva da espécie dentro da família. Analisando os números cromossômicos aqui apresentados, somados aos obtidos em literatura, observamos que há uma relação direta entre a variação de número cromossômico e a derivação do hábito trepador, bem como dos frutos alados, aparentemente mais derivados. Estas derivações devem ter ocorrido interdependentemente.

Abstract

The Malpighiaceae family contains about 71 genera and 1250 species, with 950 (that belongs to 41 genera) rather distributed in the New World. Most of Malpighiaceae species presents climbing habit (more than 500 species), however we can also find trees and shrubs. Based on its large geographic and ecological magnitude, the Malpighiaceae presents a great diversity of habits, fruits and pollen grains shape. Besides a considerable register of chromosome number variation in the literature is shown. Previous studies indicated that Malpighiaceae has a great chromosome diversity, that evolves poliploidy and dispoloidy inter and intra-specific. Moreover the contribution to increase the chromosome numbers data of an important family as Malpighiaceae, we intend to compare the cytogenetics information obtained here with taxonomic organization based on morphological and biogeographic studies. Cytogenetic studies were carried out in 23 species of 12 genera of Malpighiaceae, collected in cerrado and forest areas, besides some cultivated species, with 14 haploid chromosome numbers and 15 diploid accounts, with 16 of these accountings unpublished. The chromosome numbers vary from $2n=12$ (*Lophanthera lactescens* Ducke) to $2n=80$ (*Banisteriopsis stellaris* (Griseb.) Gates). Except *Lophanthera lactescens* and *Galphimia brasiliensis* (L.) A. Juss., al the studied species showed relatively small chromosomes (1,1 to 3,9 μ m), predominantly metacentrics and with gradual increase in length. For 14 of these studied species karyomorphological characters were observed, its karyotype formula obtained and ideograms constructed. No abnormalities in the meiotic process of division were observed, with high level of viable pollen grains registered. *In situ* hibridization with telomeric sequence primer in mitotic cells of *Lophanthera lactescens* was carried out, in order to study the origin of its big chromosomes. The results confirm the primitive position of the species in the family. We intended to analyze in Malpighiaceae the relationship between the evolution of the climbing habit, the variation of fruit type and alterations in the chromosome numbers. Based on chromosome number and fruit type data, we suppose that these derivations were interdependent.

1. Introdução

A família Malpighiaceae é composta por aproximadamente 71 gêneros e 1250 espécies, das quais 950 (pertencentes a 47 gêneros) estão distribuídas preferencialmente pelo Novo Mundo (Anderson 1979a, Makino-Watanabe 1988). As espécies de Malpighiaceae concentram-se basicamente nos trópicos e subtropicais. Apresentam maior diversidade na América tropical, com aproximadamente 70% das espécies da família (Arènes 1959). São comumente encontradas em habitats relativamente abertos de florestas e cerrados, além de campos e matas ciliares (Anderson 1979a). No Brasil, Barroso *et al.* (1984) encontraram cerca de 32 gêneros de Malpighiaceae, com aproximadamente 300 espécies distribuídas por todas as regiões do país.

As Malpighiaceae possuem em geral hábito trepador, podendo ser encontradas também árvores e arbustos (Figura 1), além de ocasionalmente ervas perenes (Robertson 1972, Judd *et al.* 1999). Poucas espécies são encontradas em ambientes xerofíticos e não há registro de espécies que tenham atingido as regiões geladas (Anderson 1979a, Makino-Watanabe 1988).

As drupas de *Malpighia glabra* (acerola) são ricas em vitamina C. Espécies de *Banisteriopsis*, *Galphimia*, *Malpighia*, *Peixotoa* e *Stigmaphyllon* são bastante utilizadas como plantas ornamentais (Lorenzi e Souza 1999). *Banisteriopsis caapi* é bastante utilizada por populações indígenas do Brasil, Colômbia, Equador e Peru, por conter alcalóides de poder alucinógeno (Gates 1982).

Os gêneros com maior número de espécies são *Byrsonima* (150 spp.), *Heteropterys* (120), *Banisteriopsis* (92), *Tetrapteryx* (90), *Stigmaphyllon* (90) e *Bunchosia* (75) (Judd *et al.* 1999).

As espécies apresentam flores usualmente bissexuais, de coloração em geral amarela ou rosada, cíclicas, hermafroditas, diclamídeas, de simetria zigomorfa, dispostas em inflorescências paniculadas nas axilas superiores ou terminais. Ovíulo súpero, com placentação axilar e um óvulo em cada lóculo (Judd *et al.* 1999). O cálice apresenta como característica principal a presença quase obrigatória de grandes glândulas, localizadas na base externa das sépalas, duas em cada sépala (Joly 1991). Glândulas discóides também

podem ser encontradas em suas folhas e brácteas. As flores são notoriamente polinizadas por abelhas, embora não possuam néctar (Vogel 1990). Os frutos são samaróides esquizocárpicos, esquizocárpicos ou drupáceos, geralmente com 3 sementes (Judd *et al.* 1999).

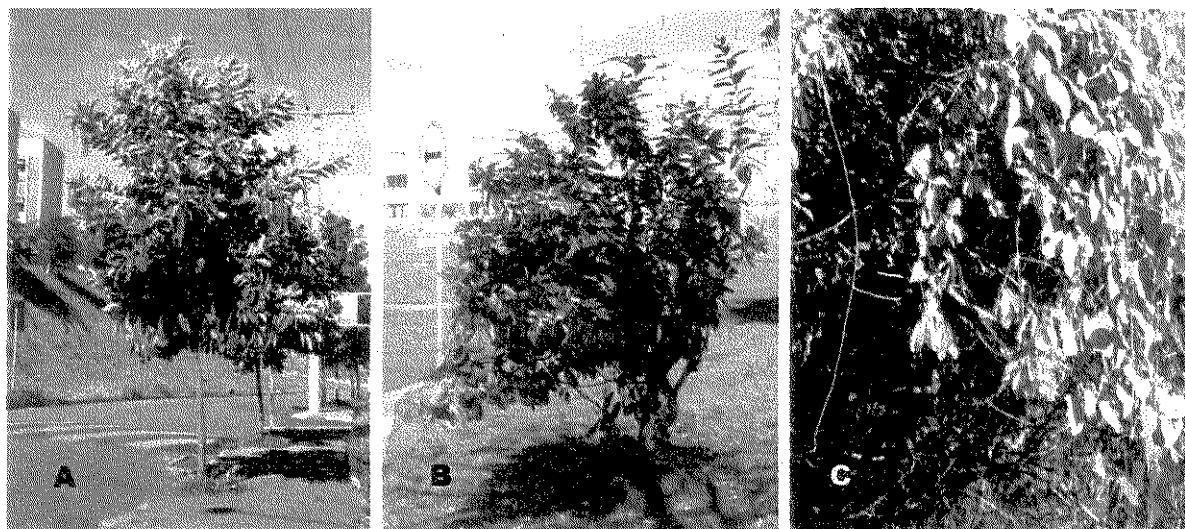


Figura 1. Diferentes tipos de hábitos de Malpighiaceae. A- *Lophanthera lactescens*, árvore cultivada no campus Unicamp, B- *Heteropterys chrysophylla*, arbusto escandente cultivado no campus Unicamp, C- *Stigmaphyllon lalandianum*, trepadeira em borda de mata, Bosque dos Jequitibás, Campinas-SP.

Nos Neotrópicos as Malpighiaceae são polinizadas por abelhas antoforídeas coletoras de óleos, enquanto no velho mundo são polinizadas por abelhas coletoras de pólen. Frutos alados são dispersos pelo vento, como os de *Stigmaphyllon* e *Tetrapteryx*. Frutos carnosos como os de *Malpighia*, *Byrsonima* e *Bunchosia* são dispersos por pássaros e/ou mamíferos (Judd *et al.* 1999).

Baseado em caracteres morfológicos e palinológicos, Vogel (1990) afirmou com clareza que a família Malpighiaceae é um grupo monofilético. Chase *et al.* (1993), baseados nos dados de sequenciamento de *rbcl*, o gene que codifica para a enzima RuBisCo, concluíram o mesmo. Sua taxonomia, no entanto, não é tão clara assim.

Incluída na ordem Malpighiales Mart. (Chase *et al.* 1993, Soltis *et al.* 1997, Judd *et al.* 1999), a família foi dividida em duas sub-famílias por Niedenzu (1928). A primeira,

que apresentava espécies com frutos predominantemente samaróides e anemocóricos, com distribuição pantropical, foi denominada Pyramidoterae. A segunda, chamada Planitorae, incluía gêneros com frutos drupáceos não alados, e era restrita aos neotrópicos (Vogel 1990).

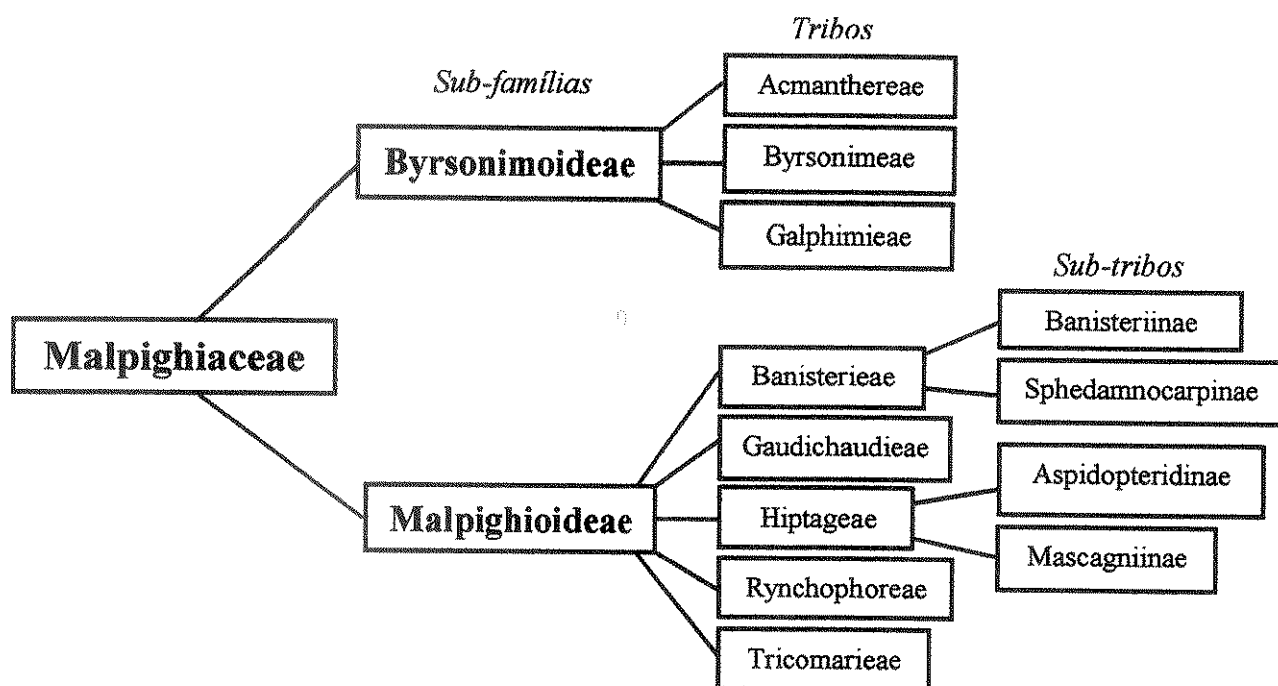
Embora o sistema proposto por Niedenzu (1928) continue sendo usado até os dias de hoje, algumas modificações nomenclaturais ocorreram. Segundo Morton (1968), o Código de Nomenclatura indicava que os nomes de famílias e sub-famílias deveriam ser baseados nos nomes de gêneros nelas incluídos. Assim sendo, propôs para a sub-família Pyramidoterae de Niedenzu (1928) o nome Gaudichaudioideae, e para Planitorae o nome Malpighioideae, baseado nos gêneros *Gaudichaudia* e *Malpighia*, respectivamente. Takhtajan (1980) apresentou para a família a mesma sub-divisão.

Na revisão feita por Anderson (1977), alguns gêneros da sub-família Malpighioideae foram excluídos, incluindo-se aí o gênero *Malpighia*, e deixados num grupo ainda incerto. Desta forma Anderson (1977) propôs um nome novo para a sub-família Planitorae de Niedenzu (1928), baseado no gênero *Byrsonima*, que é Byrsonimoideae.

Segundo Vogel (1990), Gaudichaudioideae seria dividida em quatro tribos: Banisterieae (distribuição pantropical), Hiptageae (pantropical), Tricomarieae (neotropical) e Rhynchophoreae (paleotropical). A sub-família Byrsonimoideae foi dividida em três tribos: Byrsonimeae, Galphimieae e Acmanthereae, todas com espécies de distribuição exclusivamente neotropical.

Os gêneros excluídos por Anderson (1977) foram reavaliados pelo mesmo autor em 1993, em um extenso trabalho baseado em números cromossômicos haplóides. Anderson (1993) promoveu algumas mudanças na estrutura taxonômica da família, reincluindo os gêneros *Malpighia*, *Dicella* e *Bunchosia*, desta vez na sub-família Gaudichaudioideae, tornando-a Malpighioideae, pois *Malpighia* é o tipo da família. Além disto, este autor também reposicionou os gêneros *Aspicarpa*, *Camarea*, *Gaudichaudia*, *Janusia* e *Peregrina*, criando a tribo nova Gaudichaudieae, grupo este primeiramente reconhecido por Adrien Jussieu (1843). Para a sub-família Byrsonimoideae, Anderson (1993) trouxe os gêneros *Mcvaughia*, *Pterandra* e *Verrucularia*.

Ainda segundo Anderson (1993), os gêneros *Thryallis* e *Barnebya* apresentam características que os isolariam dentro da família. Analisando os números cromossômicos dos dois gêneros, este autor deixou a posição dos dois gêneros como incerta, visto que ambos possuem números cromossômicos haplóides $n=30$, além de apresentarem características morfológicas comuns a ambas as sub-famílias.



Esquema 1. Organização de Malpighiaceae, segundo Niedenzu (1928), Morton (1968), Vogel (1990) e Anderson (1977, 1993).

As tribos Hiptageae e Banisterieae, da sub-família Malpighioideae, são divididas em sub-tribos. Hiptageae apresenta as sub-tribos Mascagniinae e Aspidopteridinae. A tribo Banisterieae apresenta as sub-tribos Banisteriinae e Sphedamnocarpinae. Sendo assim, a família Malpighiaceae encontra-se organizada até o presente momento na forma exposta no Esquema 1.

Alguns autores têm apresentado diferentes hipóteses para explicar a distribuição das espécies de Malpighiaceae pelos trópicos. Niedenzu (1928) posicionou

implicitamente os gêneros do velho mundo como os mais primitivos. Já Arènes (1959), baseado na maior diversidade presente no neotrópico e no estudo de macrofósseis encontrados na Europa, sugeriu que o nordeste brasileiro seria o berço da família. As espécies da América do Sul teriam chegado à Europa através da América do Norte. Em um estudo abrangente, baseado na morfologia floral e em dados palinológicos, Vogel (1990) conclui que as espécies presentes na América do Sul teriam derivado de espécies do velho mundo, anteriormente à separação dos continentes.

1.1 Considerações sobre a citogenética vegetal

Os estudos que abrangem os caracteres cromossômicos, como número, morfologia e evolução cariotípica, têm contribuído significativamente para o entendimento dos processos evolutivos envolvidos nas derivações dos taxa. Têm também auxiliado nos estudos de sistemática vegetal, além de ter papel fundamental nas pesquisas de melhoramento genético de vegetais.

A análise dos cariótipos favorece os estudos de taxonomia e sistemática em virtude da riqueza de caracteres que os cromossomos apresentam. Estes caracteres podem ser expressos em unidades de medidas absolutas e relativas, além de apresentarem pontos de referência, como sítios de ligação dos fusos, regiões de organização nucleolar e bandas de heterocromatina. Estas características permitem estudos comparativos entre diferentes taxa (Greilhuber e Ehrendorfer 1988).

No decorrer deste século de pesquisas, várias técnicas têm sido utilizadas na análise das diversas características cromossômicas. Com a evolução das técnicas de citogenética, além da contagem dos números cromossômicos, foi possível observar-se detalhes morfológicos mais acurados, bem como aspectos estruturais dos cromossomos, como bandas heterocromáticas e a localização de seqüências de DNA específicas.

São encontrados em literatura vários exemplos de estudos bem sucedidos de citogenética vegetal, como o abrangente trabalho de Grant (1982), que analisa a frequência de certos números cromossômicos nas angiospermas. Este autor observou uma evidente periodicidade de picos de frequência de números cromossômicos, formando uma

curva do tipo dentada, com espaçamentos regulares entre os picos, o que indicaria a importância da poliploidia na evolução cariotípica das angiospermas.

Em alguns trabalhos de revisão taxonômica, números cromossômicos e dados cariomorfológicos são utilizados como mais uma ferramenta para a identificação dos taxa envolvidos. As contagens cromossômicas têm sido incluídas como mais uma característica taxonômica, como na revisão do gênero *Banisteriopsis* (Malpighiaceae) apresentado por Gates (1982), ou na revisão do gênero *Hiptage* (Srivastava 1992). Informações citogenéticas também podem ser úteis na identificação e na descrição de uma espécie nova, como no trabalho apresentado por Anderson (1983) com *Lophanthera hammelii* (Malpighiaceae).

Como exemplo de utilização de dados citogenéticos na análise da evolução de determinados grupos podemos citar Lombello e Forni-Martins (1998b), que compararam a variação de número cromossômico em Sapindaceae, com a derivação do hábito trepador na família. Estes dados evidenciaram um decréscimo numérico nas plantas trepadeiras, derivadas das não trepadeiras com números cromossômicos maiores.

Nos últimos anos avanços significativos têm ocorrido no conhecimento dos genomas das plantas, através da utilização de técnicas de biologia molecular, como o mapeamento dos cromossomos com sondas de DNAr em cevada, utilizando-se hibridação *in situ* com sondas específicas para estas seqüências (Leitch e Heslop-Harrison 1992). Este tipo de mapeamento pode ser utilizado como ponto de partida para possíveis alterações cromossômicas estruturais induzidas em laboratório, mas também pode ser utilizado para a comparação entre espécies de gêneros próximos.

O estudo realizado em *Vigna unguiculata* e *Phaseolus coccineus* (Guerra *et al.* 1996), que evidenciou variações de número e tamanho das seqüências de DNAr, presentes entre cariótipos antes considerados bastante similares, é um bom exemplo da utilização desta técnica para a sistemática.

Embora estas técnicas venham sendo o alvo da maioria dos estudos citogenéticos publicados nas revistas científicas especializadas, os trabalhos de contagem de número cromossômico os e dados de morfologia continuam sendo de grande importância. Não se possui qualquer informação citogenética de grande parte das espécies da flora mundial, sendo que a grande maioria dos dados obtidos até agora são de grupos distribuídos pelo

hemisfério norte, enquanto muitas das espécies e gêneros do hemisfério sul são ainda completamente desconhecidos citogeneticamente (Goldblatt, 1981).

O conhecimento de um número cada vez maior das seqüências de DNA de regiões codificantes, introns e seqüências repetidas dos organismos permitirá comparações cariotípicas precisas entre espécies de alguma forma relacionadas (Heslop-Harrison 1991).

1.2 Citogenética de Malpighiaceae.

Associada à extensa amplitude ecológica e geográfica, a família Malpighiaceae apresenta uma grande diversidade de hábitos, frutos e grãos de pólen (Makino-Watanabe 1988), além de uma notável variedade de números cromossômicos registrados (Ormond *et al.* 1981). Segundo Singhal *et al.* (1985), a família apresenta uma grande diversidade numérica de cromossomos, que envolve poliploidias e disploidias inter e intra-específicas.

Trabalhos desenvolvidos na área de citotaxonomia têm sido de grande utilidade no posicionamento taxonômico das espécies de Malpighiaceae. Anderson (1979b), baseado no número cromossômico $n=10$ para *Macvaughia bahiana*, discutiu a posição deste gênero na sub-família Byrsonimoideae, caracteristicamente representado por $n=6$ ou 12. Analisando as características da espécie, Anderson (1979b) concluiu que a espécie realmente pertence a esta sub-família e é uma exceção ao modelo de distribuição de números cromossômicos no grupo. Baseado também em números cromossômicos, Anderson (1993) discutiu a posição dos gêneros *Bunchosia*, *Dicella* e *Camarea* nas sub-famílias de Malpighiaceae.

Dois esquemas evolutivos baseados em dados citogenéticos foram propostos por Fouët (1966) para Malpighiaceae. O primeiro baseou-se numa provável evolução dos componentes nucleares, como alterações estruturais nos cromossomos e em seus genes, e o segundo nas variações de número básico para a família. Ambos os esquemas ratificam os sistemas taxonômicos propostos, seja pelos morfologistas, seja pelos biogeógrafos.

Segundo Ormond *et al.* (1981), os números cromossômicos registrados para a família Malpighiaceae são bastante variáveis, apresentando $n= 6, 9, 10, 11, 12, 17, 19,$

20, 21, 26, 27, 28, 29 e 42. Dos aproximadamente 71 gêneros pertencentes à família Malpighiaceae, 35 (50%) apresentam relatos de número cromossômico, sendo que Banisteriaceae, a tribo com o maior número de espécies, é a mais estudada.

Dentre os gêneros estudados de Malpighiaceae, *Heteropterys* é um dos que apresentam grande disparidade numérica inter e intra-específica, como $2n=20$, 42, 56 e 58 para *Heteropterys leona* e $2n=34$ para *Heteropterys angustifolia* (DiFulvio 1979), atual *H. glabra*. Há também na literatura contagens divergentes para o gênero *Hiptage*, com números diplóides $2n=42$, 56, 58 e 60. Estes dados, segundo DiFulvio (1979), indicariam a existência de mais de um número básico para o gênero. Forni-Martins *et al.* (1995) apresentaram três números básicos distintos para três gêneros diferentes (*Banisteriopsis*, $x=20$; *Byrsonima*, $x=12$ e *Peixotoa*, $x=10$). No entanto, Anderson (1977) considerou que quase todos os números cromossômicos registrados para a família no Novo Mundo são $n=10$, múltiplos de 10, ou ainda segundo Ormond *et al.* (1981) derivados aneuplóides destes múltiplos.

Números cromossômicos baseados em $x=10$ são comuns também em outras famílias da ordem Malpighiales, embora ocorram números básicos diversos, como $x=5$, 6, 7, 8, 9, 11, 12, 13, 17, 19, 20, 21, 23 e 24 (Raven 1975, Grant 1982). As famílias Euphorbiaceae, Turneraceae e Violaceae apresentam gêneros com contagens baseadas em $x=10$, com as duas últimas famílias apresentando também registros que indicam número básico $x=5$ (Raven 1975).

Características cariomorfológicas são pouco abordadas nos estudos citológicos em Malpighiaceae. A grande maioria dos trabalhos apresenta apenas a contagem de número cromossômico (Riley e Hoff 1961; Mangenot e Mangenot 1958 e 1962; Lewis e Oliver 1970; Bawa 1973; DiFulvio 1979, Anderson (1993) e Forni-Martins *et al.* 1995). Singhal *et al.* (1985) e Forni-Martins *et al.* (1992) apresentaram estudos citológicos baseados na análise de células em divisão meiótica. Estes dois trabalhos mostraram problemas de pareamento e disjunção cromossômica nas respectivas espécies estudadas (*Hiptage benghalensis* e *Peixotoa* sp.). Singhal *et al.* (1985) citaram ainda a presença de cromossomos B em duas espécies: *Byrsonima laevifolia* e *Hiptage benghalensis*.

O tamanho dos cromossomos da família Malpighiaceae parece ser também bastante variável entre as espécies, como atestou a comparação entre os dados

apresentados por Devar e Boraiah (1981), que citaram para *Hiptage benghalensis* medidas próximas a 2,5µm, ou seja cromossomos relativamente pequenos, e os dados apresentados por Foutet (1966), que citou a presença de grandes cromossomos para a família, embora sem fornecer medidas. Levando-se em consideração a lacuna de informações citogenéticas e as dificuldades na identificação precisa de várias espécies de alguns gêneros da família, como *Banisteriopsis*, *Heteropterys* e *Tetrapteryx*, o estudo citotaxonômico da família torna-se importante não apenas para o posicionamento de suas espécies dentro de seus respectivos grupos, como também para a análise dos mecanismos envolvidos na evolução cariotípica da família e derivações de características morfológicas e funcionais nas espécies de Malpighiaceae.

1.3 Gêneros estudados

Foram estudados neste trabalho 12 gêneros da família Malpighiaceae. Abaixo apresentaremos algumas de suas características gerais.

1.3.1 *Banisteriopsis* C.B. Robson ex Small

O gênero *Banisteriopsis*, pertencente à sub-família Malpighioideae (Morton 1968, Anderson 1993), tribo Banisterieae, sub-tribo Banisteriinae, é representado por 94 espécies, distribuídas exclusivamente pelas Américas, preferencialmente pelos trópicos. Aproximadamente 69 espécies de *Banisteriopsis* encontram-se no Brasil, sendo que dois terços destas se distribuem pela região de cerrado do Planalto Central (Gates 1982). O gênero é dividido em três sub-gêneros: *Banisteriopsis* (oito espécies), *Hemiramma* (58 espécies) e *Pleiopteryx* (26 espécies) (Gates 1982). São em geral plantas arbustivas, ocorrendo também algumas espécies lianas, sub-arbustos e até mesmo árvores pequenas (Gates 1982). Apresentam flores cor-de-rosa ou amarelas, raramente brancas, e frutos samaróides com alas dorsais (Small 1910). Existem dados citogenéticos para apenas 17 espécies de *Banisteriopsis* na literatura. A maioria das espécies estudadas apresenta n=10 (Anderson 1993), podendo ocorrer casos de poliploidia, como em *B. muricata* com n=20

(Gates 1982). Não há na literatura dados a respeito da morfologia cromossômica para o gênero.

1.3.2 *Bunchosia* Rich. ex Kunth

O gênero *Bunchosia*, segundo Anderson (1993) pertence à sub-família Malpighioideae, embora este autor não consiga posicionar o gênero em tribos, visto que apresenta características diferenciadas dos gêneros desta sub-família, como hábito arbóreo e frutos carnosos, únicos na família. *Bunchosia* é composto por 40 espécies arbustivas ou arbóreas (Niedenzu 1928), com flores brancas ou amarelas e frutos drupáceos ovóides, globosos ou reniformes, de coloração amarela, vermelha, laranja ou marrom (Small 1910). Há contagem cromossômica para apenas uma espécie de *Bunchosia* na literatura, que é *Bunchosia montana* Juss., com $n=20$ (Anderson 1993), não havendo dados cariomorfológicos para o gênero.

1.3.3. *Byrsonima* Rich. ex Kunth

O gênero *Byrsonima*, pertencente à sub-família Byrsonimoideae, tribo Byrsonimeae (Anderson 1977), é composto por 104 espécies sub-arbustivas, arbustivas ou arbóreas (Niedenzu 1928). As flores são vermelhas ou amarelas, com pétalas onduladas ou dentadas, sendo os frutos drupáceos, ovóides a globosos, geralmente de coloração amarela, vermelha ou laranja (Small 1910). Há contagem cromossômica para apenas nove espécies de *Byrsonima* na literatura, todas baseadas em $x=6$ (Forni-Martins *et al.* 1992, 1995 e Anderson 1993). Existe apenas um dado em desacordo com este número básico, que é para *B. crassifolia*, com $2n=20$ (Nanda 1962). Não há dados cariomorfológicos para o gênero.

1.3.4 *Camarea* A. St. Hilaire

O gênero *Camarea*, pertencente à sub-família Malpighioideae, tribo Gaudichaudieae (Anderson 1993), é composto por oito espécies sub-arbustivas eretas, distribuídas predominantemente pelo Brasil, sendo o Planalto Central Brasileiro o centro de diversidade genética do gênero (Mamede 1990, Makino-Watanabe *et al.* 1998). Quatro

das espécies do gênero possuem contagem cromossômica, sendo todas $n=17$ (Anderson 1993), não havendo informações sobre a morfologia de seus cromossomos.

1.3.5 *Dicella* Grisebach

O gênero *Dicella*, pertence à sub-família Malpighioideae (Anderson 1993), sem estar posicionado em qualquer tribo. O gênero é composto por cinco espécies, todas lianas (Chase 1981). As inflorescências são paniculadas, com flores de pétalas amarelas glandulosa-dentadas. Os frutos são esféricos ou globosos, indeiscentes, com uma espessa parede fibrosa Anderson (1975, 1977). Encontra-se contagem cromossômica apenas para *Dicella bracteosa* (Juss.) Griseb. ($n=10$) na literatura (Anderson 1993). Este número reforça o posicionamento de *Dicella* em Malpighiopideae. Não há dados de cariomorfologia para o gênero.

1.3.6 *Galphimia* Cavanilles

O gênero *Galphimia*, pertence à sub-família Byrsonimoideae, tribo Galphimieae (Anderson 1977). É composto por 10 espécies de sub-arbustos ou arbustos, com flores amarelas ou róseas e frutos esféricos ou globosos. Seis destas espécies apresentam contagem cromossômica na literatura, com dados que indicam um número básico $x=6$ para o gênero (Lewis e Oliver 1970, Anderson 1993). Apenas *G. glauca* apresenta contagem divergente, com $2n=20$ (Takagi 1938).

1.3.7 *Heteropterys* Kunth

O gênero *Heteropterys*, pertencente à sub-família Malpighioideae (Anderson 1993), tribo Banisterieae, sub-tribo Banisteriinae (Niedenzu 1928), é composto por 81 espécies de lianas e raramente arbustos eretos, com flores amarelas e frutos samaróides. Embora seja um dos gêneros com maior número de espécies dentro da família Malpighiaceae, apenas nove destas apresentam contagem cromossômica na literatura, com uma sequência numérica baseada em $x=10$ (Ormond *et al.* 1981), embora duas espécies apresentem contagens divergentes: *H. angustifolia* ($2n=34$) (Semple 1970) e *H. leona* ($2n=42, 56$ e 58) (Roy e Mishra 1962, Pal 1964). Não há dados de cariomorfologia para nenhuma das espécies estudadas do gênero.

1.3.8 *Janusia* A. Jussieu

O gênero *Janusia*, pertencente à sub-família Malpighioideae, tribo Gaudichaudieae, é composto por aproximadamente 18 espécies de lianas sub-arbustivas distribuídas pelas Américas (Anderson 1993), com flores de corolas amarelas e pétalas desiguais, frutos tipo sâmara com alas dorsais (Small 1910). Há 11 registros de contagem cromossômica, todas baseadas em $x=10$, exceto *J. guaranitica*, com $n=19$ (Anderson 1993). Não há dados de cariomorfologia para o gênero.

1.3.9 *Lophanthera* A. Jussieu

O gênero *Lophanthera*, pertencente à sub-família Byrsonimoideae (Anderson 1977), tribo Galphimieae, é composto por cinco espécies, todas arbustivas ou arbóreas, distribuídas pelas Américas (Anderson 1983), sendo que quatro destas são restritas à Amazônia. As inflorescências são longas, pendentes ou raramente eretas, com flores de pétalas amarelas ou cor-de-rosas carenadas dorsalmente e frutos esquizocárpicos. Há registro de contagem cromossômica para duas espécies, sendo o número básico aceito para o gênero $x=6$ (Anderson 1983). Não há dados de cariomorfologia para o gênero.

1.3.10 *Mascagnia* (Bertero ex DC.) Colla

O gênero *Mascagnia*, pertencente à sub-família Malpighioideae, tribo Hiptageae, sub-tribo Mascagniinae é composto por 46 espécies, todas lianas distribuídas pelas Américas (Nieden zu 1928), com flores de corola amarela, violeta, azul, roxa ou lilás, frutos tipo sâmara com alas laterais distintas ou unidas, sempre maiores que as alas dorsais (Small 1910). Há quatro registros de contagem cromossômica na literatura para o gênero, que indicam um número básico $x=10$ (Anderson 1993, Lombello e Forni-Martins 1998a). Não há dados cariomorfológicos disponíveis para o gênero.

1.3.11 *Peixotoa* A. Jussieu

O gênero *Peixotoa*, pertencente à sub-família Malpighioideae, tribo Banisterieae, sub-tribo Banisteriinae é composto por 28 espécies, todas lianas arbustivas ou sub-arbustivas eretas, com flores de corola amarela, frutos tipo sâmara com alas dorsais eretas

ou obliquo-ascendentes (Anderson 1982). Há quatro registros de contagem cromossômica na literatura para o gênero, que indicam um número básico $x=10$ para *Peixotoa* (Ormond *et al.* 1981, Forni-Martins *et al.* 1989, Anderson 1993). Não há dados cariomorfológicos disponíveis para o gênero.

1.3.12 *Tetrapteryx* Cavanilles

O gênero *Tetrapteryx*, pertencente à sub-família Malpighioideae, tribo Hiptageae, sub-tribo Mascagniinae, é composto por 86 espécies, todas lianas sub-arbustivas (Nieden zu 1928), com flores de corolas amarelas e pétalas onduladas ou dentadas, frutos tipo sâmara com quatro alas em forma de x, sendo que as alas superiores são usualmente maiores que as inferiores (Small 1910). Não há registro de contagem cromossômica na literatura para o gênero.

1.4 Espécies estudadas

Nestes 12 gêneros foram analisadas 23 espécies, obtidas em coletas periódicas em áreas de cerrado (Mogi-Mirim-SP, Itrapina-SP e Carrancas-MG) e de floresta (mata de Santa Genebra, Campinas-SP e Carrancas- MG). Foram também utilizados frutos e botões florais de cinco espécies cultivadas (Tabela 1), sendo estes coletados no campus da UNICAMP, nas áreas urbanas de Americana-SP e do distrito de Barão Geraldo, município de Campinas-SP.

Todas as espécies estudadas foram identificadas pela Profa. Dra. Maria Cândida Mamede (Instituto de Botânica, São Paulo), especialista na taxonomia da família Malpighiaceae. Ramos com caracteres reprodutivos e vegetativos das plantas foram herbarizados e encontram-se depositados no herbário UEC para posteriores confirmações das identificações das espécies.

Tabela 1. Relação das espécies estudadas com respectivos locais de coleta, tipo de vegetação do local (Veg.) e número do coletor (colet.), sendo L- Lombello e FM- Forni-Martins.

Espécie	Localidade	Veg.	colet.
<i>Banisteriopsis campestris</i> (A. Juss.) Little	Carrancas-MG	Cerrado	L.36
<i>Banisteriopsis laevifolia</i> (A. Juss.) Gates	Itirapina-SP	Cerrado	FM
<i>Banisteriopsis pubipetala</i> (A. Juss) Cuatrecasas	Mata Sta. Genebra, Campinas-SP	Mata semidecídua	L.47
<i>Banisteriopsis stellaris</i> (Griseb.) Gates	Itirapina-SP	Cerrado	L.61
<i>Banisteriopsis variabilis</i> Gates	Itirapina-SP	Cerrado	FM
<i>Banisteriopsis</i> sp.	Carrancas-MG	Cerrado	L.34
<i>Bunchosia armeniaca</i> (Cav.) Rich.	Barão Geraldo, Campinas-SP	Cultivada	L.49
<i>Byrsonima intermedia</i> A. Juss.	Itirapina-SP	Cerrado	L.66
<i>Camarea ericoides</i> St. Hill.	Carrancas-MG	Cerrado	L.36
<i>Dicella bracteosa</i> (A. Juss.) Griseb.	Mata Sta. Genebra, Campinas-SP	Mata semidecídua	L.10
<i>Galphimia brasiliensis</i> (L.) A. Juss.	Campus UNICAMP, Campinas-SP	Cultivada	L.50
<i>Heteropterys anoptera</i> A. Juss.	Carrancas-MG	Mata semidecídua	L.43
<i>Heteropterys chrysophylla</i> (Lam.) Kunth	Campus UNICAMP, Campinas-SP	Cultivada	L.52
<i>Heteropterys pteropetala</i> A. Juss.	Itirapina-SP	Cerrado	L.51
<i>Heteropterys</i> sp.	Mogi-Mirim-SP	Cerrado	L.30
<i>Janusia guaranitica</i> (St. Hill) A. Juss.	Americana-SP	Cultivada	L.71
<i>Lophanthera lactescens</i> Ducke	Campus UNICAMP, Campinas-SP	Cultivada	L.48
<i>Mascagnia anisopetala</i> (A. Juss.) Griseb.	Mata Sta. Genebra, Campinas-SP	Mata semidecídua	L.17
<i>Mascagnia cordifolia</i> (A. Juss.) Griseb.	Mata Sta. Genebra, Campinas-SP	Mata semidecídua	L.26
<i>Mascagnia sepium</i> (A. Juss.) Griseb.	Mata Sta. Genebra, Campinas-SP	Mata semidecídua	L.21
<i>Peixotoa tomentosa</i> A. Juss.	Carrancas-MG	Cerrado	L.39
<i>Tetrapteryx phlomoides</i> (Sprengel) Niedenzu	Mogi-Mirim-SP	Cerrado	L.29
<i>Tetrapteryx</i> sp.	Mogi-Mirim-SP	Cerrado	L.15

2.Objetivos

O presente trabalho tem como objetivos:

- 1- Ampliar o conhecimento de números cromossômicos para espécies de Malpighiaceae.
- 2- Apresentar dados cariomorfológicos como medidas dos cromossomos e posição dos centrômeros para algumas espécies de Malpighiaceae.
- 3- Comparar os dados obtidos para espécies e gêneros próximos procurando inferir a sequência evolutiva dos kariótipos apresentados.
- 4- Analisar a relação entre a distribuição dos números cromossômicos e as organizações taxonômicas baseadas em aspectos morfológicos.
- 5- Investigar a ocorrência de anormalidades no processo de divisão meiótico.
- 6- Investigar a possível ocorrência de alterações estruturais que expliquem possíveis variações de tamanho de cromossomos entre diferentes espécies de Malpighiaceae.
- 7- Estabelecer uma relação entre as variações de número cromossômico intra e inter genéricos e a derivação do hábito trepador, bem como do tipo de fruto na família.

CAPÍTULO I

Citogenética de doze espécies de Malpighiaceae Juss.
do sudeste do Brasil

Citogenética de doze espécies de Malpighiaceae Juss. do sudeste do Brasil

Ricardo A. Lombello e Eliana R. Forni-Martins, Depto. de Botânica, IB/UNICAMP

Abstract: The family Malpighiaceae shows great chromosome number diversity, with polyploidy and disploidy between and within species. Cytological studies have played an important role in the taxonomy of Malpighiaceae. In the present work we studied twelve species with its chromosome numbers, karyomorphological characters and chromosomal ideogram presented for seven species. The chromosomes are predominantly small and metacentric. No meiotic abnormalities were found, with high viable pollen index. We analyzed the relationship between the taxonomic distribution of taxa and the distribution of chromosome numbers in Malpighiaceae species.

Introdução - A família Malpighiaceae é composta por aproximadamente 71 gêneros e 1250 espécies, das quais 950 (pertencentes a 41 gêneros) estão distribuídas preferencialmente pelo Novo Mundo (Makino-Watanabe 1988). As Malpighiaceae apresentam em geral hábito trepador, podendo ser encontradas também árvores e arbustos (Robertson 1972). Taxonomicamente a família encontra-se dividida em duas sub-famílias; Malpighioideae e Byrsonimoideae. Malpighioideae apresenta em geral espécies trepadeiras com frutos alados, enquanto Byrsonimoideae apresenta, em geral, espécies arbustivo-arbóreas com frutos drupáceos.

Em virtude da extensa amplitude ecológica e geográfica, a família Malpighiaceae apresenta uma grande diversidade de hábitos, frutos e grãos de pólen (Makino-Watanabe 1988), além de uma notável variedade de registros de número cromossômico. Segundo Ormond *et al.* (1981), os números cromossômicos registrados para a família Malpighiaceae são $n=6, 9, 10, 11, 12, 17, 19, 20, 21, 26, 27, 28, 29$ e 42. Singhal *et al.* (1985) também citaram para a família uma grande diversidade cromossômica, que envolvia poliploidias e dispoloidias inter e intra-específicas. Há na literatura registros de variações de número cromossômico intra-genéricas e mesmo intra-específicas (Tabela 10). Além da variação numérica, os poucos trabalhos que apresentam dados

cariomorfológicos indicam uma variação considerável no tamanho e na morfologia cromossômica (Riley e Hoff 1961, DiFulvio 1979, Deyar e Boraiah 1981, Lombello e Forni-Martins 1998).

Trabalhos desenvolvidos na área de citotaxonomia têm sido de grande utilidade no posicionamento taxonômico das espécies de Malpighiaceae, como o apresentado por Anderson (1993), que posicionou os gêneros *Bunchosia*, *Dicella* e *Thryallis* na sub-família Malpighioideae, baseando-se em seus números cromossômicos. Em virtude disto, além da contribuição para o conhecimento citológico de Malpighiaceae, objetivamos neste trabalho analisar a relação entre as organizações obtidas através de estudos citológicos e as distribuições taxonômicas baseadas em aspectos morfológicos e biogeográficos.

Materiais e Métodos - Foram utilizados sementes e botões florais de espécies de Malpighiaceae coletadas em áreas de cerrado (Mogi-Mirim-SP, Itirapina-SP, Carrancas-MG), de floresta (mata de Santa Genebra, Campinas-SP), além de indivíduos cultivados no distrito de Barão Geraldo, Campinas-SP. Ramos com caracteres reprodutivos e vegetativos das plantas foram herbarizados e encontram-se depositados no herbário UEC (Figura 1, Tabela 1). Para as análises de células em metáfase foram utilizadas raízes germinadas em placas de Petri. Estas radículas foram pré-tratadas com PDB (Paradiclorobenzeno em solução saturada) por um período entre 3 e 5 horas, à temperatura de 16 a 18°C, sendo posteriormente fixadas em solução de Carnoy (álcool : ácido acético, 3:1, v/v).

Na preparação das lâminas de mitose foi utilizada a técnica de coloração com Giemsa, segundo Guerra (1983). Para a análise de células em divisão meiótica, bem como a viabilidade dos pólenes, foram utilizados os botões florais em diferentes estádios, fixados em solução de Carnoy. Anteras foram maceradas com o corante Carmim acético 1,2%. Analisamos as células mães de pólen, localizadas no tecido esporígeno. As observações foram feitas em microscópio de luz. Dez metáfases mitóticas de cada espécie estudada foram desenhadas em câmara clara. Baseados nestes desenhos foram calculados os índices relativos dos cromossomos: CTC (comprimento total cromatínico) e TF% (relação entre o comprimento total dos braços curtos dos cromossomos e o CTC). Para as

espécies onde foram possíveis os cálculos destes índices, elaborou-se os ideogramas cromossômicos (Figura 3). A classificação dos cromossomos seguiu a nomenclatura proposta por Levan *et al.* (1964) modificada por Guerra (1986).

Resultados – Foram obtidos os números cromossômicos de doze espécies de Malpighiaceae, sendo que para *Byrsonima intermedia*, *Camarea ericoides*, *Mascagnia sepium* e *Tetrapteryx* sp. foram observados apenas os números haplóides. Para *Bunchosia armeniaca*, *Galphimia brasiliensis*, *Janusia guaranitica*, *Mascagnia cordifolia* e *Tetrapteryx phlomoides* foram observados apenas os números diplóides. Para *Dicella bracteosa*, *Mascagnia anisopetala* e *Peixotoa tomentosa* foram observados os números haplóides e diplóides (Tabela 1, Figura 2).

Para seis das espécies estudadas as contagens observadas são inéditas (Tabela 1). As populações das espécies analisadas não tinham sido objeto de estudo citológico, excetuando-se *Mascagnia anisopetala*, com número diplóide apresentado por Lombello e Forni-Martins (1998). Além do número haplóide encontrado para *Mascagnia anisopetala*, foram observadas também as medidas de seus cromossomos (Tabela 2), possibilitando a confecção de seu ideograma e complementando o trabalho de Lombello e Forni-Martins (1998).

Excetuando-se *Bunchosia armeniaca*, *Dicella bracteosa* e *Galphimia brasiliensis*, todas as espécies estudadas possuem cromossomos relativamente pequenos (Figura 2 e 3, Tabelas 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 e 9). Nas espécies estudadas de *Galphimia* e *Bunchosia* os cromossomos maiores medem, em média, 8,4µm e 5,1µm respectivamente (Tabelas 2, 4 e 5). Para *Dicella bracteosa* observamos que os cromossomos são um pouco maiores do que os observados nas quatro outras espécies, não sendo no entanto valores consideravelmente discrepantes (Figura 2).

Como característica geral nota-se a predominância de cromossomos metacêntricos nos ideogramas (Tabela 2, Figura 3). Os índices calculados para as espécies com células em metáfase mitótica estudadas (CTC e TF%) são apresentados na Tabela 2, com suas respectivas fórmulas cariotípicas e variação do comprimento dos cromossomos.

Não foram observadas anormalidades no processo meiótico das espécies estudadas (Figura 2), com as seguintes taxas de viabilidade de pólen aferidas: *Byrsonima intermedia* (96,53% viáveis), *Camarea ericoides* (94,4%), *Dicella bracteosa* (95,54%), *Mascagnia sepium* (88,86%), *Peixotoa tomentosa* (92,62%),

Discussão – As variações de números cromossômicos para uma espécie, ou para espécies de um mesmo gênero, serão discutidas dentro das respectivas sub-tribos, tribos e sub-famílias, segundo o sistema de classificação proposto por Niedenzu (1928) para a família, modificada por Morton (1968), Anderson (1977, 1993) e Vogel (1990). Neste arranjo, duas sub-famílias são consideradas: Malpighioideae e Byrsonimoideae.

Contagens para a sub-família Malpighioideae – Esta sub-família encontra-se dividida em 5 tribos, havendo relatos de números cromossômicos para Banisterieae, Hiptageae, Gaudichaudieae e Tricomarieae (Tabela 10). Dentre os gêneros com maior número de espécies estudadas, apenas *Camarea* não apresentou número cromossômico múltiplo de 5 (Tabela 10).

Apenas um número cromossômico aqui aferido divergiu dos dados anteriormente relatados, que foi $2n=40$ para *Janusia guaranitica*, diferindo do relatado por Anderson (1993), que indicava $n=19$ para a espécie (Tabela 10). Todas as contagens apresentadas para o gênero indicam uma série poliplóide baseada em $x=10$. A contagem $n=19$ de Anderson (1993) para *Janusia guaranitica* poderia ser considerada uma provável derivação por disploidia de $2n=40$ aqui observado.

Bunchosia armeniaca apresenta contagem $2n=60$, sendo um dos vários casos de poliploidia observados na família (Tabela 10). Há apenas uma contagem para o gênero *Bunchosia* na literatura, que é *Bunchosia montana* com $n=20$ (Anderson 1993), também um poliplóide. Anderson (1993) posiciona *Bunchosia* na sub-família Malpighioideae, e seu possível número cromossômico baseado em $x=10$ parece confirmar esta colocação, embora o tamanho de seus cromossomos, relativamente grandes (Tabelas 2 e 4), seja distinto do apresentado para os cromossomos dos outros gêneros de Malpighioideae. A tribo a qual pertence o gênero ainda não foi estabelecida (Tabela 10).

Camarea ericoides, com $n=17$, parece ter se originado de uma aneuploidia, a partir de um ancestral com $n=20$, como indica o estudo comparativo de Anderson (1993)

com os gêneros *Camarea* e *Aspicarpa* ($n=20$ ou 40). O resultado aqui aferido concorda com o obtido por Anderson (1993) para a espécie, sendo também o mesmo das outras três espécies estudadas por este autor (Tabela 10). Embora este número cromossômico seja divergente dos apresentados para a sub-família Malpighioideae e, aparentemente, similares aos da sub-família Byrsonimoideae, em sua revisão taxonômica do gênero, Mamede (1990) posiciona *Camarea* na sub-família Malpighioideae, tribo Gaudichaudieae, sendo ratificada por Anderson (1993).

Dicella bracteosa, com $n=10$ e $2n=20$, apresentou contagem condizente com a apresentada por Anderson (1993) para a mesma espécie (Tabela 10), sendo coerente com as contagens obtidas em literatura para a sub-família Malpighioideae. Anderson (1993) baseou-se no número $x=10$ apresentado para o gênero para incluí-lo na sub-família Malpighioideae, apesar de apresentar frutos não alados. A sub-família Malpighioideae apresenta gêneros com frutos alados, característicos da sub-família, como *Banisteriopsis* e *Heteropterys*. Como *Bunchosia*, a tribo a qual pertence *Dicella* é indefinida.

Para o gênero *Mascagnia* encontrou-se uma seqüência poliplóide baseada em $x=10$ nas três espécies estudadas, sendo que o número diplóide aferido para *Mascagnia cordifolia* ($2n=40$) concorda com o número haplóide ($n=20$) apresentado por Anderson (1993) para a mesma espécie (Tabela 10).

Peixotoa tomentosa, com $n=10$ e $2n=20$ (Tabela 1), apresentou contagem condizente com as apresentadas para o gênero por Ormond *et al.* (1981), Forni-Martins (1989). Anderson (1993) apresentou $n=15$ para *Peixotoa reticulata*, mesma contagem apresentada por Forni-Martins *et al.* (1995) para uma espécie de *Peixotoa* não identificada. Seria interessante de se averiguar a similaridade entre as espécies estudadas nos dois trabalhos. Para esta espécie não identificada, Forni-Martins *et al.* (1995) verificou a existência de trivalentes em diacinese e irregularidades na disjunção cromossômica em anáfase I, além de alta taxa de grãos de pólen inviáveis. Anderson (1993) não citou nenhuma anormalidade meiótica nas 3 espécies por ele estudadas. Para o gênero *Peixotoa* podemos considerar a possibilidade do número básico ser $x=5$, o que explicaria a existência de números haplóides $n=15$.

Os números $2n=50$ para *Tetrapteryx pholomoides* e $n=10$ para *Tetrapteryx* sp. representam as primeiras contagens para o gênero. Assim como observado para o gênero *Peixotoa*, a contagem $2n=50$ representa uma provável série poliplóide baseada $x=5$.

Os números cromossômicos observados indicam que, ao invés de ratificar a hipótese de Anderson (1977), que cita $x=10$ como número básico mais significativo para a família Malpighiaceae, podemos considerar $x=10$ como um número derivado de $x=5$. Realmente números cromossômicos múltiplos de 10 são os mais frequentes na sub-família Malpighioideae (Tabela 10), ocorrendo na quase totalidade dos gêneros estudados. No entanto, embora não tenhamos registros de $2n=10$ para espécies de Malpighiaceae, encontramos alguns números cromossômicos haplóides que são múltiplos de cinco, como os observados em *Heteropteryx* ($n=15$), *Peixotoa* ($n=15$) e *Tetrapteryx* ($n=25$) (Tabela 10).

Exceções são observadas aos múltiplos de cinco, podendo indicar desde uma real variação numérica no grupo até possíveis erros de contagem.

Dentre estas variações destacam-se os gêneros *Heteropteryx* (*H. leona*, com $2n=42$, 56 e 58; *H. angustifolia* com $2n=34$), *Stigmaphyllon* (*S. ciliatum* com $2n=18$ e *S. littorales*, com $2n=22$), *Hiptage* (*H. benghalensis*, com $n=28$ e $2=58$, $56+0-1b$) e *Peregrina* (*P. linearifolia*, com $n=19$), inclusive com variações de contagem intra-específicas, e que parecem ter seus números cromossômicos derivados por displóidia crescente ou decrescente de $x=5$. Na sub-tribo Sphedamnocarpinae, tribo Banisterieae, apenas *Sphedamnocarpus pruriensis* possui número cromossômico múltiplo de cinco ($2n=20$), porém três espécies de *Acridocarpus* apresentam números múltiplos de 9 ($n=9$ e $2n=18$), o que parece ser um caráter consistente do gênero, provavelmente derivado de uma displóidia decrescente de um ancestral $n=10$.

Contagens para a sub-família Byrsonimoideae – Esta sub-família apresenta-se dividida em 3 tribos: Acmanthereae, Byrsonimeae e Galphimieae. Os números apresentados até hoje para Byrsonimoideae indicam fortemente uma sequência baseada em $x=6$ (Tabela 10). Seus cromossomos são relativamente grandes, como os de *Lophanthera lactescens* (Capítulo III). Byrsonimoideae é considerada por Anderson (1977, 1983) o grupo mais primitivo de Malpighiaceae.

O número $n=12$ encontrado para *Byrsonima intermedia*, pertencente à tribo Galphimieae, concorda com todas as contagens cromossômicas já registradas para o gênero (Tabela 10), exceto o apresentado por Nanda (1962) para *Byrsonima crassifolia*, com $2n=20$.

Para *Galphimia brasiliensis* foi aferido um número diplóide ($2n=24$, Tabela 1) condizente com os apresentados para o gênero *Galphimia*, bem como para a sub-família Byrsonimoideae, com quase todas as contagens baseadas em $x=6$ (Tabela 10). Seus cromossomos apresentam-se maiores que os observados nas outras espécies estudadas (Tabela 2).

Para a sub-família Byrsonimoideae podemos inferir o número básico $x=6$, como também supõe Bawa (1973), baseado na contagem de *Lophanthera lactescens* e dos outros números aferidos para as espécies destas sub-tribos, todos múltiplos de 6, com exceção da *Byrsonima* já citada e de *Macvaughia bahiana* ($n=10$), apresentada por Anderson (1979). Embora Forni-Martins *et al.* (1995) considerem $x=12$ o número básico para o gênero *Byrsonima*, este deve ser derivado de $x=6$.

Embora não esquecendo de que $x=10$ é o mais representativo dos números básicos, segundo argumentamos acima, devemos considerar que ele é provavelmente derivado de $x=5$, sendo este provavelmente derivado de $x=6$ através de disploidia decrescente ou aneuploidia. Este número básico $x=5$ ocorre em outras famílias pertencentes à ordem Malpighiales, como Passifloraceae, Turneraceae e Violaceae, bem como $x=6$ (Raven 1975, Watson e Dalwitz 1992). Como afirmou Anderson (1983), o número $x=6$ parece ser realmente o número cromossômico básico mais primitivo da família Malpighiaceae.

Cariomorfologia de Malpighiaceae - Dentre os poucos trabalhos que apresentam dados de cariomorfologia de espécies de Malpighiaceae, deve-se destacar o trabalho de Devar e Boraiah (1981), que apresentou detalhadamente as medidas cromossômicas e o ideograma de *Hiptage benghalensis* ($2n=58$), com cromossomos variando de $1,62\mu\text{m}$ até $3,25\mu\text{m}$. Citou também a predominância de pares sub-metacêntricos para a espécie. Riley e Hoff (1961) citaram para *Triaspis nelsonii* cromossomos pequenos, muito embora não tenham feito nenhuma menção de medida e morfologia cromossômica.

Os cromossomos das espécies estudadas são em sua maioria relativamente pequenos, como em *Mascagnia anisopetala*, variando de 1,1 a 2,0 μ m (Tabela 7), sendo que os cromossomos maiores são aproximadamente o dobro dos cromossomos menores. Apenas para *Galphimia brasiliensis* foram observados cromossomos grandes, variando de 3,8 μ m até 8,4 μ m, parecendo ser esta uma característica da sub-família Byrsonimoideae, visto que *Lophanthera lactescens* apresenta cromossomos que chegam a 11 μ m (Capítulo III). Os cromossomos observados para *Bunchosia armeniaca* (2,2-5,1 μ m) também se mostraram maiores que os apresentados pela maioria das espécies estudadas. Este dado, somado ao hábito arbóreo e a morfologia de seus frutos, pode levar a um reposicionamento do gênero *Bunchosia*, que está inserido em Malpighioideae baseado em seu número básico $x=10$, embora possua características morfológicas de Byrsonimoideae.

O comprimento total da cromatina (CTC) varia até aproximadamente 300% entre algumas espécies, como *Janusia guaranitica*. (CTC= 74,0 $\pm$ 8,64 μ m) e *Bunchosia armeniaca* (CTC= 202,2 $\pm$ 27,2 μ m). Isto se deve mais à variação de tamanho dos cromossomos do que à variação de número cromossômico entre as espécies estudadas.

Baseado em Stebbins (1971), a predominância de cromossomos metacêntricos nas fórmulas cariotípicas, além dos cariótipos simétricos indicados pelos índices TF% (Tabela 2, Figura 2), indicam um caráter primitivo dos cromossomos das espécies estudadas. Mesmo em cariótipos com predominância de cromossomos sub-metacêntricos, como o apresentado por Devar e Boraiah (1981) para *Hiptage benghalensis*, observa-se forte simetria cariotípica. Não há diferenças consideráveis entre os índices TF% das espécies da sub-família Malpighioideae e *Galphimia brasiliensis*, a única espécie de Byrsonimoideae com dados cariomorfológicos.

Referências:

- Anderson, W. R. 1977. Byrsonimoideae, a new sub-family of Malpighiaceae. *Leandra* 7: 5-18.
- 1979. Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* 11 (3): 219-223.
- 1983. *Lophanthera*, a genus of Malpighiaceae new to Central America. *Brittonia* 35: 37-41.
- 1990. The taxonomy of *Jubelina* (Malpighiaceae). *Contr. Univ. Mich. Herb.* 17: 21-37.
- 1993. Chromosome numbers of neotropical Malpighiaceae. *Contr. Univ. Mich. Herb.* 17: 21-37.
- Baker, M.A., Parfitt, B.D. 1986. Chromosome number reports 91. *Taxon* 35: 405-406.
- Baldwin, J.T. 1946. *Banisteria caapi* Spruce: its chromosomes. *Bull. Torrey Bot. Club.* 73 (3): 282-285.
- Bawa, K.S. 1973. Chromosome number of tree species of lowland tropical community. *J. Arnold. Arbor.* 54: 422-434.

- Bernardello, L.M., Stiefkens, L.B., Piovano, M.A. 1990. Números cromossômicos en dicotiledóneas Argentinas. *Bol. Soc. Argent. Bot.* 26: 149-157.
- Bir, S.S., Gill, B.S., Bedi, Y.S., Singhal, U.K. 1980. Evolutionary status of the woody taxa of Garhwal Himalaya. In P. K. Khosla (ed.), *Improvement of Forest Biomass* 81-96.
- Can, G.D., McPherson, G. 1986. Chromosome numbers of New Caledonian plants. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 73: 486-489.
- Chen, Z.Y., Huang, S.F. 1989. The karyotype of five cultivated plants. *Acta Bot. Austro Sin.* 4: 75-83.
- Devar, K.V., Boraiah, G. 1981. A note on the karyomorphology of *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz. *Current Science* 50 (20): 904-905.
- Difulvio, T.E. 1979. Número cromossômico de *Heteropteris hypericifolia* (Malpighiaceae). *Kurtziana* 12-13, : 139.
- Forni-Martins, E.R., Pinto-Maglio, C.A.F., Cruz, N.D. 1989. IOPB chromosome data I. *Int. Organ. Pl. Biosyst. Newslett (Zurich)* 13: 17.
- 1992. Biologia da reprodução em plantas de cerrado: micospogênese. *Anais 8ª Cong. SBSP*: 77-82.
- 1995. Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. *Rev. Bras. Genét.* 18 (2): 281-288.
- Gajapathy, C. 1962. Cytological observations in some dicotyledons. *Sci. Culture* 28 (8): 375-376.
- Gates, B. 1982. *Banisteriopsis, Diplopterys* (Malpighiaceae). *Flora Neotropica Monograph* 30: 237 p.
- Gill, B.S., Singhal, V.K., Bedi, Y.S., Bir, S.S. 1990. Cytological evolution in the woody taxa of Pachmarhi Hills. *J. Cytol. Genet.* 25: 308-320.
- Guerra, M.S. 1983. O uso do corante Giemsa na citogenética vegetal- comparação simples e o bandeamento. *Ciênc. Cult.* 35: 190-193.
- 1986. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan *et al.*, Short communication. *Rev. Bras. Genét.* 9 (4): 741-743.
- Kyhos, D.W. 1966. In Documented chromosome numbers of phanerogams. 4. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 57: 382-384.
- Levan, A., Fredga, K., Sandberg, A.A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas.* 52: 201-220.
- Lewis, W. H., Oliver, R. L. 1970. Chromosome numbers of phanerogams 4. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 57: 382-384.
- Lombello, R.A., Forni-Martins, E.R. 1998. Cytological studies in climbers of a Brazilian forest reserve. *Cytologia* 63: 415-420.
- Makino-Watanabe, H. 1988. Contribuição ao estudo palinológico das Malpighiaceae A. L. Jussieu do Brasil (tribo Banisterieae, sub-tribo Banisteriinae). Tese de Doutorado, UNICAMP, 214 p.
- Mamede, M.C.H. 1990. Revisão do gênero *Camarea* St-Hilaire (Malpighiaceae). *Hoehnea* 17: 1-34.
- Mangenot, S., Mangenot, G. 1958. Deuxième liste de nombres chromosomiques nouveaux chez diverses Dicotylédones et Monocotylédones d'Afrique occidentale. *Bull. Jard. Bot. (Bruxelles)* 28, 4: 315-329.
- 1962. Enquête sur les nombres chromosomiques dans une collection d'espèces tropicales. *Rev. Cyt. et Biol. Vég.* 25, 3-4: 411-447.
- Morton, C.V. 1968. A typification of some subfamily, sectional and subsectional names in the family Malpighiaceae. *Taxon* 17: 314-324.
- Nanda, P.C. 1962. Chromosome number of trees and shrubs. *J. Indian Bot. Soc.* 1, 2: 271-277.
- Nazeer, M.A., Madusoodanan, K.J. 1981. Triploidy in *Heteropteris* Kunth. Emend. Griseb. *Curr. Sci.* 50: 541.
- Niedenzu, F. 1928. Malpighiaceae. In *Das Pflanzenreich*, Engler, A. (ed.), Im Auftrage der Preuss. Akademie der Wissenschaften.
- Ormond, W.T., Silva, M.I.A., Castells, A.R.L. 1981. Contribuição ao estudo citológico de Malpighiaceae. I. Número de cromossomos. *Arch. Jard. Bot., R. J.* 25: 169-173.
- Paiva, J., Leitão, M.T. 1987. Números cromossômicos de plantas da África tropical. *Fontqueria* 14: 37-44.
- Pandey, R.M., Pal, M. 1980. In IOPB chromosome number reports LXVIII. *Taxon* 29: 544-545.
- Pal, M. 1964. Chromosome numbers in some Indian Angiosperms I. *Proc. Indian Acad. Sci., Sect B* 60, 5: 347-350.
- Raman, V.S., Kesavan, P.C. 1963. Chromosome number of some Dicotyledons. *Sci. Culture* 29, 8: 413-414.
- Raven, P.H. 1975. The bases of Angiosperm phylogeny: cytology. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 62: 724-764.

- Riley, H.P., Hoff, V. 1961. Chromosome studies in some South African dicotyledons. *Can. J. Genet. Cytol.* 3: 260-271.
- Robertson, K.R. 1972. The Malpighiaceae in the southeastern United States. *J. Arnold Arbor.* 53 (1): 101-112.
- Roy, R.P., Mishra, N.C. 1962. Cytological studies in Malpighiaceae. *Proc. 49th Indian Sci. Congr.*, pt. 3, abstracts: 335.
- Sandhu, P.S., Mann, S.K. 1988. SOCGI plant chromosome number reports- VII. *J. Cytol. Genet.* 23: 219-228.
- Sarkar, A.K., Datta, N., Chatterjee, V. 1980. In IOPB chromosome number reports LXLII. *Taxon* 29: 360-361.
- Sarkar, A.K., Datta, N., Chatterjee, V., Datta, R. 1973. In IOPB chromosome number reports XLII. *Taxon* 22: 647-654.
- Sarkar, A.K., Datta, N., Chatterjee, V., Hazra, D. 1982. In IOPB chromosome number reports LXXVI. *Taxon* 31: 576-579.
- Seavey, S. 1975. In IOPB chromosome number reports L. *Taxon* 24: 671-678.
- Semple, J. C. 1970. In Chromosome number of phanerogam 4. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 57: 382-384.
- Singhal, V.K., Gill, B.S., Bir, S.S. 1985. Cytological studies in some members of Malpighiaceae. *Cytologia* 50: 01-08.
- Snoad, B. 1955. Somatic instability of chromosome number in *Hymenocallis calathinum*. *Heredity*, 9 (1): 129-134.
- Stebbins, G.L.J.R. 1971. Chromosomal variation in higher plants. (ed.) Edward Arnold, London.
- Takagi, N. 1938. A list of chromosome number in some ornamental plants. *Bull. Miyazaki Coll. Agri. Forest* 10: 83-87.
- Vogel, S. 1990. History of the Malpighiaceae in the light of pollination ecology. *Mem. New York Bot. Gard.* 55: 130-142.
- Watson, L., Dallwitz, M.J. 1992. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification and information retrieval. Version:27th September 2000. [Http://biodiversity.uno.edu/delta](http://biodiversity.uno.edu/delta).

Tabela 1. Relação das espécies de Malpighiaceae estudadas, com respectivos números cromossômicos (n e $2n$), localidade de coleta e número de coletor (colet.), sendo L-Lombello e FM- Forni-Martins..

Espécie	n	2n	Localidade	Colet.
<i>Bunchosia armeniaca</i> *	-	60	Campinas-SP, cultivada	L.49
<i>Byrsonima intermedia</i>	12	-	Itirapina-SP	FM
<i>Camarea ericoides</i>	17	-	Carrancas-MG	L.36
<i>Dicella bracteosa</i>	10	20	Campinas-SP	L.10
<i>Galphimia brasiliensis</i> *	-	24	Campinas-SP, cultivada	L.50
<i>Janusia guaranitica</i>	-	40	Americana-SP	L.58
<i>Mascagnia anisopetala</i>	30	60	Campinas-SP	L.17
<i>Mascagnia cordifolia</i>	-	40	Campinas-SP	L.26
<i>Mascagnia sepium</i> *	10	-	Campinas-SP	L.21
<i>Peixotoa tomentosa</i> *	10	20	Carrancas-MG	L.39
<i>Tetrapteryx phlomoides</i> *	-	50	Mogi-Mirim-SP	L.29
<i>Tetrapteryx</i> sp.*	10	-	Mogi-Mirim-SP	L.15

*contagem inédita

Tabela 2. Relação das espécies com células em divisão mitótica estudadas, com respectivos comprimentos cromossômicos médios, em μ m, comprimento total cromatínico (CTC) em μ , índice TF% (Huziwara 1962) e fórmula cariotípica (m- metacêntrico, sm- sub-metacêntrico).

Espécie	comp. crom.	CTC	TF%	fórm. car.
<i>Bunchosia armeniaca</i>	$2,2 \pm 0,31 - 5,1 \pm 0,84$	$202,2 \pm 27,2$	45,10	26m+4sm
<i>Dicella bracteosa</i>	$2,0 \pm 0,22 - 3,7 \pm 0,57$	$56,4 \pm 7,84$	43,97	8m+2sm
<i>Galphimia brasiliensis</i>	$3,8 \pm 0,42 - 8,4 \pm 0,83$	$143,8 \pm 9,22$	44,08	11m+1sm
<i>Janusia guaranitica</i>	$1,1 \pm 0,14 - 2,6 \pm 0,41$	$74,0 \pm 8,64$	41,08	14m+6sm
<i>Mascagnia anisopetala</i>	$1,1 \pm 0,08 - 2,1 \pm 0,10$	$94,0 \pm 4,01$	45,95	28m+2sm
<i>Mascagnia cordifolia</i>	$1,4 \pm 0,15 - 3,2 \pm 0,67$	$80,4 \pm 8,14$	42,78	17m+3sm
<i>Tetrapteryx phlomoides</i>	$1,5 \pm 0,05 - 3,2 \pm 0,48$	$105,4 \pm 11,8$	44,20	22m+3sm

Tabela 3. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Dicella bracteosa*, com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Pares	comp. cromos.	braço menor	ic	classificação
1	3,6	1,7	47,2	metacêntrico
2	3,6	1,5	45,4	metacêntrico
3	3,1	1,2	38,7	sub-metacêntrico
4	3,0	1,4	46,6	metacêntrico
5	2,8	1,3	46,4	metacêntrico
6	2,8	1,2	42,8	metacêntrico
7	2,6	1,1	42,3	metacêntrico
8	2,5	1,1	44,0	metacêntrico
9	2,3	0,9	39,1	sub-metacêntrico
10	2,1	1,0	47,6	metacêntrico

Tabela 4. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Bunchosia armeniaca*, com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Pares	Comp. crom.	Braco menor	ic	Classificação
1	4,95	2,0	40,4	Metacêntrico
2	4,5	2,15	47,7	Metacêntrico
3	4,35	1,95	48,2	Metacêntrico
4	4,2	1,6	46,4	Metacêntrico
5	4,0	1,65	40,0	Sub-metacêntrico
6	4,0	1,75	41,2	Metacêntrico
7	3,95	1,85	44,3	Metacêntrico
8	3,8	1,45	48,6	Metacêntrico
9	3,75	1,7	38,6	Sub-metacêntrico
10	3,7	1,75	45,9	Metacêntrico
11	3,65	1,6	47,9	Metacêntrico
12	3,6	1,55	44,4	Metacêntrico
13	3,5	1,55	44,2	Metacêntrico
14	3,45	1,4	44,9	Metacêntrico
15	3,4	1,6	41,1	Metacêntrico
16	3,4	1,25	47,0	Metacêntrico
17	3,3	1,45	37,8	Sub-metacêntrico
18	3,25	1,5	44,6	Metacêntrico
19	3,2	1,45	46,8	Metacêntrico
20	3,1	1,45	46,7	Metacêntrico
21	3,1	1,35	46,7	Metacêntrico
22	3,1	1,35	43,5	Metacêntrico
23	3,0	1,35	45,0	Metacêntrico
24	2,9	0,85	29,3	Sub-metacêntrico
25	2,9	1,3	44,8	Metacêntrico
26	2,8	1,3	46,4	Metacêntrico
27	2,75	1,3	47,2	Metacêntrico
28	2,6	1,05	40,3	Metacêntrico
29	2,45	1,2	48,9	Metacêntrico
30	2,3	1,15	50,0	Metacêntrico

Tabela 5. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Galphimia brasiliensis*, com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Comp. crom.	Braço menor	ic	classificação
1	8,2	3,5	42,6	metacêntrico
2	7,55	3,4	45,0	metacêntrico
3	6,9	3,0	43,4	metacêntrico
4	6,45	2,7	41,8	metacêntrico
5	6,25	2,9	46,4	metacêntrico
6	6,05	2,75	45,4	metacêntrico
7	5,8	2,45	42,2	metacêntrico
8	5,55	2,4	43,2	metacêntrico
9	5,45	2,6	47,7	metacêntrico
10	5,1	2,5	49,0	metacêntrico
11	4,6	2,0	43,4	metacêntrico
12	4,0	1,5	37,5	sub-metacêntrico

Tabela 6. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Janusia guaranitica*, com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Comp. crom.	Braço menor	ic	classificação
1	2,55	1,3	49,0	metacêntrico
2	2,4	1,7	29,1	sub-metacêntrico
3	2,25	1,25	44,4	metacêntrico
4	2,15	1,55	27,9	sub-metacêntrico
5	2,1	1,35	35,7	sub-metacêntrico
6	2,1	1,15	45,2	metacêntrico
7	2,0	1,1	45,0	metacêntrico
8	1,95	1,15	41,0	metacêntrico
9	1,9	1,1	42,1	metacêntrico
10	1,85	1,15	37,8	sub-metacêntrico
11	1,8	1,0	44,4	metacêntrico
12	1,8	1,0	44,4	metacêntrico
13	1,7	0,95	44,1	metacêntrico
14	1,7	0,9	47,0	metacêntrico
15	1,6	1,1	31,2	sub-metacêntrico
16	1,6	0,9	43,7	metacêntrico
17	1,55	0,9	41,9	metacêntrico
18	1,5	0,75	50,0	metacêntrico
19	1,35	0,75	44,4	metacêntrico
20	1,15	0,75	34,7	sub-metacêntrico

Tabela 7. Medidas médias dos cromossomos e seus braços menores de *Mascagnia anisopetala*, com respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Comp. crom.	Braço menor	ic	classificação
1	2,0	0,95	47,5	metacêntrico
2	1,9	0,85	44,7	metacêntrico
3	1,9	0,85	44,7	metacêntrico
4	1,9	0,8	42,1	metacêntrico
5	1,8	0,75	41,6	metacêntrico
6	1,8	0,85	47,2	metacêntrico
7	1,8	0,9	50,0	metacêntrico
8	1,7	0,85	50,0	metacêntrico
9	1,7	0,8	47,0	metacêntrico
10	1,7	0,8	47,0	metacêntrico
11	1,65	0,8	48,4	metacêntrico
12	1,6	0,7	43,7	metacêntrico
13	1,6	0,7	43,7	metacêntrico
14	1,6	0,75	46,8	metacêntrico
15	1,6	0,75	46,8	metacêntrico
16	1,6	0,8	50,0	metacêntrico
17	1,6	0,8	50,0	metacêntrico
18	1,6	0,8	50,0	metacêntrico
19	1,6	0,8	50,0	metacêntrico
20	1,5	0,7	46,6	metacêntrico
21	1,45	0,6	41,3	metacêntrico
22	1,4	0,6	42,8	metacêntrico
23	1,4	0,6	42,8	metacêntrico
24	1,3	0,55	42,3	metacêntrico
25	1,3	0,5	38,4	sub-metacêntrico
26	1,2	0,4	33,3	sub-metacêntrico
27	1,2	0,6	50,0	metacêntrico
28	1,2	0,6	50,0	metacêntrico
29	1,2	0,6	50,0	metacêntrico
30	1,1	0,55	50,0	metacêntrico

Tabela 8. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Mascagnia cordifolia*, com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Comp. crom.	Braço menor	ic	classificação
1	3,0	1,3	43,3	metacêntrico
2	2,6	1,1	42,3	metacêntrico
3	2,4	1,0	41,6	metacêntrico
4	2,3	1,0	43,4	metacêntrico
5	2,2	0,9	40,9	metacêntrico
6	2,1	0,8	38,0	sub-metacêntrico
7	2,1	0,9	42,8	metacêntrico
8	2,0	0,9	45,0	metacêntrico
9	2,0	0,75	37,5	sub-metacêntrico
10	2,0	0,75	47,3	sub-metacêntrico
11	1,9	0,9	47,3	metacêntrico
12	1,9	0,9	47,3	metacêntrico
13	1,9	0,9	44,4	metacêntrico
14	1,8	0,8	44,4	metacêntrico
15	1,8	0,8	41,1	metacêntrico
16	1,7	0,7	41,1	metacêntrico
17	1,7	0,8	47,0	metacêntrico
18	1,6	0,8	50,0	metacêntrico
19	1,5	0,6	40,0	metacêntrico
20	1,4	0,6	42,8	metacêntrico

Tabela 9. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Tetrapteryx phlomoides*, com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	comp. crom.	Braço menor	ic	classificação
1	3,0	1,15	38,3	sub-metacêntrico
2	2,7	1,3	48,1	metacêntrico
3	2,55	1,1	43,1	metacêntrico
4	2,5	1,0	40,0	sub-metacêntrico
5	2,4	1,0	41,6	metacêntrico
6	2,4	1,0	41,6	metacêntrico
7	2,35	1,05	44,6	metacêntrico
8	2,3	1,05	45,6	metacêntrico
9	2,25	1,0	44,4	metacêntrico
10	2,2	1,0	45,4	metacêntrico
11	2,2	0,9	40,9	metacêntrico
12	2,1	1,0	47,6	metacêntrico
13	2,1	0,9	42,8	metacêntrico
14	2,05	0,95	46,3	metacêntrico
15	2,0	0,9	45,0	metacêntrico
16	2,0	0,85	42,5	metacêntrico
17	1,95	0,9	46,1	metacêntrico
18	1,9	0,9	47,3	metacêntrico
19	1,9	0,85	44,7	metacêntrico
20	1,8	0,7	38,8	sub-metacêntrico
21	1,75	0,85	48,5	metacêntrico
22	1,65	0,8	48,4	metacêntrico
23	1,6	0,65	40,6	metacêntrico
24	1,55	0,75	48,3	metacêntrico
25	1,5	0,75	50,0	metacêntrico

Tabela 10. Relação das espécies de Malpighiaceae com contagem cromossômica, distribuídas pelas suas respectivas tribos e sub-tribos, segundo Niedenzu (1928), com nomenclatura das sub-famílias e tribos alterada por Morton (1968), Anderson (1977, 1993) e Vogel (1990).

Sub-família	Tribo	Sub-tribo	Espécie	n	2n	Referência
Malpighioideae	Banisterieae	Banisteriinae	<i>Banisteriopsis acapulcensis</i>	10	-	Gates 1982
			<i>B. acerosa</i>	10	-	Gates 1982
			<i>B. andersonii</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>B. angustifolia</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>B. argyrophylla</i>	10	-	Gates 1982
			<i>B. caapi</i>	-	20	Baldwin 1946
			<i>B. campestris</i>	10	-	Neste trabalho
			<i>B. cipoensis</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>B. hypericifolia</i>	10	-	Gates 1982
			<i>B. laevifolia</i>	10	-	Gates 1982
			<i>B. muricata</i>	20	-	Gates 1982
			<i>B. oxyclada</i>	10	-	Gates 1982
			<i>B. pubipetala</i>	-	20	Neste trabalho
			<i>B. pulchra</i>	10	-	Gates 1982
			<i>B. stellaris</i>	-	80	Neste trabalho
			<i>B. valvata</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>B. vernoniifolia</i>	10	-	Gates 1982
			<i>Cordobia argentea</i>	9	—	Anderson 1993
			<i>Heteropterys angustifolia</i>	-	34	Semple 1970
			<i>H. anoptera</i>	-	20	Neste trabalho
			<i>H. byrsonimifolia</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>H. campestris</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>H. chrysophylla</i>	10	20	Neste trabalho
			<i>H. coleoptera</i>	10	-	Ormond <i>et al.</i> 1981
			<i>H. escalloniifolia</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>H. hypericifolia</i>	10	-	DiFulvio 1979
			<i>H. leona</i>	-	20	Mangenot e Mangenot 1962
				-	42,56	Roy e Mishra 1962
				-	58	Pal 1964
			<i>H. lundeniana</i>	-	30	Nazeer e Madusoodanan 1981
			<i>H. pteropetala</i>	-	20	Neste trabalho
			<i>H. salicifolia</i>	-	30	Chen e Huang 1989
			<i>H. sericea</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>Jubelina magnifica</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>Petxotoa glabra</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>P. hispidula</i>	10	-	Ormond <i>et al.</i> 1981
			<i>P. reticulata</i>	15	-	Anderson 1993
			<i>P. tomentosa</i>	10	20	Neste trabalho
			<i>P. sp</i>	-	30	Forni-Martins <i>et al.</i> 1989
			<i>Stigmaphyllon cilatum</i>	-	18	Snoad 1955
				-	20	Pal 1964
			<i>S. jatrophiifolium</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>S. lacunosum</i>	-	20	Pal 1964
			<i>S. lalandianum</i>	10	-	Lombello e Forni-Martins 1998
			<i>S. littorales</i>	-	22	Roy e Mishra 1962
			<i>S. paralias</i>	10	-	Ormond <i>et al.</i> 1981
			<i>S. periplocaefolium</i>	-	20	Pal 1964
				10	-	Singhal <i>et al.</i> 1985
			<i>S. retusum</i>	10	-	Anderson 1993
		Sphedamnocarpinae	<i>Acridocarpus longifolius</i>	-	18	Mangenot e Mangenot 1958
			<i>A. smeathmannii</i>	-	18	Mangenot e Mangenot 1958
			<i>A. austrocaledonicus</i>	9	-	Can e McPherson 1986
			<i>Sphedamnocarpus pruriensis</i>	-	20	Paiva e Leitão 1987

Continuação da Tabela 10

Sub-família	Tribo	Sub-tribo	Espécie	n	2n	Referência
Malpighioideae	Hiptageae	Aspidopteridiinae	<i>Hiptage benghalensis</i>	-	42, 56	Roy e Mishra 1962
				-	58	Pal 1964
				-	56+0-1b	Bir et al. 1980
				30	-	Gill et al. 1990
				28	-	Sandhu e Man 1988
			<i>Triaspis nelsonii</i>	-	20	Riley e Holf 1961
			<i>T. odorata</i>	-	20	Mangenot e Mangenot 1958
			<i>Tristellateia australis</i>	-	18	Raman e Kevasan 1963
			<i>Barnebya harleyi</i>	29(30)	-	Anderson 1993
		Mascagniinae	<i>Callaeum macropterum</i>	10	-	Baker e Parfitt 1986
			<i>C. septentrionale</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>Diacidia rufa</i>	23(24)	-	Anderson 1993
			<i>Ectopopterys soerjartoi</i>	8	-	Anderson 1993
			<i>Jubelina magnifica</i>	10	-	Anderson 1990
			<i>Mascagnia anisopetala</i>	30	-	Neste trabalho
				-	60	Lombello e Forni-Martins 1998
			<i>M. cordifolia</i>	20	-	Anderson 1993
				-	40	Neste trabalho
			<i>M. polybotrya</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>M. sepium</i>	10	-	Neste trabalho
			<i>Malpighia coccigera</i>	10	-	Sarkar et al. 1973
				-	20	Gajapathy 1962
			<i>M. glabra</i>	10	-	Bawa 1973
				20	-	Sarkar et al. 1980
				-	20	Pandey e Pal 1980
				-	40	Pal 1964
			<i>M. puniceifolia</i>	-	20	Sarkar et al. 1982
			<i>Mionandra camareoides</i>	10	-	Bernardello et al. 1990
			<i>Tetrapteryx phlomoides</i>	-	50	Neste trabalho
			<i>Tetrapteryx</i> sp.	10	-	Neste trabalho
Tricomariaeae			<i>Echinopteryx eglandulosa</i>	10,20	-	Anderson 1993
Gaudichaudieae			<i>Aspicarpa brevipes</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>A. harleyi</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>A. humilis</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>A. hyssopifolia</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>A. pulchella</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>A. schininii</i>	20	-	Anderson 1993
			<i>Camarea affinis</i>	17	-	Anderson 1993
			<i>C. axillaris</i>	17	-	Anderson 1993
			<i>C. ericoides</i>	17	-	Anderson 1993, Neste trabalho
			<i>C. hirsuta</i>	17	-	Anderson 1993
			<i>Gaudichaudia albida</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>G. chasei</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>G. cycloptera</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>G. sp. aff. cycloptera</i>	80	-	Anderson 1993
			<i>G. diandra</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>G. galeottiana</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>G. krusei</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>G. mcvaughii</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>G. sp.</i>	80	-	Anderson 1993
			<i>G. sp.</i>	80,120	-	Anderson 1993
			<i>G. subverticulata</i>	40	-	Anderson 1993

Continuação da Tabela 10

Sub-família	Tribo	Sub-tribo	Espécie	n	2n	Referência
Malpighioideae	Gaudichaudieae		<i>Janusia anisandra</i>	40	-	Anderson 1993
			<i>J. californica</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>J. gracilia</i>	20	-	Anderson 1993
			<i>J. guaranitica</i>	19	-	Anderson 1993
				-	40	Neste trabalho
			<i>J. janusoides</i>	20	-	Anderson 1993
			<i>J. lindmanii</i>	20	-	Anderson 1993
			<i>J. linearis</i>	10	-	Anderson 1993
			<i>J. mediterranea</i>	20	-	Anderson 1993
			<i>J. occhionii</i>	20	-	Anderson 1993
			<i>J. prancei</i>	20	-	Anderson 1993
			<i>J. shwannioides</i>	20	-	Anderson 1993
			<i>Peregrina linearifolia</i>	19	-	Anderson 1985
	Indeterminada		<i>Bunchosia montana</i>	20	-	Anderson 1993
			<i>B. armeniaca</i>	30	60	Neste trabalho
			<i>Dicella bracteosa</i>	10	-	Anderson 1993
				-	20	Neste trabalho
			<i>Thryallis longifolia</i>	(29)30	-	Anderson 1993
Byrsonimoideae	Galphimieae		<i>Blepharandra hypoleuca</i>	12	-	Anderson 1993
			<i>Galphimia angustifolia</i>	12	-	Anderson 1993
			<i>G. brasiliensis</i>	-	24	Neste trabalho
			<i>G. glauca</i>	6	-	Seavey 1975
				-	20	Takagi 1938
				-	24	Nanda 1962
				-	12	Kyhos 1966
			<i>G. gracilis</i>	-	24	Roy e Mishra 1962
				12	-	Lewis e Oliver 1970
			<i>G. nitida</i>	-	24	Raman e Kevasan 1963
			<i>G. angustifolia</i>	12	-	Lewis e Oliver 1970
			<i>Lophanthera lactescens</i>	6	-	Anderson 1983
				-	12	Lewis e Oliver 1970
						Neste trabalho
			<i>L. hammelii</i>	6	-	Anderson 1993
			<i>Pterandra egleri</i>	12	-	Anderson 1993
			<i>Verrucularia glaucophylla</i>	6	-	Anderson 1993
	Byrsoniminae		<i>Byrsonima basiloba</i>	12	-	Anderson 1993
			<i>B. crassifolia</i>	-	20	Nanda 1962
				12	-	Bawa 1973
			<i>B. coccolobifolia</i>	12	-	Forni-Martins et al. 1992
				-	24	Forni-Martins et al. 1995
			<i>B. intermedia</i>	12	-	Forni-Martins et al. 1992
						Neste trabalho
				-	24	Forni-Martins et al. 1995
			<i>B. macrophylla</i>	12	-	Anderson 1993
			<i>B. oblongifolia</i>	12	-	Anderson 1993
			<i>B. rigida</i>	12	-	Anderson 1993
			<i>B. sericea</i>	12	-	Anderson 1993
			<i>B. verbascifolia</i>	12	-	Forni-Martins et al. 1992
				-	24	Forni-Martins et al. 1995
			<i>Mcvaughia bahiana</i>	10	-	Anderson 1979



Figura 1. a- *Bunchosia armeniaca*, b- *Byrsonima intermedia*, c- *Camarea ericoides*, d- *Dicella bracteosa*, e- *Galphimia brasiliensis*, f- *Janusia guaranitica*, g- *Mascagnia anisopetala*, h- *M. cordifolia*, i- *M. sepium*, j- *Peixotoa tomentosa*, k- *Tetrapteryx phlomoides*, l- *Tetrapteryx* sp.

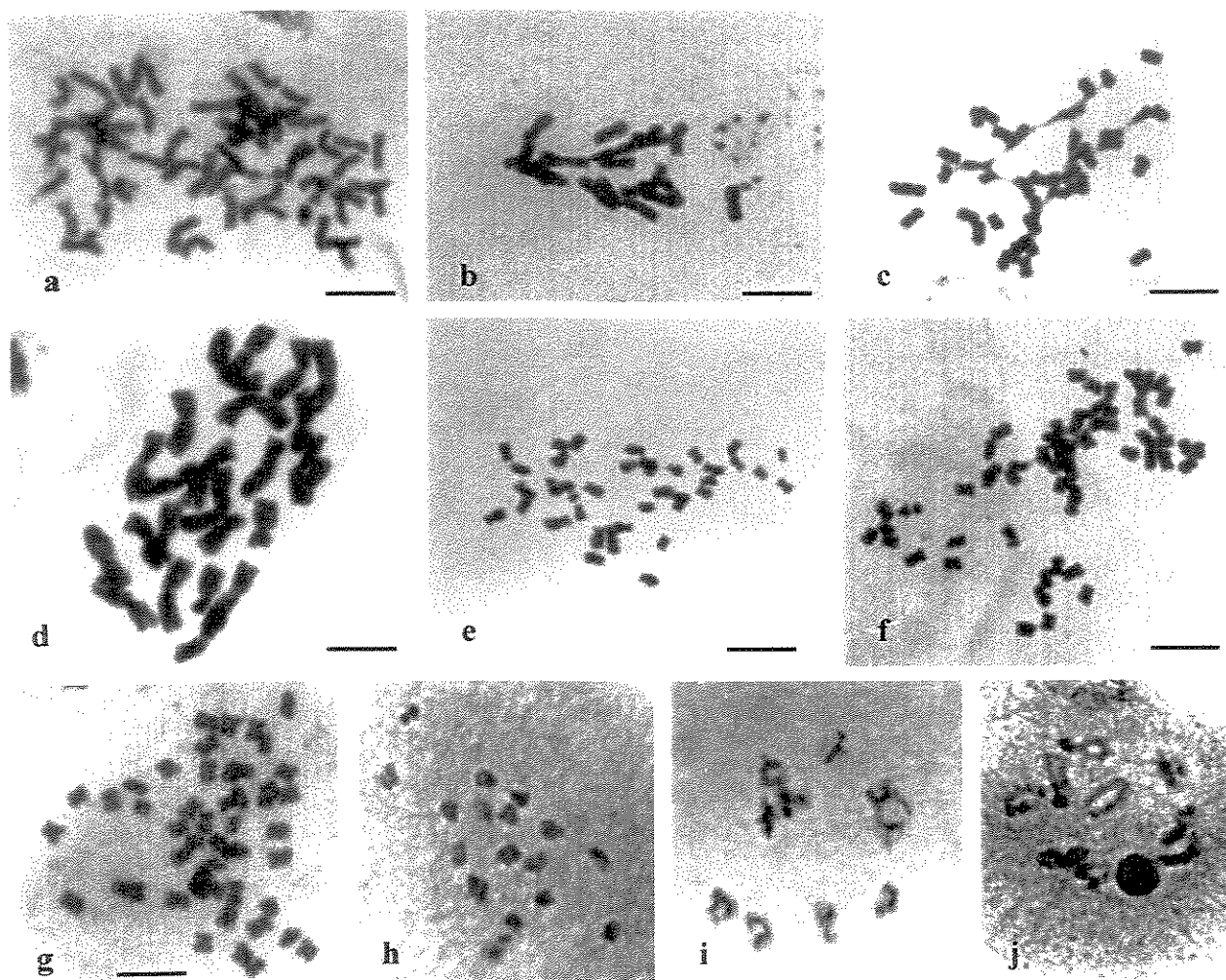


Figura 2. Células de: a- *Bunchosia armeniaca* ($2n=60$), b- *Dicella bracteosa* ($2n=20$), c- *Mascagnia cordifolia* ($2n=40$) d- *Galphimia brasiliensis* ($2n=24$), e- *Janusia guaranitica* ($2n=40$), f- *Mascagnia anisopetala* ($2n=60$), g- *Tetrapteryx phlomoides* ($2n=50$), h- *Camarea ericoides* ($n=17$), i- *Mascagnia sepium* ($n=10$), j- *Peixotoa tomentosa* ($n=10$). Barra= $5\mu\text{m}$.

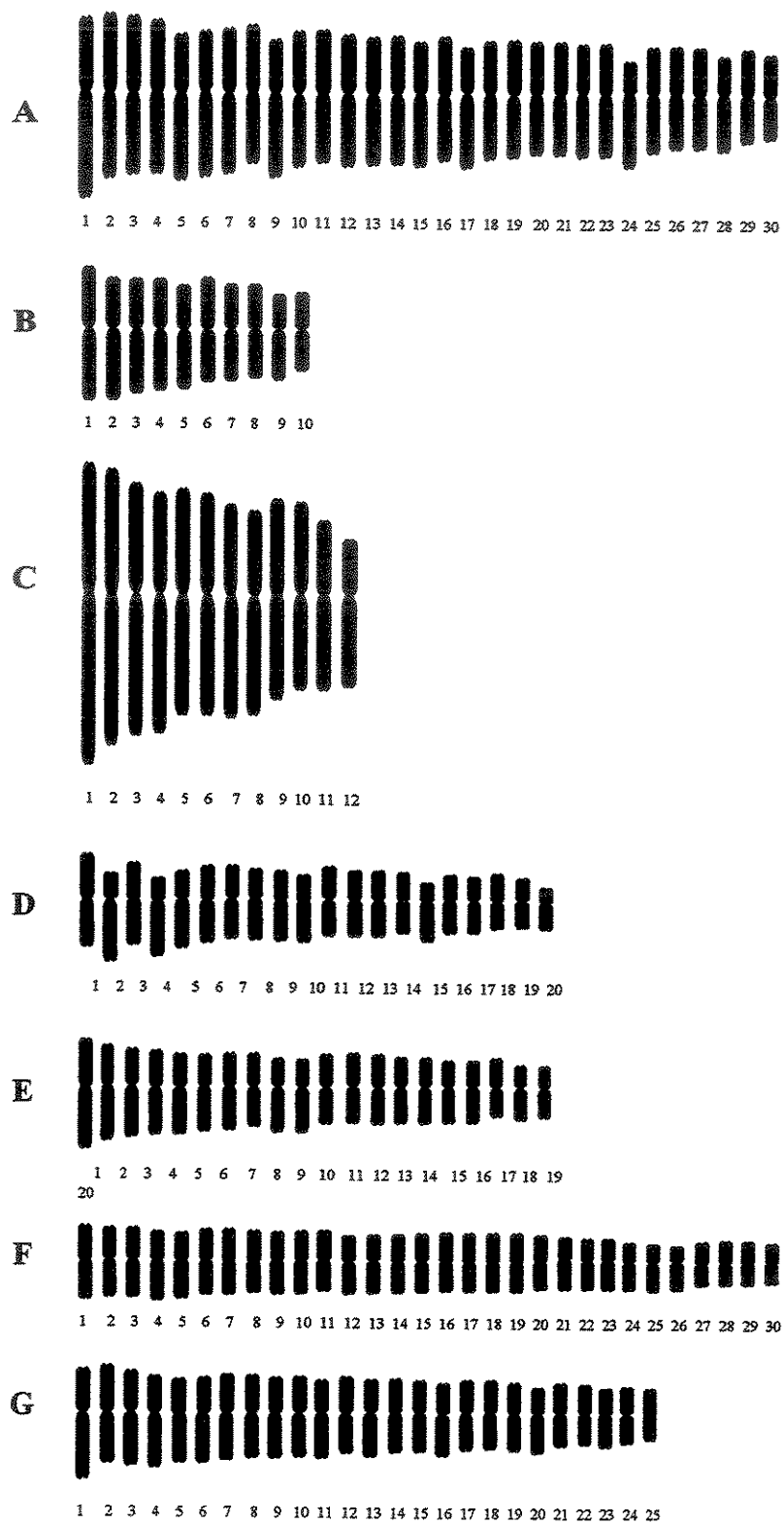


Figura 3. Ideogramas de: a) *Bunchosia armeniaca* (2n=60), b) *Dicella bracteosa* (2n=20), c) *Galphimia brasiliensis* (2n=24), d) *Janusia guaranitica* (2n=40), e) *Mascagnia cordifolia* (2n=40), f) *Mascagnia anisopetala* (2n=60), g) *Tetrapteryx phlomoides* (2n=50). Barra= 5μm.

CAPÍTULO II

Estudos cromossômicos em espécies de *Banisteriopsis* C.B. Robinson
ex Small e *Heteropterys* Kunth (Malpighiaceae).

Estudos cromossômicos em espécies de *Banisteriopsis* C.B. Robinson ex Small e *Heteropterys* Kunth (Malpighiaceae).

Ricardo A. Lombello e Eliana R. Forni-Martins. Depto. de Botânica, IB/UNICAMP

Abstract: Cytological studies were carried out in six *Banisteriopsis* and four *Heteropterys* (Malpighiaceae - Malpighioideae) species collected in forest and cerrado area of Brazilian southeast and one cultivated species. For three species of *Banisteriopsis* and three species of *Heteropterys* no previous counts are known. Chromosome counts were obtained by mitotic (seven species) and meiotic (five species) analysis. No meiotic abnormalities were found in the species studied, with high viable pollen rates. Karyomorphological characters are present for the first time for both genera, with predominance of metacentric chromosomes. The chromosome number variation, based on $x=5$ and 10, with cases of polyploidy, and the similarity between the two related genera are discussed.

Introdução – Os gêneros *Banisteriopsis* C.B. Robson ex Small e *Heteropterys* Kunth, pertencem à família Malpighiaceae, sub-família Malpighioideae, tribo Banisterieae, sub-tribo Banisteriinae (Anderson 1977). Niedenzu (1928) considerou estes gêneros bastante próximos, separando-os pela morfologia marginal das alas de suas sâmaras (Figura 1g, h). Vogel (1990) analisou as características polínicas, a morfologia, a anatomia e a fisiologia das glândulas do cálice floral de vários gêneros de Malpighiaceae. Baseado nestas observações, Vogel (1990) inferiu que *Banisteriopsis* e *Heteropterys* são dois dos gêneros mais derivados da família, visto que apresentam, em algumas de suas espécies, redução ou ausência dos elaióforos. Anderson (1979) também citou a redução destas glândulas como característica derivada dentro da família.

Banisteriopsis é representado por 94 espécies, distribuídas exclusivamente pelas Américas, preferencialmente pelos trópicos. Aproximadamente 69 espécies de *Banisteriopsis* encontram-se no Brasil, sendo que dois terços destas distribuem-se pela região de cerrado do Planalto Central (Gates 1982). O gênero é dividido em três sub-gêneros: *Banisteriopsis* (oito espécies), *Hemiramma* (58 espécies) e *Pleiopterys* (26

espécies). São em geral plantas arbustivas, podendo no entanto apresentar também espécies lianas, sub-arbustos e até mesmo árvores pequenas (Gates 1982). É considerado taxonomicamente um dos gêneros mais complexos da família Malpighiaceae (Makino-Watanabe *et al.* 1993).

Existem dados citológicos para apenas 17 espécies de *Banisteriopsis* na literatura, sendo que uma delas não foi devidamente identificada (Forni-Martins *et al.* 1995). O número cromossômico das espécies estudadas parece ser estável ($n=10$), não havendo na literatura dados a respeito da morfologia cromossômica do gênero.

O gênero *Heteropterys* Kunth é composto por 81 espécies de lianas e raramente arbustos eretos, com flores amarelas e frutos samaróides (Niedenzu 1928). Embora seja um dos gêneros com maior número de espécies dentro da família Malpighiaceae, apenas nove destas apresentam contagem cromossômica na literatura. Estas espécies apresentam uma sequência numérica baseada em $x=5$, embora duas espécies apresentem contagens divergentes: *H. angustifolia* ($2n=34$) e *H. leona* ($2n=42, 56$ e 58). Não há dados de cariomorfologia para nenhuma das espécies estudadas do gênero.

O presente trabalho visa incrementar o conhecimento citológico dos gêneros *Banisteriopsis* e *Heteropterys*, apresentando algumas contagens cromossômicas inéditas e caracteres cariomorfológicos para algumas das espécies estudadas. Além disto, baseado nos números cromossômicos obtidos e nos dados cariotípicos observados, procuramos comparar citologicamente algumas espécies destes gêneros, considerados próximos e bastante derivados dentro da família.

Materiais e Métodos: Foram utilizados sementes e botões coletados em áreas de cerrado (Itirapina-SP, Carrancas-MG e Mogi-Mirim-SP), mata semidecídua (Sta. Genebra, Campinas-SP) e cultivadas (Campus da UNICAMP). Materiais herbarizados para identificação das espécies estão depositados no Herbário UEC (Tabela 1, Figura 1).

Para as análises de células em mitose foram utilizadas pontas de raízes de sementes recém germinadas em placas de Petri, pré-tratadas com PDB (Paradiclorobenzeno em solução saturada), fixadas em solução de Carnoy 3:1 (álcool: ácido acético, v/v). Na preparação das lâminas foi utilizada a técnica de Giemsa modificada (Guerra 1983). Para contagem cromossômica foram analisadas cerca de 20

células metafásicas por espécie. Foram calculados os índices CTC (comprimento total de cromatina) e TF% (Huziwara 1962) baseados em 10 células metafásicas de cada espécie, desenhadas em câmara clara. Os cromossomos foram classificados segundo nomenclatura proposta por Guerra (1986a).

Para observação de células em meiose, bem como da viabilidade dos grãos de pólen, foram coletados botões florais em diferentes estádios de desenvolvimento e fixados em Carnoy. As preparações citológicas foram obtidas através do esmagamento de anteras com Carmim acético (Medina e Conagin 1964). Observou-se em média 10 células em divisão meiótica para cada espécie. Para *B. laevifolia* foram observados 347 grãos de pólen, para *B. variabilis* observou-se 372 grãos, para *B. stellaris* 712 grãos e para *Heteropterys chrysophylla* 205 grãos.

Resultados: *Banisteriopsis* - Foram obtidos quatro números cromossômicos diferentes ($n=10$, $n=20$, $n=40$ e $2n=30$) para as seis espécies estudadas (Tabela 1). Caracteres cariomorfológicos, como as medidas dos cromossomos, a posição do centrômero e as respectivas fórmulas cariotípicas (Tabela 1) foram utilizadas para a confecção dos ideogramas cromossômicos das espécies *B. stellaris*, *B. pubipetala* e *Banisteriopsis* sp. (Figura 3). Os cromossomos observados são relativamente pequenos, embora *B. pubipetala* apresente cromossomos maiores, com $3,85\mu\text{m}$ em média, valor este que pode ser considerado mediano dentre os observados para as espécies de Malpighiaceae.

Foram observados cromossomos predominantemente metacêntricos (Figura 2). A variação do comprimento destes foi gradual (Tabelas 2, 3 e 4), sendo que os maiores cromossomos foram observados em *B. pubipetala* (Tabela 1, Figuras 2 e 3).

Nas observações de células em divisão meiótica não foi constatada qualquer tipo de anormalidade no processo, sendo alto o índice de grãos de pólen viáveis: *B. laevifolia* com 90,3% de pólen aparentemente viáveis, *B. variabilis* com 92,7% e *B. campestris* com 95,7%. Apenas *B. stellaris* apresentou índice inferior, com 65,9%, embora nenhuma anormalidade meiótica tenha sido observada.

Heteropterys - Foram obtidos dois números cromossômicos diferentes ($n=10$, $2n=30$) (Tabela 1). Os cromossomos são um pouco maiores que os observados para

Banisteriopsis, sendo os maiores observados em *H. chrysophylla*, com 3,8µm, e os menores observados em *H. pteropetala*, com 1,6µm (Tabela 1). A variação de comprimento dos cromossomos foi gradual para as espécies estudadas (Tabelas 5, 6 e 7). Nas observações de células em divisão meiótica de *H. chrysophylla*, não foram constatadas anormalidades, sendo que o índice de pólen viáveis é 96,5%.

Discussão: A alta taxa de viabilidade dos pólen observada parece indicar que o processo de divisão meiótica nos gêneros *Banisteriopsis* e *Heteropterys* transcorre sem problemas, embora *B. stellaris* tenha apresentado viabilidade média (65,9%). Singhal *et al.* (1985) apresentaram dados divergentes dos apresentados acima para *B. laevifolia*, bem como indicaram que meiose normal parece não ser a regra para a maioria das espécies de Malpighiaceae estudadas por eles, como *Stigmaphyllon ciliatum*, *Hiptage benghalensis* e *Banisteriopsis laevifolia* que apresentaram, respectivamente, 59, 56 e 53% de viabilidade dos pólen. Forni-Martins *et al.* (1992) apresentaram dados de anormalidades meióticas, como formação de trivalentes e disjunção cromossômica irregular, ocorrendo em *Peixotoa*. Já para *Stigmaphyllon lalandianum*, Lombello e Forni-Martins (1998) registraram a alta taxa de 91,1% de pólen viáveis e 100% de tétrades normais, indicando meiose sem anormalidades na espécie, como no presente trabalho.

Os números cromossômicos de *Banisteriopsis* são relativamente constantes ($n=10$, Tabelas 1 e 8), apresentando quatro casos de poliploidia: *B. muricata* ($n=20$, Anderson 1993), *B. variabilis* ($n=20$), *B. pubipetala* ($2n=30$) e *B. stellaris* ($n=40$, $2n=80$), estes três últimos dados deste estudo. Dentre os dados obtidos em literatura (Tabela 8), há apenas duas espécies com contagens divergentes: *B. laevifolia* e *B. muricata*. Para *B. laevifolia* há a contagem de $n=20$ (Pal 1964) e de $n=10$ (Gates 1982, Singhal 1985), número também obtido no presente estudo. Para *B. muricata* Anderson (1993) apresentou $n=20$, que não condiz com as contagens de $n=10$ (Gates 1982) e $2n=20$ (Foüet 1966). Gates (1982) discutiu a identificação taxonômica de *B. laevifolia* por Pal (1964), a seu ver duvidosa, pois este autor não apresentou material herbarizado para posteriores identificações.

Se estas forem realmente contagens divergentes para as mesmas espécies, podemos considerar estes como casos de raças cromossômicas, como em *Duguetia*

furfuracea (Annonaceae), com três raças cariológicas em diferentes áreas de cerrado, tendo $2n=16, 24$ e 32 (Morawetz 1984), ou como em *Mikania micrantha* (Compositae), que apresenta $2n=36, 42$ e 72 em 12 populações estudadas (Maffei *et al.* 1999). Estas alterações numéricas intra-específicas, podem significar a ocorrência de um processo de especiação.

Assim como em *Banisteriopsis*, para *Heteropterys* também foi observada uma sequência baseada em $x=5$, apresentando casos de poliploidia e de variação numérica inter e intra-específica. Número igual ao apresentado para a espécie não identificada deste trabalho observa-se em *H. salicifolia*, um hexaplóide com $2n=30$ (Chen e Huang 1989). Além destes casos de poliploidia, observamos no trabalho apresentado por Semple (1970) uma possível aneuploidia em *H. angustifolia* ($2n=34$), sendo este um número heptaplóide para o gênero. Contagens divergentes intra-específicas são observadas no poliplóide *H. leona* (Tabela 8), sendo que Roy e Mishra (1962) observaram variação numérica intra-específica nesta espécie ($2n=42$ e 56).

Embora o número de espécies até hoje estudadas ainda seja pequeno em relação ao tamanho dos gêneros, o número cromossômico básico para ambos é provavelmente $x=5$, retificando o número básico $x=10$ proposto por Gates (1982) para *Banisteriopsis*.

Este número $x=5$ é coerente também com o número básico $x=10$ indicado por Anderson (1977) para toda a família Malpighiaceae, embora algumas tribos apresentem gêneros com número básico divergente, como as tribos Galphimieae e Byrsonimeae ($x=6$) da sub-família Byrsonimoideae, a sub-tribo Sphedamnocarpinae ($x=9$), da sub-família Malpighioideae (Bawa 1973, Forni-Martins *et al.* 1995) e a tribo Byrsoniminae, da sub-família Byrsonimoideae, com $x=12$ (Forni-Martins *et al.* 1992, 1995, Anderson 1993, Capítulo 1 deste trabalho).

Podemos considerar a existência de vários números básicos para a família Malpighiaceae, como $x=5, 6, 9, 10$ e 12 , reforçando a hipótese de DiFulvio (1979) e Forni-Martins *et al.* (1995).

Os cromossomos observados são predominantemente metacêntricos, com variação gradual de tamanho (Tabelas 2, 3, 4, 5, 6 e 7; Figura 3). Os cariótipos apresentados são do tipo 1A descrito por Stebbins (1971), ou seja, o conjunto cromossômico possui uma proporção média entre os braços longos e os braços curtos menor que 0,5, além de não

possuírem cromossomos acrocêntricos. Segundo Stebbins (1971), cariótipos simétricos indicam um conjunto cromossômico primitivo (Figura 3), embora assimetria não seja a única evidência de derivação cromossômica, não sendo assim um padrão fixo para a evolução de um cariótipo (Guerra 1986b). O trabalho de Vogel (1990) oferece dados concretos, baseados em características palinológicas e morfológicas, da derivação destes gêneros dentro da família.

Embora apresentem cariótipos semelhantes, com predominância de metacêntricos e ausência de acrocêntricos, o índice TF% indica uma pequena variação de simetria cromossômica entre as espécies estudadas. A espécie com cariótipo mais assimétrico é *H. chrysophylla*. *Heteropterys* sp. é a espécie com maior variação de tamanho entre seus cromossomos (1,7 a 3,4µm). *B. stellaris* possui o maior CTC aferido (Tabela 1), por ser a espécie com maior número de cromossomos (Tabela 4, Figuras 2 e 3). Embora com pequenas variações, os cariótipos das espécies estudadas de ambos os gêneros neste trabalho são bastante similares (Figura 3), tanto na variação de tamanho de seus cromossomos, quanto na posição dos centrômeros.

A princípio não há correlação entre as variações de número cromossômico e a distribuição das espécies pelos três sub-gêneros de *Banisteriopsis*, visto que para todos há contagens $n=10$, embora para o sub-gênero *Banisteriopsis* exista apenas uma contagem de número cromossômico, e para o sub-gênero *Pleyopterys* três (Tabela 8). A espécie *Banisteriopsis pubipetala* é a única originada por hexaploidia apresentada para o gênero, embora haja mais três contagens $2n=30$ para a sub-tribo Banisteriinae: *Heteropterys salicifolia* (Chen e Huang 1989), *Peixotoa reticulata* (Anderson 1993) e *Peixotoa* sp. (Forni-Martins *et al.* 1989).

A ocorrência de séries poliplóides em plantas de cerrado dos dois gêneros, como *B. laevifolia*- $n=10$, *B. variabilis*- $n=20$, *B. stellaris*- $n=40$, além de *H. anoptera* com $n=20$ e *Heteropterys* sp. com $2n=30$, indica o possível desenvolvimento de uma barreira reprodutiva entre espécies simpátricas, baseado nos níveis de ploidia destas espécies.

Faz-se necessária uma maior atenção ao estudo destes gêneros, visto que além de ferramenta taxonômica, dados cariomorfológicos podem dar elementos importantes para uma análise evolutiva mais apurada de um grupo.

Referências:

- Anderson, W.R. 1977. Byrsonimoideae, a new sub-family of Malpighiaceae. *Biotropica* 7: 5-18.
- 1979. Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* 11(3): 219-223.
- 1993. Chromosome numbers of neotropical Malpighiaceae. *Contr. Univ. Mich. Herb.* 17: 21-37.
- Baldwin, J.T. 1946. *Banisteria caapi* Spruce: it's chromosomes. *Bull. Torrey Bot. Club.* 73, 3: 282-285.
- Bawa, K. S. 1973. Chromosome number of tree species of lowland tropical community. *J. Arnold. Arbor.* 54: 422-434.
- Chen, Z.Y., Huang, S.F. 1989. The karyotype of five cultivated plants. *Acta Bot. Austro Sin.* 4: 75-83.
- Difulvio, T.E. 1979. Número cromossômico de *Heteropteris hypericifolia* (Malpighiaceae). *Kurtziana.* 12-13: 139.
- Fouët, M. 1966. Contribution à l'étude cyto-taxonomique des Malpighiacées. *Adansonia* 6 (3): 456-505.
- Forni-Martins, E.R., Pinto-Maglio, C.A., Da Cruz, N.D. 1989. IOPB chromosome data I. *Int. Organ. Pl. Biosyst. Newslett (Zurich)* 13: 17.
- 1992. Biologia da reprodução de plantas de cerrado: microsporogênese. *Ann. 8 Congr. SBSP.* 77-82.
- 1995. Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. *Rev. Bras. Genét.* 18 (2): 281-288.
- Gates, B. 1982. *Banisteriopsis, Diplopterys* (Malpighiaceae). *Flora Neotropica Monograph*, 30: 1-236.
- Guerre, M.S. 1983. O uso do corante Giemsa na citogenética vegetal- comparação simples e o bandeamento. *Ciênc. Cult.* 35: 190-193.
- 1986a. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan *et al.*, Short Communication. *Rev. Bras. Genét.* 9 (4): 741-743.
- 1986b. Introdução à citogenética geral. Guanabara Koogan S.A. (ed.) Rio de Janeiro, R.J.
- Huziwara, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosome of *Aster*. *Am. J. Bot.* 49: 116-119.
- Lombello, R.A., Forni-Martins, E.R. 1998. Cytological studies in climbers of a Brazilian Forest Reserve. *Cytologia* 63: 415-420.
- Maffei, E.M.D., Marin-Morales, M.A., Ruas, P.M., Ruas, C.F., Matzenbacher, N.I. 1999. Chromosomal polymorphism in 12 populations of *Mikania micrantha* (Compositae). *Gen. Mol. Biol.* 22 (3): 433-444.
- Makino-Watanabe, H., Melhem, T.S., Barth, O.M. 1993. Pollen morphology of *Banisteriopsis* C.B. Robinson ex Small (Malpighiaceae). *Rev. Bras. Bot.* 16 (1): 47-68.
- Mangenot, S., Mangenot, G. 1962. Enquête sur les nombres chromosomiques dans une collection d'espèces tropicales. *Rev. Cyt. Biol. Vég.* 25 (3-4): 411-447.
- Medina, D.M., Conagin, C.H.T.M. 1964. Técnica citológica. Publicação 2610. Campinas, Inst. Agron.
- Morawetz, W. 1984. Karyological races and ecology of the Brazilian *Duguetia furfuracea* as compared with *Xylopia aromatica* (Annonaceae). *Flora* 175: 195-209.
- Niedenzu, F. 1928. Malpighiaceae. In *Das Pflanzenreich*, Engler, A. (ed.), Im Auftrage der Preuss. Akademie der Wissenschaften.
- Ormond, W.T., Silva, M.I.A., Castells, A.R.L. 1981. Contribuição ao estudo citológico de Malpighiaceae. I. Número de cromossomos. *Arch. Jard. Bot.R. J.* 25: 169-173.
- Pal, M. 1964. Chromosome numbers in some Indian angiosperms. I. *Proc. Indian Acad. Sci.*, 60: 347-350.
- Roy, R.P., Mishra, N.C. 1962. Cytological studies in Malpighiaceae. *Proc. 49th Indian Sci. Congr.* (3): 335.
- Semple, J. C. 1970. In Chromosome number of phanerogam 4. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 57: 382-384.
- Singhal, V. K.; Gill, B. S.; Bir, S. S. 1985. Cytological studies in some members of Malpighiaceae. *Cytologia.* 50: 1-8.
- Stebbins, G. L. Jr. 1971. Chromosomal variation in higher plants. (ed.) Edward Arnold, London.
- Vogel, S. 1990. History of the Malpighiaceae in the light of pollination ecology. *Mem. New York Bot. Gard.* 55: 130-142.

Tabela 1. Relação das espécies de *Banisteriopsis* e *Heteropterys* estudadas, com respectivos números cromossômicos (n e 2n), variação de comprimento dos cromossomos (Comp.), comprimento total da cromatina (CTC), índice TF%, fórmula cariotípica (F.C.) (m- metacêntrico, sm- sub-metacêntrico), número de coletor (colet.) onde L-Lombello e FM- Forni-Martins e local da coleta.

Espécie	n	2n	Comp.	CTC	TF%	F.C.	Colet	local
<i>B. campestris</i>	10	-	-	-	-	-	L.36	Carrancas-MG
<i>B. laevifolia</i>	10	-	-	-	-	-	FM	Itirapina-SP
<i>B. pubipetala</i> *	-	30	$2,0 \pm 0,29 - 3,9 \pm 0,48$	$91,3 \pm 10,27$	42,93	12m+3sm	L.47	Campinas-SP
<i>B. stellaris</i> *	40	80	$1,1 \pm 0,10 - 2,1 \pm 0,16$	$118,0 \pm 14,63$	44,3	30m+10sm	L.61	Itirapina-SP
<i>B. variabilis</i> *	20	-	-	-	-	-	FM	Itirapina-SP
<i>Banisteriopsis</i> sp.	-	20	$1,4 \pm 0,11 - 2,4 \pm 0,13$	$38,2 \pm 2,21$	45,02	10m	L.34	Carrancas-MG
<i>H. anoptera</i> *	-	20	-	-	-	-	L.43	Carrancas-MG
<i>H. chrysophylla</i> *	10	20	$2,2 \pm 0,25 - 3,8 \pm 0,33$	$59,6 \pm 5,05$	42,6	8m+2sm	L.52	UNICAMP
<i>H. pteropetala</i> *	-	20	$1,6 \pm 0,30 - 2,7 \pm 0,33$	$41,8 \pm 5,75$	45,9	9m+1sm	L.51	Itirapina-SP
<i>Heteropterys</i> sp.	-	30	$1,7 \pm 0,18 - 3,4 \pm 0,37$	$77,7 \pm 7,27$	44,30	13m+2sm	L.30	Mogi-Mirim-SP

* contagens inéditas

Tabela 2. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Banisteriopsis pubipetala*, com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Comp. crom.	Braço menor	ic	classificação
1	3,85	1,55	40,2	metacêntrico
2	3,65	1,7	46,5	metacêntrico
3	3,45	1,6	46,3	metacêntrico
4	3,4	1,3	38,2	sub-metacêntrico
5	3,35	1,6	47,7	metacêntrico
6	3,2	1,5	46,8	metacêntrico
7	3,15	1,3	41,2	metacêntrico
8	3,1	1,4	45,1	metacêntrico
9	3,0	1,5	50,0	metacêntrico
10	2,9	1,0	34,4	sub-metacêntrico
11	2,85	1,0	35,0	sub-metacêntrico
12	2,75	1,1	40,0	metacêntrico
13	2,55	1,05	41,1	metacêntrico
14	2,35	1,0	42,5	metacêntrico
15	2,1	1,0	47,6	metacêntrico

Tabela 3. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Banisteriopsis* sp., com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Conn. crom.	Braco menor	ic	Classificação
1	2,3	1,0	43,4	metacêntrico
2	2,2	1,0	45,4	metacêntrico
3	2,1	1,0	47,6	metacêntrico
4	2,0	0,9	45,0	metacêntrico
5	1,9	0,9	47,3	metacêntrico
6	1,9	0,9	47,3	metacêntrico
7	1,8	0,8	44,4	metacêntrico
8	1,7	0,8	47,0	metacêntrico
9	1,6	0,7	43,7	metacêntrico
10	1,4	0,6	42,8	metacêntrico

Tabela 4. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Banisteriopsis stellaris*, com índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Conn. cromos	Braco menor	ic	Classificação
1	2,1	1,0	47,6	metacêntrico
2	2,0	0,9	45,0	metacêntrico
3	1,9	0,7	36,8	sub-metacêntrico
4	1,8	0,6	33,3	sub-metacêntrico
5	1,8	0,8	44,4	metacêntrico
6	1,8	0,9	50,0	metacêntrico
7	1,7	0,7	41,2	metacêntrico
8	1,7	0,8	47,0	metacêntrico
9	1,7	0,8	47,0	metacêntrico
10	1,7	0,8	47,0	metacêntrico
11	1,7	0,8	47,0	metacêntrico
12	1,7	0,8	47,0	metacêntrico
13	1,6	0,7	43,7	metacêntrico
14	1,5	0,4	26,6	sub-metacêntrico
15	1,5	0,6	40,0	sub-metacêntrico
16	1,5	0,6	40,0	sub-metacêntrico
17	1,5	0,6	40,0	sub-metacêntrico
18	1,5	0,6	40,0	sub-metacêntrico
19	1,5	0,6	40,0	sub-metacêntrico
20	1,5	0,6	40,0	sub-metacêntrico
21	1,5	0,75	50,0	metacêntrico
22	1,5	0,75	50,0	metacêntrico
23	1,5	0,75	50,0	metacêntrico
24	1,5	0,75	50,0	metacêntrico
25	1,5	0,75	50,0	metacêntrico
26	1,4	0,5	42,8	metacêntrico
27	1,4	0,65	46,4	metacêntrico
28	1,4	0,65	46,4	metacêntrico
29	1,4	0,65	46,4	metacêntrico
30	1,4	0,65	46,4	metacêntrico
31	1,4	0,65	46,4	metacêntrico
32	1,2	0,45	37,5	sub-metacêntrico
33	1,2	0,6	50,0	metacêntrico
34	1,2	0,6	50,0	metacêntrico
35	1,2	0,6	50,0	metacêntrico
36	1,2	0,6	50,0	metacêntrico
37	1,2	0,6	50,0	metacêntrico
38	1,2	0,6	50,0	metacêntrico
39	1,1	0,5	45,4	metacêntrico
40	1,1	0,5	45,4	metacêntrico

Tabela 5. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Heteropterys chrysophylla*, com índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Conn. cromos.	Braco menor	ic	Classificação
1	3,7	1,7	45,9	metacêntrico
2	3,45	1,4	40,5	metacêntrico
3	3,25	1,5	46,1	metacêntrico
4	3,15	1,35	42,8	metacêntrico
5	3,0	1,25	41,6	metacêntrico
6	2,95	1,35	45,7	metacêntrico
7	2,8	1,2	42,8	metacêntrico
8	2,65	0,95	35,8	sub-metacêntrico
9	2,55	1,2	47,0	metacêntrico
10	2,3	0,8	34,7	sub-metacêntrico

Tabela 6. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Heteropterys pteropetala*, com índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Conn. cromos.	Braco menor	ic	Classificação
1	2,6	1,2	46,1	metacêntrico
2	2,45	1,2	48,9	metacêntrico
3	2,3	1,1	47,8	metacêntrico
4	2,2	0,95	43,1	metacêntrico
5	2,1	1,0	47,6	metacêntrico
6	2,0	0,9	45,0	metacêntrico
7	1,95	0,9	46,1	metacêntrico
8	1,9	0,75	39,4	sub-metacêntrico
9	1,75	0,85	48,5	metacêntrico
10	1,65	0,75	45,4	metacêntrico

Tabela 7. Medidas médias dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Heteropterys* sp., com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Conn. crom.	Braco menor	ic	classificação
1	3,3	1,5	45,4	metacêntrico
2	3,1	1,45	46,7	metacêntrico
3	3,0	1,35	45,0	metacêntrico
4	2,9	1,2	41,3	metacêntrico
5	2,8	1,2	42,8	metacêntrico
6	2,7	1,3	48,1	metacêntrico
7	2,6	1,1	42,3	metacêntrico
8	2,6	1,2	46,1	metacêntrico
9	2,5	0,9	36,0	sub-metacêntrico
10	2,4	1,1	45,8	metacêntrico
11	2,4	1,2	50,0	metacêntrico
12	2,3	0,8	34,7	sub-metacêntrico
13	2,1	0,95	45,2	metacêntrico
14	2,0	1,0	50,0	metacêntrico
15	1,8	0,8	44,4	metacêntrico

Tabela 8. Espécies de *Banisteriopsis* e *Heteropterys* com contagem cromossômica na literatura, divididas em sub-gêneros segundo Gates (1982) (*Banisteriopsis*) e Niedenzu (1928) (*Heteropterys*), com respectivos números cromossômicos (n e 2n) e referência.

Gênero	Sub-gênero	Espécies	n	2n	Referência
<i>Banisteriopsis</i>	<i>Banisteriopsis</i>	<i>B. acapulcensis</i> var. <i>llanensis</i>	10	-	Gates 1982
	<i>Hemiramma</i>	<i>B. acerosa</i>	10	-	Gates 1982
		<i>B. andersonii</i>	10	-	Anderson 1993
		<i>B. angustifolia</i>	10	-	Anderson 1993
		<i>B. argyrophylla</i>	10	-	Gates 1982
		<i>B. caapi</i>	-	20	Baldwin 1946
		<i>B. campestris</i>	10	-	Anderson 1993
					Neste trabalho
		<i>B. cipoensis</i>	10	-	Anderson 1993
		<i>B. laevifolia</i>	10	-	Gates 1982
					Singhal <i>et al.</i> 1985
					Neste trabalho
			20	-	Pal 1964
		<i>B. muricata</i>	10	-	Gates 1982
			20	-	Anderson 1993
			-	20	Foüet 1966
		<i>B. oxyclada</i>	10	-	Gates 1982
		<i>B. pulchra</i>	10	-	Gates 1982
		<i>B. stellaris</i>	40	80	Neste trabalho
		<i>B. variabilis</i>	20	-	Neste trabalho
		<i>B. vernoniifolia</i>	10	-	Gates 1982
	<i>Pleiopterys</i>	<i>B. hypericifolia</i>	10	-	Gates 1982
		<i>B. pubipetala</i>	-	30	Neste trabalho
		<i>B. valvata</i>	10	-	Anderson 1993
	Indeterminado	<i>Banisteriopsis</i> sp	-	20	Forni-Martins <i>et al</i> 1995
		<i>Banisteriopsis</i> sp	-	20	Neste trabalho
<i>Heteropterys</i>		<i>Heteropterys angustifolia</i>	-	34	Semple 1970
		<i>H. campestris</i>	10	-	Anderson 1993
		<i>H. chrysophylla</i>	10	20	Neste trabalho
		<i>H. coleoptera</i>	10	-	Ormond <i>et al.</i> 1981
		<i>H. hypericifolia</i>	10	-	DiFulvio 1979
			-	20	Mangenot e Mangenot 1962
		<i>H. leona</i>	-	42,56	Roy e Mishra 1962
			-	58	Pal 1964
		<i>H. pteropetala</i>	-	20	Neste trabalho
		<i>H. salicifolia</i>	-	30	Chen e Huang 1989
		<i>H. sericea</i>	10	-	Anderson 1993
		<i>H. escallonifolia</i>	10	-	Anderson 1993
		<i>H. byrsonimifolia</i>	10	-	Anderson 1993
		<i>H. anoptera</i>	-	20	Neste trabalho
		<i>Heteropterys</i> sp	-	30	Neste trabalho



Figura 1. a- *Banisteriopsis campestris*, b- *B. pubipetala*, c- *B. stellaris*, d- *Heteropterys anoptera*, e- *H. chrysophylla*, f- *H. pteropetala*, g- Fruto de *Banisteriopsis* sp. h- Fruto de *Heteropterys* sp.

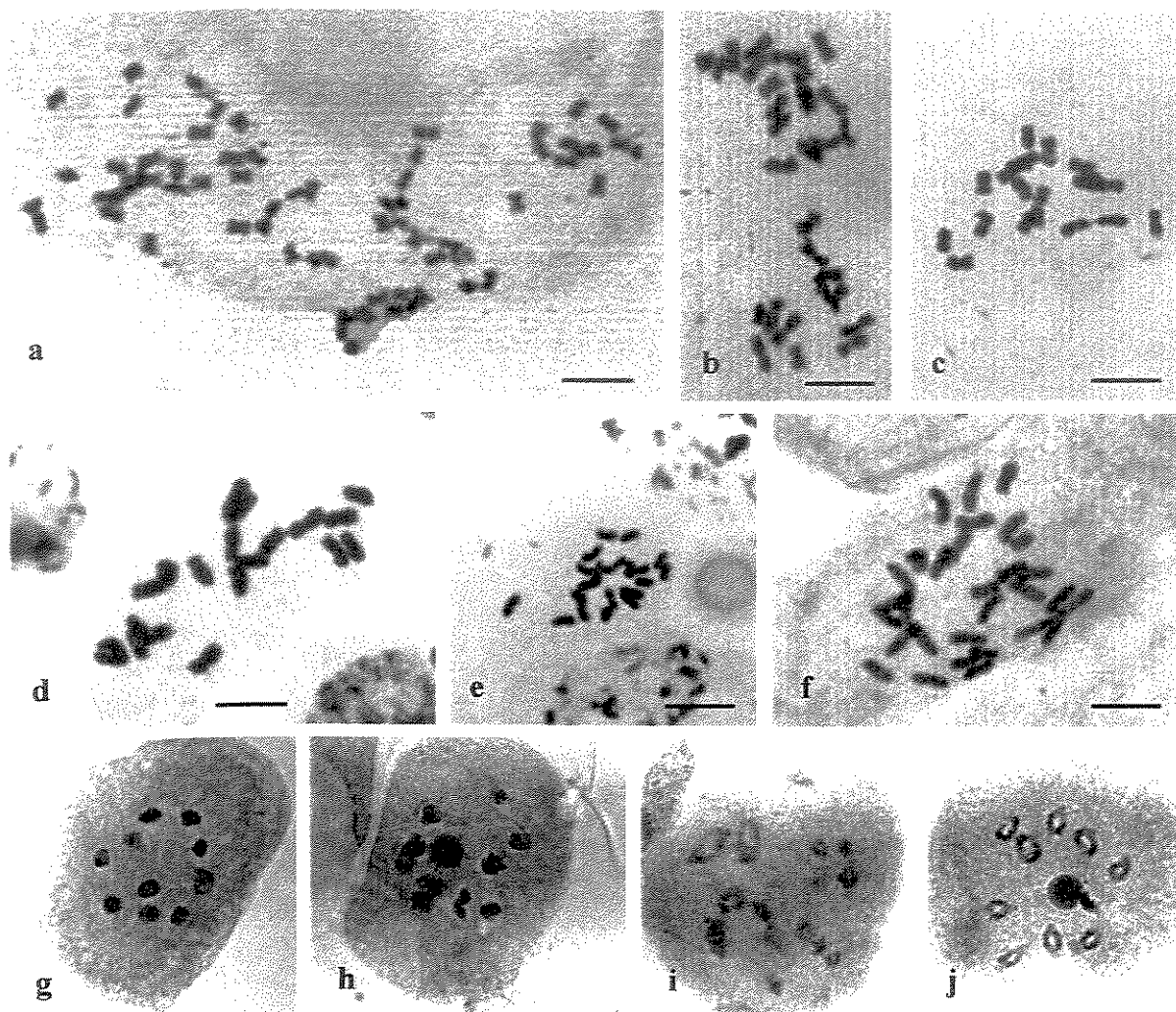


Figura 2. Células de: a- *Banisteriopsis stellaris* ($2n=80$), b- *B. pubipetala* ($2n=30$), c- *Banisteriopsis* sp. ($2n=20$), d- *Heteropterys chrysophylla* ($2n=20$), e- *H. pteropetala* ($2n=20$), f- *Heteropterys* sp. ($2n=30$), g- *B. campestris* ($n=10$), h- *B. laevifolia* ($n=10$), i- *B. variabilis* ($n=20$), j- *H. chrysophylla* ($n=10$). Barra= 5μm.

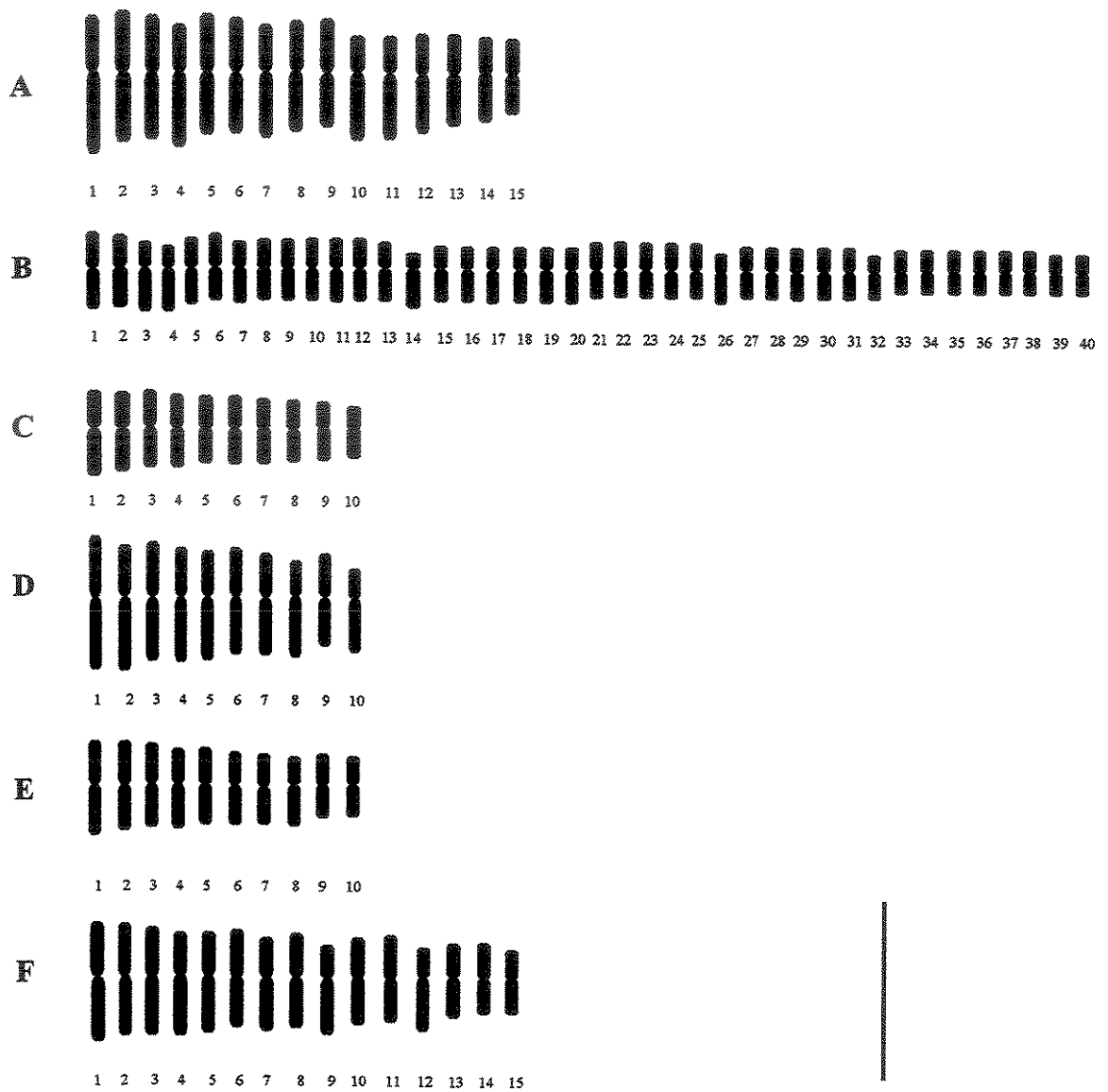


Figura 3. Ideogramas de: a) *Banisteriopsis pubipetala*, b) *Banisteriopsis stellaris*, c) *Banisteriopsis* sp., d) *Heteropterys chrisophylla*, e) *Heteropterys pteropetala*, f) *Heteropterys* sp. Barra= 5 μ m.

CAPÍTULO III

Análise cromossômica e evolutiva de *Lophanthera* Ducke
(Malpighiaceae)

Análise cromossômica e evolutiva de *Lophanthera* Ducke (Malpighiaceae)

Ricardo A. Lombello e Eliana R. Forni-Martins. Depto. de Botânica, IB/UNICAMP

Abstract - There are only two chromosome counts for *Lophanthera*, an Amazonian arboreal genus with five species that belongs to sub-family Byrsonimoideae. Cytological studies were carried out in *Lophanthera lactescens* to verify the haploid and diploid chromosome number ($n=6$, $2n=12$) of a previously unstudied population. The meiotic process was regular, with no abnormalities found. The first chromosomal ideogram for the genus was constructed, and showed a predominance of metacentric ($5m+1sm$). In order to explain the unusual increased lengths of its chromosomes ($5,3\mu m$ to $11,8\mu m$), and the primitive position of the genus in Malpighiaceae, *in situ* hibridization with a telomere probe was carried out. We observed the distribution of telomere sequences. No interstitial sequences were found, indicating no fusion or translocations of chromosome segments in karyotype evolution.

Introdução – O gênero *Lophanthera* Ducke, pertencente à família Malpighiaceae, sub-família Byrsonimoideae, tribo Galphimieae; possui cinco espécies conhecidas, sendo quatro destas exclusivamente amazônicas (Anderson 1977) e uma ocorrente na Costa Rica, América Central (Anderson 1983). São plantas de hábito arbustivo ou arbóreo, com longas inflorescências amarelas pendentes (Figura 1a). Por apresentar caracteres menos derivados como hábito arbóreo ou arbustivo, glândulas nas folhas, inflorescências tirsiformes, todas as cinco sépalas com duas glândulas abaxiais e pólen tricolpados (Anderson 1977, 1981, 1983), o gênero *Lophanthera* é tido como dos mais primitivos dentro da família Malpighiaceae.

Das cinco espécies conhecidas, duas possuem contagem de número cromossômico: *L. lactescens* e *L. hammelii*, sendo ambas $n=6$ (Lewis e Oliver 1970, Anderson 1981). O provável primitivismo de *Lophanthera* dentro da família é inferido não apenas pelos caracteres morfológicos (Anderson 1977, 1981 e 1983), como pelos caracteres cromossômicos. Juntamente com *Galphimia*, outro gênero da tribo

Galphimieae, o gênero *Lophanthera* apresenta o menor número cromossômico da família Malpighiaceae, onde podem ser encontrados até $2n=80$ em *Banisteriopsis stellaris* (Capítulo 2 deste trabalho) e $2n=58$ em *Hiptage benghalensis* (Pal 1964). A análise do tamanho e da morfologia cromossômica de *Lophanthera* é, portanto, importante para a discussão da evolução cromossômica dentro da família Malpighiaceae.

A morfologia cromossômica pode ser estudada por intermédio de técnicas variadas, sendo que a técnica de hibridação de DNA *in situ* permite a localização de seqüências específicas em cromossomos metafásicos, possibilitando a confecção de ideogramas cromossômicos mais detalhados, como o apresentado para cevada (*Hordeum vulgare*) por Leitch e Heslop-Harrison (1992). Com o uso desta técnica, visamos também detectar a distribuição das seqüências teloméricas nos cromossomos de *Lophanthera lactescens*.

Telômeros são componentes estruturais e funcionais de importância fundamental nos cromossomos. São formados por pequenas seqüências de bases nitrogenadas, em geral TTTAGGG, repetidas em *tandem* (Adams *et al.* 2000), polimerizadas pela enzima telomerase (Kilian *et al.* 1995). Funcionando como uma capa de proteção *in vivo* dos cromossomos, previnem a degradação das porções terminais dos cromossomos pelas nucleases (Wang e Lapitan 1992), inibem as fusões de cromossomos entre si, além de evitarem o encurtamento das moléculas de DNA linear, em virtude de replicações incompletas na terminação 5' pela DNA polimerase (Fuchs *et al.* 1995). O encurtamento dos telômeros, ou mesmo sua eliminação, são duas das causas principais das fusões Robertsonianas, onde dois cromossomos acrocêntricos se unem para formar um metacêntrico (Slijepcevic 1998), além de ter importante papel no processo de senescência celular (Kilian *et al.* 1995).

Utilizamos uma sonda telomérica, pois a presença de seqüências da extremidade dos cromossomos em posições intersticiais destes indica a possível ocorrência de quebras ou fusões cromossômicas. Podem indicar também a presença de sítios de quebra cromossômica, onde podem ocorrer recombinações e rearranjos cariotípicos durante o processo evolutivo da espécie, como mostrado por Schwarzacher e Heslop-Harrison (1991) para *Hordeum vulgare*. Estudos com localização de seqüências teloméricas podem ser bastante úteis nas discussões sobre a evolução dos gênero dentro das famílias.

O presente trabalho visa analisar os cromossomos de uma população de *Lophanthera lactescens* distinta da estudada por Anderson (1983), conhecendo-se assim detalhes cariomorfológicos da espécie.

Materiais e Métodos – Foram utilizados sementes e botões florais coletados de indivíduos cultivados no campus da UNICAMP, Campinas-SP. Material testemunho para identificação das espécies estão depositados no herbário UEC, com o número de coletor L48.

Para as análises de células em mitose foram utilizadas radículas de sementes recém germinadas em placas de Petri, pré-tratadas com PDB (Paradiclorobenzeno em solução saturada), fixadas em solução de Carnoy 3:1 (álcool: ácido acético, v/v). Na preparação das lâminas foi utilizada a técnica de Giemsa modificada (Guerra 1983). Para contagem cromossômica foram analisadas cerca de 20 células metafásicas. Foram calculados os índices CTC (comprimento total de cromatina) e TF% (Huziwara 1962) baseados em 10 células metafásicas desenhadas em câmara clara. Os cromossomos foram classificados segundo nomenclatura proposta por Guerra (1986).

Para observação de células em meiose bem como da viabilidade dos grãos de pólen foram coletados botões florais em diferentes estádios de desenvolvimento fixados em Carnoy. As preparações citológicas foram obtidas através do esmagamento de anteras com Carmim acético 1,2% (Medina e Conagin 1964). Foram observados 435 grãos de pólen e 10 células mãe de pólen em metáfase meiótica.

Para os procedimentos de hibridação *in situ*, lâminas foram preparadas com pontas de raízes digeridas em solução de tampão citrato contendo 2% de celulase e 20% de pectinase líquida por 1 hora a 37°C, e esmagadas em ácido acético 45%. Após a retirada da lamínula em Nitrogênio líquido e secagem das lâminas em temperatura ambiente, estas foram estocadas em recipiente fechado no freezer por 1 semana. As lâminas foram tratadas com RNase, sendo que o processo de hibridação seguiu a técnica descrita por Viegas-Péquignot (1992). A sonda utilizada foi pLT11 contendo o inserto telomérico de pAtT4 de *Arabidopsis thaliana* (Richards e Ausubell 1988). A sonda foi marcada com biotina, detectada com IgG-FITC e a lâmina corada com iodeto de propídio. As análises foram feitas em fotomicroscópio de fluorescência Zeiss, sendo as melhores

células fotografadas em kodak multispeed 400 ASA.

Resultados - Foi obtido o número cromossômico haplóide e diplóide ($n=6$, $2n=12$) para a espécie *Lophanthera lactescens* (Figuras 1b e 1c). Caracteres cariomorfológicos, como as medidas dos cromossomos e a posição do centrômero, foram utilizados para a confecção do ideograma da espécie (Figura 2). Os cromossomos são grandes, variando de $5,3\mu\text{m}$ a $11,8\mu\text{m}$ em metáfase mitótica (Tabela 1, Figura 1c). São predominantemente metacêntricos (Tabela 1, Figura 1c e 2). A variação do comprimento dos cromossomos é gradual (Figura 2). A fórmula cariotípica é $5m+1sm$, sendo sub-metacêntrico o par 2. Uma constrição secundária no braço longo foi observada no par 3 (Figuras 1c, 2). O comprimento total da cromatina (CTC) é de $101,3\mu\text{m} \pm 9,28\mu\text{m}$ e o índice TF% (Huziwara 1962) é 44,8.

Na análise de células em divisão meiótica não foi observado qualquer tipo de anormalidade no processo, apenas 6 bivalentes (Figura 1b), sendo alto o índice de grãos de pólen viáveis: 93,3%. A hibridação *in situ* com sonda pLT11 para regiões teloméricas evidenciou as regiões terminais de todos os cromossomos (Figura 1d), embora com intensidades de marcação diferentes entre os braços dos cromossomos. Não foram marcadas regiões intermediárias dos cromossomos.

Discussão - As contagens cromossômicas aferidas ($n=6$, $2n=12$) concordam com os dados obtidos em literatura para a espécie *Lophanthera lactescens* ($n=6$, Anderson 1981; $2n=12$, Lewis e Oliver 1970), bem como com a outra espécie estudada: *L. hammelii*, com $n=6$ (Anderson 1981). Não há contagem para as outras três espécies conhecidas de *Lophanthera*, bem como qualquer caracter cariomorfológico é apresentado nos trabalhos anteriores com *L. lactescens*. Este é o menor número cromossômico ($2n=12$) conhecido para espécies da família Malpighiaceae. Anderson (1983) sugere que o número básico $x=6$ é provavelmente o menos derivado de Malpighiaceae, visto que *Galphimia glauca*, uma espécie bastante próxima de *Lophanthera*, apresenta contagem igual (Seavey 1975), sendo ambas pertencentes à sub-família Byrsonimoideae, considerada a mais primitiva da família.

O número básico $x=6$ ocorre também em outras famílias pertencentes à ordem

Malpighiales, como Linaceae, Passifloraceae e Violaceae (Raven 1975, Watson e Dallwitz 1992).

Outro caráter que parece indicar uma posição menos derivada para *Lophanthera lactescens* dentro da família é o tamanho de seus cromossomos (5,3-11,8 μ m), relativamente grandes quando comparados aos dados obtidos em literatura para espécies de Malpighiaceae, como *Mascagnia anisopetala*, com cromossomos variando de 1,1-2,4 μ m (Lombello e Forni-Martins 1998), ou *Hiptage benghalensis*, com variação de 1,62-3,25 μ m (Devar e Boraiah 1981). Além disto, os cromossomos apresentam-se predominantemente metacêntricos, caráter este considerado por Stebbins (1971) como menos derivado. Não há dados na literatura a respeito do tamanho dos cromossomos, bem como da morfologia destes, de gêneros taxonomicamente próximos a *Lophanthera*, como *Galphimia* e *Stachea*.

Seqüências teloméricas intersticiais estão presentes nos cromossomos de aproximadamente metade das espécies de vertebrados estudadas, no entanto não são tão comuns em plantas (Fuchs *et al.* 1995). Como uma das principais causas de fusões Robertsonianas, alterações estruturais ou funcionais nos telômeros estão envolvidas freqüentemente na evolução cariotípica dos mamíferos (Slijepcevic 1998), no entanto este não é o principal processo de evolução cariotípica nas plantas (Fuchs *et al.* 1995), e sim a poliploidia (Stebbins 1971).

Marcações de intensidades variáveis obtidas através da técnica de hibridação *in situ*, como as observadas, são comuns. No híbrido *Phaseolus vulgaris* x *P. acutifolius* alguns cromossomos não apresentaram marcações em uma das extremidades. Esta ausência de marcação pode ser também atribuída a uma concentração de sondas hibridadas abaixo do limiar de detecção (Guerra e Kenton 1996), ou a seqüências pouco repetidas.

A evolução cromossômica em geral pode-se dar tanto no sentido do aumento como da redução numérica, bem como da redução ou aumento do tamanho dos cromossomos (Stebbins 1971). A sonda pLT11, específica para regiões teloméricas, ao marcar somente as regiões terminais, parece indicar que os cromossomos de *Lophanthera lactescens* não se originaram a partir de fusões cromossômicas, ou seja, não teriam se originado por redução numérica, quebras e fusões de segmentos cromossômicos a partir

de outras espécies aparentadas, sendo provavelmente um ponto de partida para esta seqüência evolutiva dentro da família, como os caracteres morfológicos indicam. No presente estudo, a hibridação *in situ* utilizando uma sonda para seqüência telomérica ratifica que a condição cromossômica primitiva em Malpighiaceae é a presença de cromossomos grandes nos cariótipos das espécies.

Referências:

- Adams, S.P., Leitch, I.J., Bennett, M.D., Leitch, A.R. 2000. *Aloe* L., a second plant family without (TTTAGGG)_n telomeres. *Chromosoma* 109: 201-205.
- Anderson, W.R. 1977. Byrsonimoideae, a new sub-family of the Malpighiaceae. *Leandra* 7: 5-18.
- 1981. Malpighiaceae. In: B. Maguire e Col. *The Botany of the Guayana High-land* – Part XI. *Mem. New York Bot. Gard.* 32: 21-305.
- 1983. *Lophanthera* a genus of Malpighiaceae new to Central America. *Brittonia* 35 (1): 37-41.
- Devar, K.V.; Boraiah, G. 1981. A note on the karyomorphology of *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz.. *Cur. Sci.* 50: 904-905.
- Fuchs, J., Brandes, A. Schubert, I. 1995. Telomere sequence localization and karyotype evolution in higher plants. *Pl. Syst. Evol.* 196: 227-241.
- Guerra, M. S. 1983. O uso do corante Giemsa na citogenética vegetal - comparação simples e o bandeamento. *Ciênc. Cult.* 35: 190-193.
- Guerra, M.S. 1986. Reviewing the chromosome nomenclature of Levan *et al.*, Short Communication. *Rev. Bras. Genét.* 9 (4): 741-743.
- Guerra, M., Kenton, A. 1996. Distribution of telomereDNA in mitotic and polytene nuclei of anther tapetum of a tetraploid hybrid bean, *Phaseolus vulgaris* x *P. acutifolius*. *Braz. J. Genet.* 19 (2): 313-318.
- Huziwara, Y. 1962. Karyotype analysis in some genera of Compositae. VIII. Further studies on the chromosome of *Aster*. *Am. J. Bot.*, 49: 116-119.
- Leitch, I.J., Heslop-Harrison, J.S. 1992. Physical mapping of the 18S-5.8S-26S rRNA genes in barley by *in situ* hybridization. *Genome* 35: 1013-1018.
- Lewis, W. H., Oliver, R. L. 1970. In Chromosome numbers of phanerogams 4. *Ann. Miss. Bot. Gard.*, 57: 382-384.
- Lombello, R.A., Forni-Martins, E.R. 1998. Cytological studies in climbers of a Brazilian Forest Reserve. *Cytologia* 63: 415-420.
- Kilian, A., Carol, S., Kleinhofs, A. 1995. Barley telomeres shorten during differentiation but grow in callus culture. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 9555-9559.
- Medina, D. M.; Conagin, C. H. T. M. 1964. Técnica citológica. *Publicação 2610*. Campinas, Inst. Agron.
- Pal, M. 1964. Chromosome numbers in some Indian angiosperms. I. *Proc. Indian Acad. Sci.* 60: 347-350.
- Raven, P.H. 1975. The bases of Angiosperm phylogeny: cytology. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 62: 724-764.
- Richards, E.J.; Ausubel, F.M. 1988. Isolation of a higher eukaryotic telomere from *Arabidopsis thaliana*. *Cell* 53: 127-136.
- Schwarzacher, T., Heslop-Harrison, J.S. 1991. *In situ* hybridization to plant telomeres using synthetic oligomers. *Genome* 34: 317-323.
- Seavey, S. 1975. In: Chromosome numbers of phanerogams 4. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 57: 382-384.
- Sljepcevic, P. 1998. Telomeres and mechanisms of Robertsonian fusion. *Chromosoma* 107: 136-140.
- Stebbins, G. L. Jr. 1971. Chromosomal variation in higher plants. (ed.) Edward Arnold, London.
- Viegas-Péquino, E. 1992. *In situ* hybridization to chromosomes with biotinylated probes. In: Willerson D., ed. *In situ Hybridization: a Practical Approach*. Oxford University Press, IRL Press: 137-158.
- Wang, S., Lapitan, N.L.V. 1992. Characterization of telomeres in *Hordeum vulgare* chromosomes by “*in situ*” hybridization. II. Healed broken chromosomes in telotrisomic 4L and acrotrisomic 4L^{4s} lines. *Genome* 35: 975-980.
- Watson, L., Dallwitz, M.J. 1992. The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification and information retrieval. Version: 27th September 2000. [Http://biodiversity.uno.edu/delta](http://biodiversity.uno.edu/delta).

Tabela 1. Medidas dos pares de cromossomos e seus braços menores de *Lophanthera lactescens*, com seus respectivos índices centroméricos (ic) e classificação.

Par	Comp. cromos.	Braço menor	ic	Classificação
1	11,3	5,5	48,6	metacêntrico
2	9,45	3,7	39,1	sub-metacêntrico
3	8,35	3,4	40,7	metacêntrico
4	8,1	3,9	48,1	metacêntrico
5	7,5	3,75	50,0	metacêntrico
6	5,6	2,3	41,0	metacêntrico

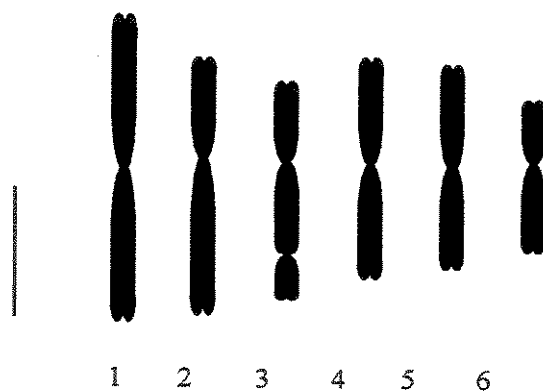


Figura 2. Ideograma de *Lophanthera lactescens*. Barra= 5µm

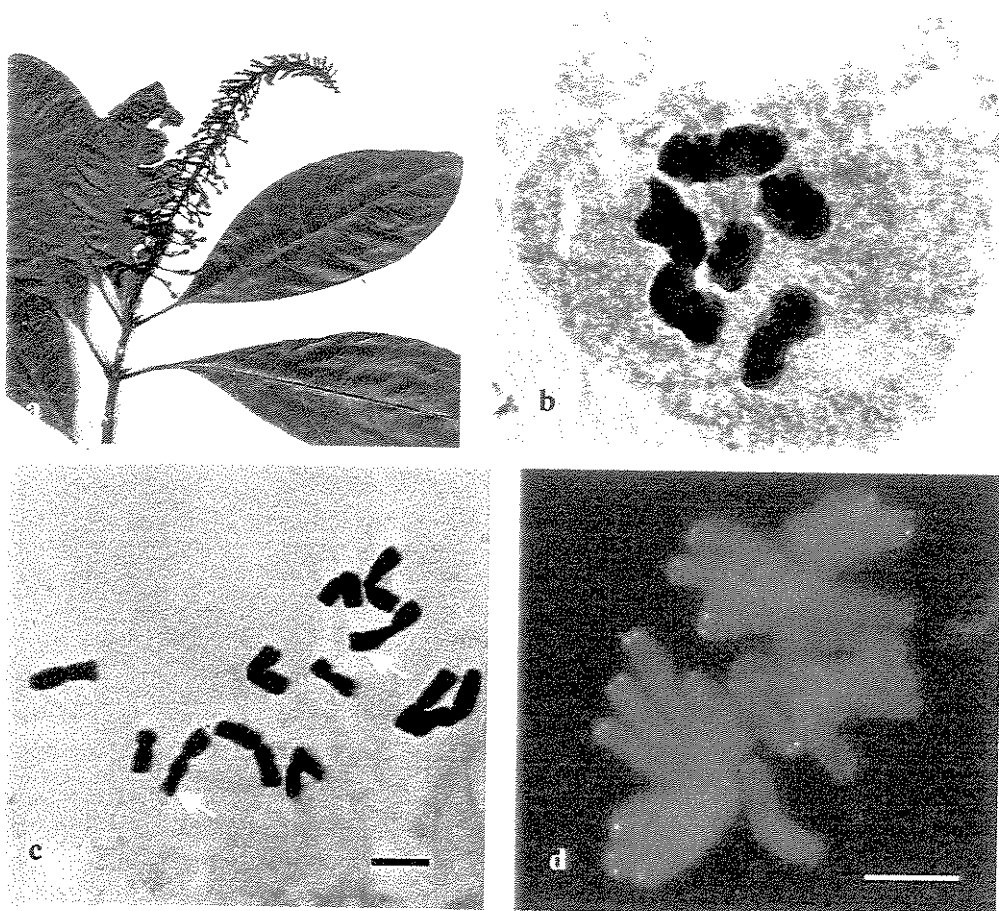


Figura 1: a- ramo com inflorescência de *Lophanthera lactescens*, b- metáfase I da meiose ($n=6$), c- metáfase mitótica ($2n=12$) com seta indicando a posição do satélite, d- metáfase mitótica hibridada com pLT11 e corada com iodeto de propídio. Barra= $5\mu\text{m}$.

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

CAPÍTULO IV

Derivação de números cromossômicos, do hábito e da morfologia
dos frutos em Malpighiaceae A. Jussieu.

Derivação de números cromossômicos, do hábito e da morfologia dos frutos em Malpighiaceae A. Jussieu.

Ricardo A. Lombello e Eliana R. Forni-Martins. Depto de Botânica, IB/UNICAMP

Abstract – The family Malpighiaceae contains species with different habits, fruit types and cytological characters. In the present study based on literature data we propose a relationship in Malpighiaceae between intra and inter-generic chromosome number variation, and the derivation of climbing habit and fruit variety (winged or non-winged). Climbers are considered the most derived habit. This comparison showed a predominance of chromosome numbers based on $x=10$ in subfamily Malpighioideae, mainly represented by climbers with winged fruits. However in subfamily Byrsonimoideae non-climbing species predominates, with non-winged fruits and remarkable counts based on $x=6$, considered the most primitive basic number for the family.

Introdução - A família Malpighiaceae é composta por aproximadamente 71 gêneros e 1250 espécies. As espécies possuem, em geral, hábito trepador, podendo ser encontradas também árvores e arbustos (Robertson 1972, Judd *et al.* 1999). Malpighiaceae apresenta diversas espécies de interesse econômico. A fruta acerola, *Malpighia glabra*, é notória pelas suas altas concentrações de vitamina C. Os gêneros *Banisteriopsis* e *Diplopterys* possuem espécies conhecidas como fontes de compostos alucinógenos (Gates 1982). A mais conhecida é *Banisteriopsis caapi*, encontrada no Norte da América do Sul. Outras espécies são cultivadas como plantas ornamentais.

Baseado em caracteres morfológicos e estudos palinológicos, Vogel (1990) caracterizou a família como um grupo natural e monofilético. A família é dividida taxonomicamente em duas sub-famílias: Malpighioideae, com frutos samaróides alados, e Byrsonimoideae, com frutos drupáceos esquizocárpicos, dispersos pela água ou por animais (Anderson 1977, 1993). Anderson (1983) considera a sub-família Malpighioideae como a mais derivada, sendo a dispersão anemocórica de seus frutos e o hábito trepador caracteres relevantes para esta conclusão.

Encontram-se espécies dos mais variados hábitos nas duas sub-famílias, havendo no entanto uma predominância de espécies lianas na sub-família Malpighioideae. Ocorre o inverso na sub-família Byrsonimoideae, com maioria de espécies de hábitos arbustivos e arbóreos (Anderson 1977).

Espécies de hábito trepador são plantas que estruturam sua estratégia de crescimento baseada em qualquer tipo de suporte rígido, podendo ser este inclusive uma planta auto sustentada. Na literatura corrente, são muitas vezes separadas em: trepadeiras herbáceas ("vines") e trepadeiras lenhosas (lianas), sendo o termo "climbers" usado de uma forma geral para qualquer planta trepadeira (Morellato 1991).

Do ponto de vista evolutivo, o grupo das trepadeiras é considerado o mais derivado (Radford *et al.* 1974), sendo que as plantas arbustivas ocupam uma posição intermediária e as plantas de porte arbóreo são consideradas as menos derivadas (Carlquist 1991).

Há poucos estudos que procuram relacionar as alterações adaptativas nas estruturas das plantas com qualquer mudança na estrutura cromossômica. Comparando dados cariológicos disponíveis para as espécies de Sapindaceae, Lombello e Forni-Martins (1998a) observaram uma relação entre a derivação de plantas trepadeiras na família e alterações cromossômicas, direcionadas para a diminuição do número cromossômico e provavelmente para o acréscimo no tamanho dos cromossomos.

Há estudos cromossômicos para aproximadamente 10% das espécies de Malpighiaceae, sendo que a maioria restringe-se à apresentação do número cromossômico haplóide (Anderson 1983, 1990, 1993, Bawa 1973, Forni-Martins *et al.* 1992, Lombello e Forni-Martins 1998b).

As espécies com estudos citogenéticos da sub-família Malpighioideae apresentam em geral número cromossômico baseado em $x=10$, sendo que alguns gêneros possivelmente apresentem número básico $x=5$, como *Peixotoa*, com contagens $n=15$ (Anderson 1993, Forni-Martins *et al.* 1995) e *Heteropterys*, com $2n=30$ (Capítulo I e II deste trabalho). Ocorrem também outras exceções, como as contagens registradas para o gênero *Acridocarpus*, pertencente à tribo Banisterieae, sub-tribo Sphedamnocarpinae, todas $n=9$.

As espécies da sub-família Byrsonimoideae possuem números cromossômicos baseados em $x=6$, embora apresentem uma exceção, que é *Macvaughia bahiana*, da tribo Byrsonimineae, com $n=10$ (Anderson 1993).

Baseado nos números cromossômicos registrados para espécies de Malpighiaceae na literatura, este trabalho visa investigar a existência de relação entre a derivação do hábito trepador, bem como o surgimento de frutos alados, e alterações de número diplóide inter-específica e inter-genérica na família Malpighiaceae.

Materiais e Métodos - Os números cromossômicos para as espécies de Malpighiaceae analisadas na Tabela 1 foram obtidos de: Bolkhovskikh *et al.* (1969), Moore (1973, 1974, 1977), Goldblatt (1981a, 1984, 1985, 1988) e Goldblatt e Johnson (1990, 1991, 1994, 1997), além dos números apresentados no presente trabalho (Capítulos I, II e III).

Das 128 espécies de Malpighiaceae com contagem cromossômica (Tabela 10, Capítulo 1), 69 (54%) são espécies trepadeiras. Com relação à morfologia dos frutos, 88 (68,7%) das 128 espécies com contagem cromossômica apresentam frutos alados.

Este levantamento de números cromossômicos permitiu o cálculo da frequência ($F_{i,g}$) de um determinado número cromossômico i em um gênero g com T espécies estudadas, através da fórmula:

$$F_{i,g} = 100S_i / T_g$$

Onde S_i = número de espécies de um mesmo hábito com i cromossomos em um gênero g .

O valor de $F_{i,g}$ foi usado para calcular a frequência relativa ponderada (RF_i) de cada número cromossômico de espécies de hábito trepador e de espécies que não possuem este hábito, pela seguinte fórmula:

$$RF_i = 100(\sum_{j=1}^G F_{i,j}) / \sum_{k=1}^L F_k$$

Onde G = número de frequências ($F_{i,g}$) calculadas para um mesmo número cromossômico i , e

L = numero total de frequências para todas as espécies com o mesmo hábito.

Estas fórmulas foram utilizadas pela primeira vez para a análise de frequência relativa de números cromossômicos por Lombello e Forni-Martins (1998a), no estudo com espécies de Sapindaceae.

A caracterização dos gêneros de Malpighiaceae quanto ao porte e morfologia de frutos baseou-se na literatura disponível, como Niedenzu (1928), Gates (1982), Anderson (1977, 1979, 1983, 1985, 1993), Mamede (1990) e Vogel (1990).

Alguns dos gêneros apresentados possuem mais de um hábito, como *Banisteriopsis*. Para estes gêneros foram calculados índices de frequências relativas de números cromossômicos em cada hábito independentemente. No caso de gêneros com hábitos variados, como *Camarea*, que apresentam contagens apenas para espécies com um determinado tipo de hábito, citamos na tabela apenas o referido hábito.

Para a análise da relação entre os tipos de frutos das espécies e a variação de seus números cromossômicos, diferenciou-se os frutos em alados e não alados. A metodologia empregada para a confecção da tabela de distribuição das frequências relativas dos números cromossômicos foi a mesma utilizada para a análise dos hábitos.

Resultados e Discussão - Baseado nos dados de número cromossômico obtidos na literatura construímos a Figura 1, que indica uma distribuição fortemente baseada em $x=5$ ou 10 para as espécies trepadeiras, sendo o número $2n=20$ o mais importante, com 50,25% das contagens para este hábito. As espécies não trepadeiras também apresentam um pico no número $2n=20$, com 16,75% de suas contagens, no entanto menos significativo que o das trepadeiras. Estas espécies não trepadeiras apresentam picos em $2n=12$ e 24, sendo este último o número mais importante para o grupo, com 20,74% das contagens.

Fazendo-se uma somatória das frequências dos números baseados em $x=6$ e comparando-a com a soma dos números baseados em $x=5$ ou 10, observa-se que nos gêneros não trepadores $x=6$ aparece em 62,82% dos registros. O número $2n=18$, referente à contagens para o gênero *Acridocarpus*, realizadas por Mangenot e Mangenot (1958) e Can e McPherson (1986), que poderia ser considerado um caso de triploidia baseado em $x=6$, é aqui contabilizado como uma derivação aneuplóide de $2n=20$, baseado no seu fruto alado, que segundo Anderson (1993), é aparentemente derivado de *Mascagnia*.

Os resultados obtidos para a família Sapindaceae (Lombello e Forni-Martins 1998a), evidenciaram números cromossômicos menores nas espécies mais derivadas, ou seja, aquelas com hábito trepador. No presente estudo observam-se alguns picos semelhantes nos dois tipos de hábitos (Figura 1). Deve-se salientar no entanto a evidente relação entre a derivação das trepadeiras com números cromossômicos básicos $x=5$ e 10 . Embora as espécies não-trepadeiras apresentem também um pico significativo em $2n=20$, algumas considerações podem ser feitas.

Inicialmente observa-se que para as espécies trepadeiras encontra-se apenas um registro de contagem cromossômica baseado em $x=6$, considerando-se $2n=42$, obtida para *Hiptage benghalensis* (Roy e Mishra 1962), como uma derivação do tetraplóide $2n=4x=40$. A exceção citada seria o gênero *Stigmaphyllon*, embora apenas 10% de suas contagens sejam $2n=24$ (Tabela 1).

Observa-se também que os gêneros *Banisteriopsis* e *Peixotoa* apresentam espécies trepadeiras e não-trepadeiras sempre com $x=5$ e 10 . Algumas espécies arbustivo-arbóreas destes gêneros contribuíram para a formação do pico em $2n=20$. Deve-se atentar ao fato de que alguns gêneros apresentam diversidade de hábito. Desta forma deve-se considerar a possibilidade de ocorrer diversidade de hábitos em gêneros aqui classificados como não-trepadores, como *Heteropterys*, o que poderia reduzir a importância do pico $2n=20$ nas espécies não-trepadeiras.

Analisando-se as contagens cromossômicas obtidas para Malpighiaceae até o momento, devemos ratificar o número básico $x=10$ proposto por Anderson (1979) como o mais importante da família, visto que 68,5% das contagens feitas para a família até hoje indicam números múltiplos de 5.

Em relação à variação morfológica dos frutos das espécies de Malpighiaceae com contagem de número cromossômico, observamos que ocorre uma distribuição de valores semelhante à encontrada na Figura 1. O que deve ser salientado é que o caráter fruto alado não está necessariamente relacionado ao hábito trepador, como pode ser observado nas espécies trepadeiras do gênero *Dicella* (Tabela 1). Por outro lado, para os gêneros com frutos não alados, observa-se sempre espécies com $x=6$, excetuando-se *MacVaughia* e *Barnebya*, cujas espécies estudadas são trepadeiras que possuem $x=10$. Outras exceções

aparecem em gêneros que possuem espécies com contagem $x=6$ e $x=10$. Como exemplo citamos o gênero *Byrsonima*, onde apenas 10% das espécies estudadas apresentam $x=10$.

Desta forma, considerando-se a forte predominância de números básicos $x=5$ e 10 em espécies com frutos alados e de $x=6$ em espécies com frutos não alados (Figura 2), pode-se inferir que, como característica geral, tem-se a presença de frutos alados como uma característica derivada na família Malpighiaceae (Anderson 1993), haja vista sua predominância nas espécies trepadeiras. Considerando-se a origem monofilética do grupo (Vogel 1990, Judd *et al.* 1999), a princípio podemos inferir que a derivação do hábito trepador na família está diretamente ligada à dos números básicos $x=5$ e 10, bem como à dos frutos alados.

Mesmo considerando que há contagem cromossômica para apenas 10% das espécies de Malpighiaceae, fica clara a importância da poliploidia na evolução da família. Aproximadamente 75% das contagens para Malpighiaceae são números poliplóides (Tabela 1), sendo estes ocorrentes tanto em espécies com hábitos trepadores ou não, bem como em espécies com frutos alados ou não, notadamente as contagens $2n=60$ e 80 (Tabela 1).

A diferenciação cromossômica e morfológica observada em Malpighiaceae reflete na divisão da família em duas subfamílias: Malpighioideae e Byrsonimoideae. Há exceções, apresentadas na tabela 1. Pode-se porém associar, de maneira geral, a ocorrência de espécies trepadeiras com frutos alados e contagens baseadas em $x=5$ ou 10 em Malpighioideae, enquanto em Byrsonimoideae concentram-se as espécies com porte arbustivo-arbóreo, frutos não alados e contagens baseadas em $x=6$. Do ponto de vista morfológico, os caracteres de hábito e fruto de Byrsonimoideae são considerados os menos derivados dentro da família (Anderson 1977), e seu número básico condiz com o posicionamento proposto por Anderson (1983) de $x=6$ como o número mais primitivo da família.

Referências:

- Anderson, W.R. 1977. Byrsonimoideae, a new subfamily of the Malpighiaceae. *Leandra* 7: 5-16.
- 1979. *Macvaughia*, a new genus of Malpighiaceae from Brazil. *Taxon* 28 (1,2/3): 157-161.
- 1983. *Lophanthera*, a genus of Malpighiaceae new to Central America. *Brittonia* 35 (1): 37-41.
- 1985. *Peregrina*, a new genus of Malpighiaceae from Brazil and Paraguay. *Syst. Bot.* 10: 303-307.
- 1990. The taxonomy of *Jubelina* (Malpighiaceae). *Contr. Univ. Mich. Herb.* 17: 21-37.
- 1993. Chromosome numbers of neotropical Malpighiaceae. *Contr. Univ. Michigan Herb.* 19: 341-354.

- Bawa, K.S. 1973. Chromosome number of tree species of lowland tropical community. *J. Arnold. Arbor.* 54: 422-434.
- Bolkhovskikh, Z., Grif, V., Matvejeva, T., Zakharyeva, O. 1969. Chromosome numbers of flowering plants. In: KOMAROV, V. L. (ed.), Botanical Inst., Academy of Sciences of the URSS, 926 p.
- Can, G.D., McPherson, G. 1986. Chromosome numbers of New Caledonian plants. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 73: 486-489.
- Carlquist, S. 1991. Anatomy of vine and liana stems: a review and synthesis. Capt. 2: 53-72. In: Putz, F.E., Mooney, H.A. The biology of vines. ed. Univ. Cambridge Press, N. Y.
- Forni-Martins, E.R., Pinto-Maglio, C.A.F., Cruz, N.D. 1992. Biologia da reprodução em plantas de cerrado: micosporigênese. *Anais 8^a Congr. SBSP* : 77-82.
- 1995. Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. *Rev. Bras. Genét.* 18 (2): 281-288
- Gates, B. 1982. *Banisteriopsis*, *Diplopterys* (Malpighiaceae). *Flora Neotropica Monograph* 30: 237 p.
- Goldblatt, P. 1980. Polyploidy in angiosperms: monocotyledons. In: Lewis, H.W. (ed.). Polyploidy: 219-239.
- Goldblatt, P. 1981a. Index to plant chromosome numbers, 1975-1978. *Mon. Syst. Bot. Miss. Bot. Gard* 4.
- Goldblatt, P. 1981b. Chromosome numbers in Legumes II. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 68: 546-550.
- Goldblatt, P. 1984. Index to plant chromosome numbers, 1979-1981. *Mon. Syst. Bot. Miss. Bot. Gard.* 8.
- Goldblatt, P. 1985. Index to plant chromosome numbers, 1982-1983. *Mon. Syst. Bot. Miss. Bot. Gard.* 13.
- Goldblatt, P. 1988. Index to plant chromosome numbers, 1984-1985. *Mon. Syst. Bot. Miss. Bot. Gard.* 23.
- Goldblatt, P. Johnson, D. E., 1990. Index to plant chromosome numbers, 1986-1987. *Mon. Syst. Bot. Miss. Bot. Gard.* 30.
- Goldblatt, P. Johnson, D.E. 1991. Index to plant chromosome numbers, 1988-1989. *Mon. Syst. Bot. Miss. Bot. Gard.* 40.
- Goldblatt, P. Johnson, D.E. 1994. Index to plant chromosome numbers, 1990-1991. *Mon. Syst. Bot. Miss. Bot. Gard.* 51.
- Goldblatt, P., Johnson, D.E. 1997. Index to plant chromosome numbers, 1992-1994. *Mon. Syst. Bot. Miss. Bot. Gard.* 61.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F. 1999. Plant systematics, a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Sunderland, Massachusetts U.S.A.
- Lombello, R.A., Forni-Martins, E.R. 1998a. Chromosomal studies and evolution in Sapindaceae. *Caryologia* 51 (1): 81-93.
- 1998b. Cytological studies in climbers of a Brazilian Forest Reserve. *Cytologia* 63: 415-420.
- Mamede, M.C.H. 1990. Revisão do gênero *Camarea* St-Hilaire (Malpighiaceae). *Hoehnea* 17: 1-34.
- Mangenot, S., Mangenot, G. 1958. Deuxième liste de nombres chromosomiques nouveaux chez diverses Dicotylédones et Monocotylédones d'Afrique occidentale. *Bull. Jard. Bot. (Bruxelles)* 28, 4: 315-329.
- Moore, R.V. 1973. Index to plant chromosome numbers, 1967-1971. *Regnum Vegetabile* 90: 1-539.
- Moore, R.V. 1974. Index to plant chromosome numbers, 1972. *Regnum Vegetabile* 91: 1-108.
- Moore, R.V. 1977. Index to plant chromosome numbers, 1973-1974. *Regnum Vegetabile* 96: 1-257.
- Morellato, L.P.C. 1991. Estudo da fenologia de árvores, arbustos e lianas de uma floresta semi-decídua no sudoeste do Brasil. Tese Doutorado, Depto. de Biologia Vegetal/UNICAMP: 203 p.
- Morton, C.V. 1968. A typification of some subfamily, sectional and subsectional names in the family Malpighiaceae. *Taxon* 17: 314-324.
- Niedenzu, F. 1928. Malpighiaceae. In Das Pflanzenreich, ENGLER, A. (ed.), Im Auftrage der Preuss, Akademie der Wissenschaften.
- Radford, A.E. Dickson, W.C. Massey, J.R. Bell, C.R. 1974. Vascular plant systematics. Harper & Row Publ., N. Y.
- Robertson, K.R. 1972. The Malpighiaceae in the southeastern United States. *J. Arnold. Arbor.* 53 (1): 101-112.
- Roy, R.P., Mishra, N.C. 1962. Cytological studies in Malpighiaceae. *Proc. 49th Indian Sci. Congr.* (3): 335.
- Vogel, S. 1990. History of the Malpighiaceae in the light of pollination ecology. *Mem. New York Bot. Gard.* 55: 130-142.

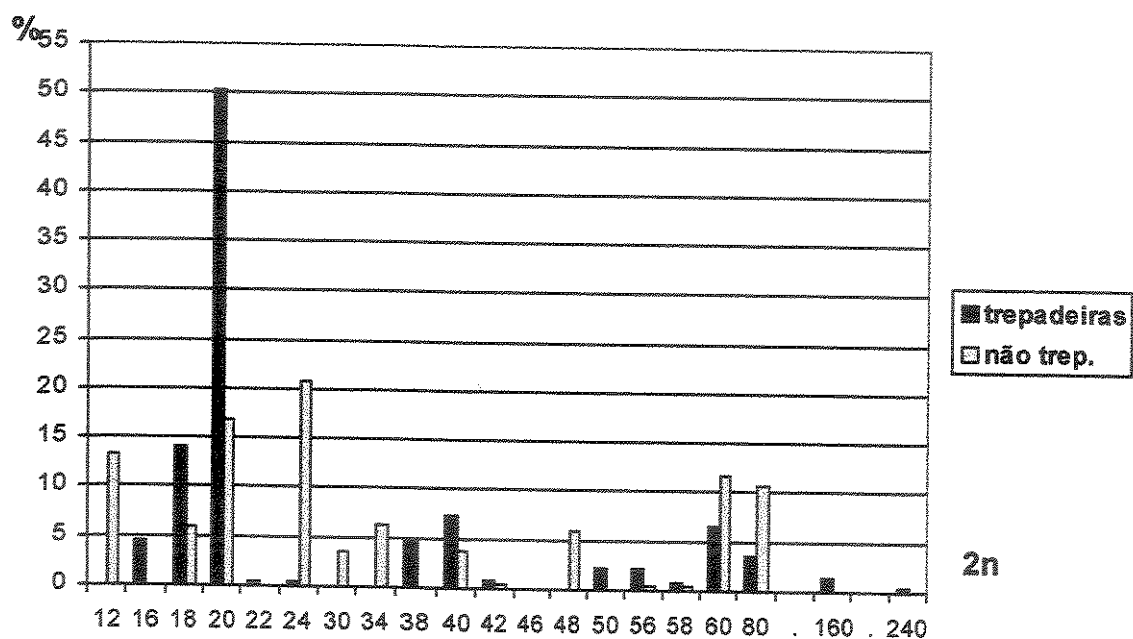


Figura 1. Distribuição das freqüências relativas de números cromossômicos de espécies trepadeiras e não trepadeiras da família Malpighiaceae.

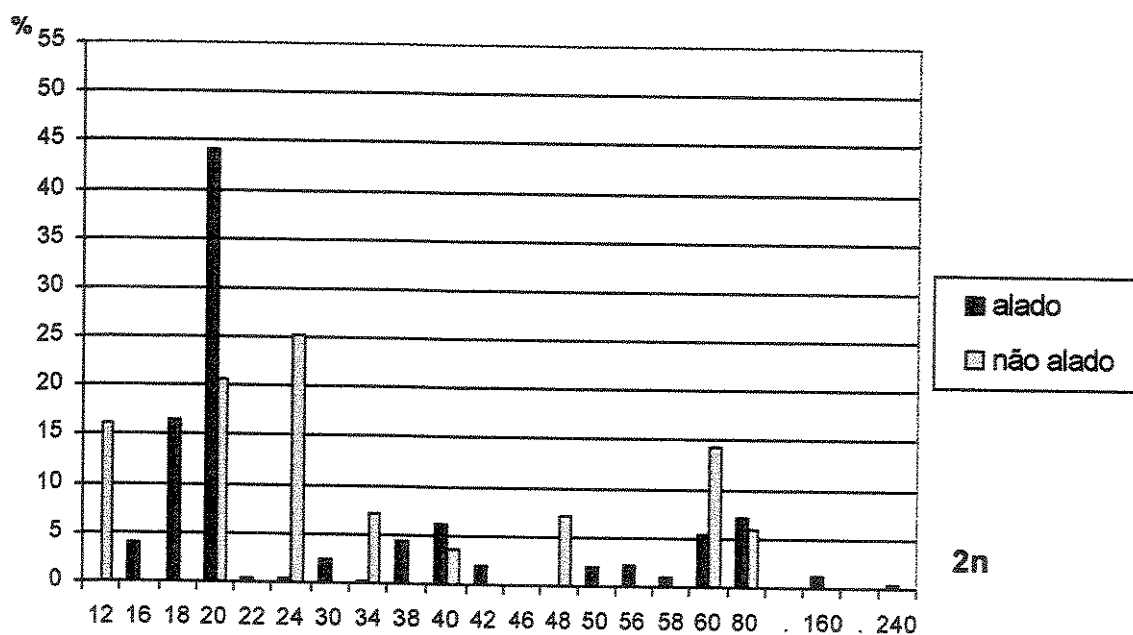


Figura 2. Distribuição das freqüências relativas de números cromossômicos de espécies com frutos alados e não alados da família Malpighiaceae.

Tabela 1. Sub-famílias, tribos e gêneros de Malpighiaceae com contagens cromossômicas, baseado em Niedenzu (1928), com nomenclatura alterada por Morton (1968) e Anderson (1977, 1993) com respectivos hábitos das espécies com contagens (T-trepadeiras, NT-não trepadeiras), tipos de frutos (A-alados, NA-não alados), porcentagem de espécies estudadas em relação ao número total de espécies no gênero - sp(%), e número cromossômico (n e 2n), acompanhados de suas frequências em cada gênero (F_{ig}).

Sub-família	tribo	gênero	hábito	fruto	sp(%)	n e 2n (F _{ig})
Malpighioideae	Hiptageae	<i>Aspidopteris</i>	T	A	6,2	20(100%)
		<i>Callaeum</i>	T	A	20	20(100%)
		<i>Hiptage</i>	T	A	3,8	42(16,6%), 56(49,9%), 58(16,6%), 60(16,6%)
		<i>Mascagnia</i>	T	A	10,8	20(50%), 40(25%), 60(25%)
		<i>Malpighia</i>	NT	NA	5,5	20(66,6%), 40(33,3%)
		<i>Tetrapteryx</i>	T	A	1,1	20(50%), 50 (50%)
		<i>Triaspis</i>	T	A	11,7	20(100%)
		<i>Tristellateia</i>	T	A	5,8	18(100%)
	Banisterieae	<i>Acridocarpus</i>	NT	A	3,8	18(100%)
			T	A	7,6	18(100%)
		<i>Banisteriopsis</i>	NT	A	7,6	20(85,7%), 40(14,3%)
			T	A	10,8	20(80%), 40(10%), 80(10%)
		<i>Cordobia</i>	T	A	50	18(100%)
		<i>Heteropteryx</i>	NT	A	9,2	20(49,9%), 30(21,4%), 34(7,1%), 42(7,1%), 56(7,1%), 58(7,1%)
		<i>Jubelina</i>	T	A	-	20(100%)
		<i>Peixotoa</i>	NT	A	25,0	20(60%), 30(40%)
			T	A	8,3	20(100%)
		<i>Sphegamnocarpus</i>	T	A	12,5	20(100%)
		<i>Stigmaphyllon</i>	T	A	14,0	18(10%), 20(60%), 22(10%), 24(10%), 40(10%)
	Gaudichaudieae	<i>Aspicarpa</i>	NT	NA	50,0	40(16,6%), 80(83,3%)
		<i>Camarea</i>	NT	NA	50,0	34(100%)
		<i>Gaudichaudia</i>	NT	A	100	80(100%)
			T	A	52,0	80(61,5%), 160(30,7%), 240(7,7%)
		<i>Janusia</i>	T	A	61,1	20(15,3%), 38(7,6%), 40(69,2%), 80(7,6%)
		<i>Peregrina</i>	T	A	100	38(100%)
	Tricomarieae	<i>Echinopteryx</i>	T	A	50	20(50%), 40(50%)
	Indeterminada	<i>Bunchosia</i>	NT	NA	2,0	60(100%)
		<i>Dicella</i>	T	NA	20,0	20(100%)
		<i>Ectopopteryx</i>	T	A	100	16(100%)
		<i>Thryallis</i>	NT	NA	33,3	60(100%)
Byrsonimoideae	Galphimieae	<i>Blepharandra</i>	NT	NA	100	24(100%)
		<i>Galphimia</i>	NT	NA	33,3	12(25%), 20(12,5%), 24(62,5%)
		<i>Lophanthera</i>	NT	NA	66,6	12(100%)
		<i>Verrucularia</i>	NT	NA	100	12(100%)
	Byrsoniminae	<i>Byrsonima</i>	NT	NA	8,1	20(10%), 24(90%)
		<i>Diacidia</i>	NT	NA	50	48(100%)
		<i>Macvaughia</i>	T	NA	100	20(100%)
	Acmanthereae	<i>Pterandra</i>	NT	NA	50	24(100%)
	Indeterminada		T	A	100	60(100%)
		<i>Barnebya</i>	T	A	100	60(100%)

7. Discussões e Conclusões Gerais

Foram aferidas contagens cromossômicas para 23 espécies de Malpighiaceae de diferentes regiões e hábitos. Para algumas destas espécies foram confeccionados os ideogramas cromossômicos, sendo que estes registros cariomorfológicos são inéditos para as espécies estudadas. A seguir serão concluídas as propostas contidas nos objetivos deste trabalho:

- 1- O conhecimento dos números cromossômicos foi ampliado, visto que onze das espécies estudadas não possuíam contagem registrada. As contagens apresentadas para espécies que já possuíam registro citogenético na literatura foram realizadas em populações diferentes das anteriormente estudadas. Embora 23 espécies seja um número relativamente pequeno, quando comparado ao número de espécies da família ainda sem contagem, permitiu que algumas tendências de números cromossômicos apresentadas anteriormente fossem melhor discutidas, como a predominância de números cromossômicos básicos $x=10$ para a família, além da existência de $x=5$ para alguns gêneros, como *Heteropterys*, *Peixotoa* e *Tetrapteryx*. Ratificamos também o número básico $x=6$ para as espécies da sub-família Byrsonimoideae. Apenas uma contagem divergiu de um registro prévio obtido na literatura, que foi o número $2n=40$ para *Janusia guaranítica*, retificando o resultado $n=19$ anteriormente apresentado.
- 2- Foram apresentados quatorze ideogramas, com respectivas medidas dos cromossomos e de seus braços. Estes são dados importantes para se discutir a evolução cariotípica em Malpighiaceae. Devemos salientar que antes da apresentação destes ideogramas, possuíamos apenas uma espécie com registros cariomorfológicos na literatura, que é *Hiptage benghalensis*, uma espécie de origem indiana. Os dados aqui obtidos concordam com os apresentados para esta espécie, também predominantemente simétrica e sem cromossomos telocêntricos ou acrocêntricos. Mesmo o tamanho de seus cromossomos, que

variam de 1,6 a 3,2 μ m são compatíveis com os apresentados neste trabalho para uma espécie da mesma tribo Hiptageae que *Hiptage benghalensis*, que é *Mascagnia cordifolia*, com cromossomos variando de 1,4 a 3,2 μ m.

- 3- Embora os cariótipos observados sejam indistintamente simétricos, de forma geral com predominância de cromossomos metacêntricos, a partir dos dados cariomorfológicos obtidos, pudemos constatar uma significativa variação de tamanho entre os cromossomos das sub-famílias Malpighioideae e Byrsonimoideae. Apesar de estarmos apresentando apenas dois ideogramas para espécies da sub-família Byrsonimoideae, considerada mais primitiva que Malpighioideae, em ambos os casos observamos cromossomos de tamanhos discrepantes aos comumente encontrados para espécies de Malpighiaceae. Como exemplo citamos os cromossomos de *Lophanthera lactescens*, com comprimentos variando de 5,6 a 11,3 μ m, significativamente maiores que os observados em *Mascagnia anisopetala*, pertencente à sub-família Malpighioideae, com variação de 1,1 a 2,1 μ m.
- 4- A princípio as distribuições taxonômicas das espécies pelas sub-famílias e tribos condizem com os resultados de estudos citogenéticos até o momento apresentados. Na análise dos números cromossômicos, observamos que, em geral, são múltiplos de cinco ou derivados aneuplóides deste número nas espécies da sub-família Malpighioideae, e derivados de seis para as espécies da sub-família Byrsonimoideae. O resultado $2n=40$ obtido para *Janusia guaranitica* ratifica a importância da poliploidia para a tribo Gaudichaudieae, onde 100% das espécies com contagem são poliplóides. Os caracteres cariomorfológicos apresentados parecem não indicar alterações estruturais evidentes, como quebras e fusões, que poderiam auxiliar análises mais profundas nas derivações cariotípicas, bem como nas possíveis inter-relações entre as espécies.
- 5- A observação de células em divisão meiótica não evidenciou qualquer

problema durante o processo, apresentando grãos de pólen aparentemente viáveis em índices significativos para todas as espécies observadas. O menor índice de viabilidade observado foi em *Banisteriopsis stellaris*, um poliplóide $2n=16x=80$. Embora registros anteriores obtidos em literatura indiquem índices de viabilidade baixos para o gênero *Banisteriopsis*, para as outras três espécies do gênero aqui estudadas apresentam índices superiores a 90%. Alguns trabalhos apresentam problemas meióticos para espécies de *Malpighiaceae*, como trivalentes em diacinese e irregularidades na disjunção em anáfase I em *Peixotoa* e univalentes em *Hiptage benghalensis*. O presente trabalho não reforça estes dados.

- 6- Observamos no decurso das análises citogenéticas marcante variação de comprimento dos cromossomos entre espécies das sub-famílias de *Malpighiaceae*. A ocorrência de seqüências teloméricas intersticiais infeririam um caráter derivado para estes cromossomos grandes, embora nem sempre sítios ectópicos sejam originados por fusões cromossômicas. A sonda pLT11, específica para regiões teloméricas, ao marcar somente as regiões terminais, parece indicar que os cromossomos de *Lophanthera lactescens* não se originaram a partir de fusões cromossômicas, ou seja, não teriam se originado por redução numérica, quebras e fusões de segmentos cromossômicos a partir de outras espécies aparentadas, sendo seus cromossomos grandes um provável ponto de partida para a seqüência evolutiva dentro da família, como os caracteres morfológicos indicam.
- 7- No presente estudo observaram-se distribuições semelhantes dos números cromossômicos nos dois tipos de hábitos, com maior incidência de contagens na faixa $2n=18$ a 24 , com picos de registros nos números poliplóides $2n=40$, 60 e 80 . Evidente no entanto é a relação entre a derivação das trepadeiras com os números cromossômicos básicos $x=5$ e 10 . Embora as espécies não-trepadeiras apresentem um pico significativo em $2n=20$, infere-se uma relação entre estas e os números baseados em $x=6$, considerado o mais primitivo para a família.

Mesmo considerando que há contagem cromossômica para apenas 10% das espécies de Malpighiaceae, devemos ratificar o número básico $x=10$ proposto pela literatura como o mais importante da família, visto que 68,5% das contagens feitas para Malpighiaceae indicam números múltiplos de 10. Além da derivação do hábito trepador, procuramos analisar a relação entre a presença de frutos alados ou não e a variação de contagem cromossômica para as espécies. Como os números baseados em $x=5$ e 10 predominam entre as espécies com frutos alados, e os baseados em $x=6$ em espécies com frutos não alados, pode-se inferir, como característica geral para a família Malpighiaceae, que a presença de frutos alados seria uma característica derivada, visto sua predominância nas espécies trepadeiras. Como a origem de Malpighiaceae é monofilética, a princípio inferimos que a derivação do hábito trepador na família, bem como a dos números básicos $x=5$ e 10 e dos frutos alados, parece ter ocorrido de forma diretamente relacionada à variação dos números cromossômicos.

8. Bibliografia da Introdução

- ANDERSON, W.R 1975. *Dicella* a genus of Malpighiaceae new to Colombia. *Acta Amazonica* 5 (3): 279-283.
- 1977. Byrsonimoideae, a new sub-family of Malpighiaceae. *Leandra* 7: 05-18.
- 1979a. Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica* 11 (3) : 219-223.
- 1979b. *Macvaughia*, a new genus of Malpighiaceae from Brazil. *Taxon* 28 (1,2/3): 157-161.
- 1982. A monograph of the genus *Peixotoa* (Malpighiaceae). *Contr. Univ. Mich. Herb.* 15: 1-92.
- 1983. *Lophanthera*, a genus of Malpighiaceae new to Central America. *Brittonia* 35 (1): 37-41.
- 1993. Chromosome numbers of neotropical Malpighiaceae. *Contr. Univ. Mich. Herb.* 19: 341-354.
- ARÈNES, J. 1959. Répartition géographique des Malpighiacées vivants et fossiles 1. *Compte Rend. Soc. Biogéogr.* 290: 81-109.
- BARROSO, G.M., PEIXOTO, A.L., COSTA, C.G., CAVALCANTE DE LIMA, H., ICHASO, C.L.F., GUIMARÃES, E.F. 1984. Sistemática de angiospermas do Brasil. vol. 2, Imprensa Univ., Univ. Fed. Viçosa, M.G. :325-343.
- BAWA, K.S. 1973. Chromosome number of tree species of lowland tropical community. *J. Arnold. Arbor.* 54: 422-434.
- CHASE, M.W. 1981. A revision of *Dicella* (Malpighiaceae). *Syst. Bot.* 6 (2): 159-171.
- CHASE, M.W. ET AL. 1993. Phylogenetic of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcl*. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 80 (3): 528-580.
- DEVAR, K.V., BORALAH, G. 1981. A note on the karyomorphology of *Hiptage benghalensis* (L.) Kurz. *Current Science* 50 (20): 904-905.
- DIFULVIO, T.E. 1979. Número cromossômico de *Heteropteris hypericifolia* (Malpighiaceae). *Kurtziana* 12-13, : 139.
- FORNI-MARTINS, E.R., PINTO-MAGLIO, C.A.F., CRUZ, N.D. 1992. Biologia da reprodução em plantas de cerrado: micosporogênese. *Anais 8^o Congr. SBSP* : 77-82.

- 1995. Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. *Rev. Bras. Genét.* 18 (2): 281-288.
- FOUËT, M. 1966. Contribution à l'étude cyto-taxonomique des Malpighiacées. *Adansonia* 6 (3): 456-505.
- GATES, B. 1982. *Banisteriopsis*, *Diplopterys* (Malpighiaceae). *Flora Neotropica Monograph* 30: 237 p.
- GOLDBLATT, P. 1981. Chromosome numbers in Legumes II. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 68: 546-550.
- GRANT, V. 1982. Periodicities in the chromosome numbers of the angiosperms. *Bot. Gaz.* 143 (3): 379-389.
- GREILHUBER, J., EHRENDORFER, F. 1988. Karyological approaches to plant taxonomy. *ISI atlas of science: animal and plant sciences*. 289-297.
- GUERRA, M.S., KENTON, A., BENNETT, M.D. 1996. rDNA sites in mitotic and polytene chromosomes of *Vigna unguiculata* (L.) Walp. and *Phaseolus coccineus* L. revealed by *in situ* hibridization. *Ann. Bot.* 78: 157-161.
- HESLOP-HARRISON, J.S. 1991. The molecular cytogenetics of plants. *J. Cell Science*. 100: 15-21.
- JOLY, A.B. 1991. Botânica - Introdução à taxonomia vegetal 2ª ed.. Companhia Editora Nacional, S. Paulo, 777 p.
- JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A., STEVENS, P.F. 1999. Plant systematics, a phylogenetic approach. Sinauer Associates, Inc. Publishers, Suderland, Massachusetts U.S.A.
- JUSSIEU, A. 1843. Monographie de la famille des Malpighiacées. *Arch. Mus. Hist. Nat.* 3: 5-151, 255-616.
- LEITCH, I.J., HESLOP-HARRISON, J.S. 1992. Physical mapping of the 18S-5.8S-26S rRNA genes in barley by *in situ* hibridization. *Genome*. 35: 1013-1018.
- LEWIS, W.H., OLIVER, R.L. 1970. Chromosome numbers of phanerogams 4. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 57: 382-384.
- LOMBELLO, RA, FORNI-MARTINS, E.R. 1998a. Cytological studies in climbers of a Brazilian forest reserve. *Cytologia* 63: 415-420..

- 1998b. Chromosomal studies and evolution in Sapindaceae. *Caryologia* 51 (1): 81-93.
- LORENZI, H., SOUZA, H.M. 1999. Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras 2ª ed.. Inst. Plantarum ed. 1088p.
- MAKINO-WATANABE, H. 1988. Contribuição ao estudo palinológico das Malpighiaceae A. L. Jussieu do Brasil (tribo Banisterieae, subtribo Banisteriinae). Tese de Doutorado, Univ. de Campinas, 214 p.
- MAKINO-WATANABE, H., MELHEM, T.S., BARTH, O.M. 1998. Morfologia polínica de *Camarea* St.-Hill. (Malpighiaceae). *Rev. Bras. Bot.* 21: 1-6.
- MAMEDE, M.C.H. 1990. Revisão do gênero *Camarea* St-Hilaire (Malpighiaceae). *Hoehnea* 17: 1-34.
- MANGENOT, S., MANGENOT, G. 1958. Deuxième liste de nombres chromosomiques nouveaux chez diverses Dicotylédones et Monocotylédones d'Afrique occidentale. *Bull. Jard. Bot. (Bruxelles)* 28, 4: 315-329.
- 1962. Enquête sur les nombres chromosomiques dans une collection d'espèces tropicales. *Rev. Cyt. et Biol. Vég.* 25 (3-4): 411-447.
- MORTON, C.V. 1968. A typification of some subfamily, sectional and subsectional names in the family Malpighiaceae. *Taxon* 17: 314-324.
- NANDA, P.C. 1962. Chromosome number of trees and shrubs. *J. Indian Bot. Soc.* 1 (2): 271-277
- NIEDENZU, F. 1928. Malpighiaceae. In *Das Pflanzenreich*, ENGLER, A. (ed.), Im Auftrage der Preuss, Akademie der Wissenschaften.
- ORMOND, W.T., SILVA, M.I.A., CASTELLS, A.R.L. 1981. Contribuição ao estudo citológico de Malpighiaceae. I. Número de cromossomos. *Arch. Jard. Bot. R. J.* 25: 169-173.
- PAL, M. 1964. Chromosome numbers in some Indian Angiosperms I. *Proc. Indian Acad. Sci., Sect B* 60, 5: 347-350.
- RAVEN, P.H. 1975. The bases of Angiosperm phylogeny: cytology. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 62: 724-764.
- RILEY, H.P., HOFF, V. 1961. Chromosome studies in some South African dicotyledons. *Can. J. Genet. Cytol.* 3: 260-271.

- ROBERTSON, K.R. 1972. The Malpighiaceae in the southeastern United States. *J. Arnold Arbor.* 53 (1): 101-112.
- ROY, R.P., MISHRA, N.C. 1962. Cytological studies in Malpighiaceae. *Proc. 49th Indian Sci. Congr.*, pt. 3, abstracts: 335.
- SINGHAL, V.K., GILL, B.S., BIR, S.S. 1985. Cytological studies in some members of Malpighiaceae. *Cytologia* 50: 01-08.
- SMALL, J.K. 1910. Geraniales 2- Malpighiaceae. *North American Flora* 25: 117-171.
- SOLTIS, D.E. ET AL. 1997. Angiosperm phylogeny inferred from 18S ribosomal DNA sequences. *Ann. Miss. Bot. Gard.* 84: 1-49.
- SRIVASTAVA, R.C. 1992. Taxonomic revision of the genus *Hiptage* Gaertn. (Malpighiaceae) in India. *Candollea* 47: 601-612.
- TAKAGI, N. 1938. A list of chromosome number in some ornamental plants. *Bull. Miyazaki Coll. Agri. Forest* 10: 83-87.
- TAKHTAJAN, A.L. 1980. Outline of the classification of flowering plants (Magnoliophyta). *Bot. Rev.* 46: 225-359.
- VOGEL, S. 1990. History of the Malpighiaceae in the light of pollination ecology. *Mem. New York Bot. Gard.* 55: 130-142.