



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Instituto de Biologia



Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal

Estudos cariotípicos em citótipos de *Handroanthus ochraceus* e  
*Handroanthus chrysotrichus*  
(Bignoniaceae)

Angélica de Nazaré Silva Matos

Orientadora: Profa. Dra. Júlia Yamagishi Costa

Coorientadora: Profa. Dra. Diana Salles Sampaio

Uberlândia – MG  
2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA**

**Instituto de Biologia**



Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal

**Angélica de Nazaré Silva Matos**

Estudos cariotípicos em citótipos de *Handroanthus ochraceus* e  
*Handroanthus chrysotrichus*  
(Bignoniaceae)

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Uberlândia  
como parte dos requisitos para a  
obtenção do título de Mestre em  
Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Júlia Yamagishi Costa

Coorientadora: Profa. Dra. Diana Salles Sampaio

**Uberlândia – MG  
2015**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

---

M433e Matos, Angélica de Nazaré Silva, 1991  
2015 Estudos cariotípicos em citótipos de *Handroanthus ochraceus* e *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae) / Angélica de Nazaré Silva Matos. - 2015.  
78 f. : il.

Orientadora: Júlia Yamagishi Costa.

Coorientadora: Diana Salles Sampaio.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,  
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.

Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14393/ufu.di.2018.738>

Inclui bibliografia.

1. Biologia vegetal - Teses. 2. Bignoniaceae - Teses. 3. Hibridação vegetal - Teses. 4. Cromossomos vegetais - Teses. I. Costa, Júlia Yamagishi. II. Sampaio, Diana Salles, 1979- III. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. IV. Título.

---

CDU: 581

Angela Aparecida Vicentini Tzi Tziboy – CRB-6/947



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL  
MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



Ata da defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO junto ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal - Instituto de Biologia da Universidade Federal de Uberlândia.

Defesa da **Dissertação de Mestrado Acadêmico nº 034 /PPGBV**

Data: **27 de fevereiro de 2015**

Discente: **11312BVE006 – ANGÉLICA DE NAZARÉ SILVA MATOS**

Título da Dissertação: **“Estudos cariotípicos em citótipos de *Handroanthus ochraceus* e *Handroanthus chrysotrichus* (Bignoniaceae)”**

Área de concentração: **Biologia Vegetal**

Linha de pesquisa: **Padrões em Biologia Vegetal**

Vinculação ao Projeto de Pesquisa: **Diversidade e conservação de Angiospermas no bioma Cerrado**

Às **08 horas** do dia **27 de fevereiro** do ano de **2015**, no **bloco 8C sala 320** – Campus Umuarama da Universidade Federal de Uberlândia, reuniu-se a Banca Examinadora, designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, composta pelos Professore(a)s Doutore(a)s: **Andréa Macêdo Corrêa (IB - SP), Fernanda Motta da Costa Santos (Bolsista PNPd-CAPES/UFU), Júlia Yamagishi Costa (UFU)** orientadora da candidata.

Iniciando os trabalhos, a Presidente da mesa, Dra. **Júlia Yamagishi Costa** apresentou a Comissão Examinadora e a candidata, agradecendo a presença do público e concedendo à Discente a palavra para a exposição do seu trabalho. A duração da apresentação da Discente e o tempo de arguição e resposta foram estabelecidos conforme as normas do Programa.

A seguir, a Senhora Presidente concedeu a palavra aos examinadores, que passaram a arguir a candidata. Finalizada a arguição, que ocorreu dentro dos termos regimentais, a Banca, em sessão secreta, atribuiu os conceitos finais.

Em face do resultado obtido, a Banca Examinadora considerou a candidata A provada, sugerindo novo título para o trabalho (quando couber): \_\_\_\_\_

Esta defesa de Dissertação de Mestrado Acadêmico é parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre. O diploma será expedido após cumprimento dos demais requisitos, conforme as normas do Programa, legislação e regulamentação internas da UFU, em especial o artigo 55 da resolução 12/2008 do Conselho de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Uberlândia.

Nada mais havendo a tratar, foram encerrados os trabalhos às 10 horas e 30 minutos. Foi lavrada a presente ata que, após lida e aprovada, foi assinada pela Banca Examinadora.

Profª. Dra. Andréa Macêdo Corrêa  
Instituto de Botânica de São Paulo /IB-SP

Dra. Fernanda Motta da Costa Santos  
Bolsista PNPd - CAPES - UFU

Profª. Dra. Júlia Yamagishi Costa  
Universidade Federal de Uberlândia/UFU

Dedico aos meus pais, Maria da Cruz e Edvaldo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me guiar sempre pelo caminho correto e me consolar em momentos de dificuldade.

Aos meus pais e irmão pelo carinho e apoio desde o começo de minha graduação até hoje, e à minha família por sempre me compreender e incentivar.

À CAPES, pela bolsa a mim concedida.

À minha orientadora, Dra. Júlia Yamagishi Costa, pelos ensinamentos passados desde a graduação, quando tive primeiro contato com a citogenética, assim como a paciência, compreensão e orientação durante todo o mestrado.

À minha coorientadora Dra. Diana Salles Sampaio pela coleta e identificação do material utilizado, assim como pelas direções dadas durante o estudo.

Ao Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira por ceder o espaço do LAMOVl para realização do trabalho, além do extremo cuidado, zelo e manutenção do fotomicroscópio de fluorescência, peças imprescindíveis à realização deste estudo.

Aos membros da banca, Dra. Andréa Macêdo Corrêa e Dra. Fernanda Motta da Costa Santos por aceitarem participar da banca examinadora.

À UFU, Instituto de Biologia, Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal e LAMOVl pela infraestrutura oferecida, imprescindível para desenvolvimento das pesquisas.

Aos professores e colegas de laboratório pela companhia, conselhos e sugestões dadas durante esses dois anos.

À Secretaria e Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, pelo pronto atendimento e orientações quanto a procedimentos burocráticos.

Aos amigos e colegas de LAMOVl, Lígia, Stéphanl, Marília, Nayara, Ludimila, Fernanda, Rafaela, Kleber, Rafael, Aninha, Jéssyca, Taynara, Mariana Alves, Mariana Duarte, Manoela, Myke, Pâmela, Renata, Thaís e Rafaela por conversas, conselhos, ensinamentos e convivência.

Em especial agradeço a Lígia por estar sempre presente durante todo esse processo, pelos conselhos e ouvidos emprestados sempre com presteza. Ao Rafael, que sempre me salvou quanto à utilização de Photoshop e outros softwares complicados. A Stéphanl, companheira de cinema, de conversas, conselhos, e a palavra amiga sempre me acalmando, quando eu mesma estava à beira de um ataque de nervos. Por fim, mas não menos importante, agradeço a Fernanda não só pela companhia no módulo da citogenética, mas por conselhos, conversas e ajuda durante técnicas novas, as quais não possuía nenhuma experiência.

À amiga mais querida, Vanessa Fayad, que mesmo estudando longe, sempre me apoiou e me escutou, além da companhia quando possível e carinhos sempre presentes.

## SUMÁRIO

RESUMO	VIII
ABSTRACT	IIX
INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	10
1. INTRODUÇÃO	19
2. MATERIAIS E MÉTODOS	23
2.1. Material botânico e locais de coleta	23
Tabela 1. Lista de espécies e populações de <i>Handroanthus</i>	24
2.2. Pré-tratamento, fixação e armazenamento	24
2.3. Preparação de lâminas com digestão enzimática	25
2.4. Preparações citológicas para bandeamentos CMA3 e DAPI	25
2.5. Obtenção dos tipos cromossômicos	26
2.6. Microscopia	26
3. RESULTADOS	27
3.1. Números cromossômicos	27
3.1.1. <i>Handroanthus ochraceus</i> (Cham.) Mattos	27
3.1.2. <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC) Mattos	28
3.2. Bandeamento CMA/DAPI	29
3.2.1. <i>Handroanthus ochraceus</i> (Cham.) Mattos	30
3.2.2. <i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC) Mattos	32
Tabela 2. Número cromossômico, total de bandas e fórmulas cariotípicas de <i>Handroanthus ochraceus</i> e <i>Handroanthus chrysotrichus</i> .	33
4. DISCUSSÃO	35
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
6. ANEXO 1	48
Figura 1. Trecho da filogenia para Lamiales	48
Figura 2. Trecho da filogenia da ‘ <i>Tabebuia alliance</i> ’	49
Figura 3. Mapas de distribuição geográfica de <i>Handroanthus</i> no Brasil.	50
Figura 4. Mapa de pontos de coleta das populações de <i>Handroanthus</i> .	50
Figura 5. Tipos cromossômicos.	50
Figura 6. Tipos cromossômicos da população de Jataí de <i>H. ochraceus</i> .	51
Figura 7. Tipos cromossômicos da população de Três Marias de <i>H. ochraceus</i> .	51
Figura 8. Tipos cromossômicos da população de Bom Jesus de Goiás de <i>H. ochraceus</i> .	52
Figura 9. Tipos cromossômicos da população de São José do Rio Preto de <i>H. ochraceus</i> .	52

<b>Figura 10.</b> Tipos cromossômicos da população de Itatiaia de <i>H. chrysotrichus</i> .	53
<b>Figura 11.</b> Tipos cromossômicos da população de Uberlândia (UDI) de <i>H. chrysotrichus</i> .	53
<b>Figura 12-15.</b> Jataí – Indivíduo 1.	54
<b>Figura 16-19.</b> Jataí – Indivíduo 1.	55
<b>Figura 20-23.</b> Jataí – Indivíduo 2.	56
<b>Figura 24-26.</b> Jataí – Indivíduo 2.	57
<b>Figura 27-29.</b> Três Marias – Indivíduo único e Bom Jesus de Goiás – Indivíduo 1.	58
<b>Figura 30-32.</b> Bom Jesus de Goiás – Indivíduo 1.	59
<b>Figura 33-36.</b> Bom Jesus de Goiás – Indivíduo 2 e 3.	60
<b>Figura 37-39.</b> Bom Jesus de Goiás – Indivíduo 3 e São José do Rio Preto – Indivíduo 1.	61
<b>Figura 40-42.</b> São José do Rio Preto – Indivíduo 2.	62
<b>Figura 43-45.</b> São José do Rio Preto – Indivíduo 3.	63
<b>Figura 46-48.</b> Itatiaia – Indivíduo 1 e 2.	64
<b>Figura 49-51.</b> Itatiaia – Indivíduo 3 e 4.	65
<b>Figura 52-54.</b> Uberlândia – Indivíduo 1.	66
<b>Figura 55-57.</b> Uberlândia – Indivíduo 2.	67
<b>Figura 58-60.</b> Uberlândia – Indivíduo 3 e 4.	68
<b>Figura 61-63.</b> Uberlândia – Indivíduo 4 e 5.	69



## RESUMO

A família Bignoniaceae é pantropical e possui cerca de 827 espécies e 82 gêneros, sendo o gênero *Handroanthus* composto por espécies lenhosas conhecidas popularmente como Ipês. Além de corola amarelada, o indumento nas folhas e caule caracterizam estas espécies. No campo, existem problemas na identificação entre *Handroanthus ochraceus* e *Handroanthus chrysotrichus* por conta da presença de indivíduos com características intermediárias em uma mesma área, assim como o relato de sucesso na hibridização em campo entre as duas espécies, indicando a possibilidade de hibridação natural, apesar desta ser considerada rara em Bignoniaceae. Contagens cromossômicas e caracterização morfológica através de bandeamento com fluorocromos CMA/DAPI foram realizadas em duas espécies de *Handroanthus*, cada uma delas com 9 indivíduos de localidades diferentes, a fim de investigar padrões de evolução cariotípica. Nenhum dos citótipos apresentou bandas DAPI<sup>+</sup>, porém foram observadas de 5 a 18 bandas CMA<sup>+</sup>. O indivíduo de Três Marias foi o único a apresentar número cromossômico conservado ( $2n=80$ ) e também a mesma quantidade de bandas CMA positivas. Os demais citótipos, tanto diplóides como poliplóides, apresentaram diversos padrões de bandas em um mesmo indivíduo, assim como perdas cromossômicas, o que leva a crer que estes indivíduos se encontram em processo de evolução cariotípica. Estudos de hibridação *in situ* são sugeridos para confirmação de tais inferências, assim como a amostragem de outras populações.

Palavras-chave: Bandeamento CMA/DAPI, cromossomos, evolução cariotípica, ipê, poliploidia.

## ABSTRACT

The Bignoniaceae family is pantropical and has about 827 species and 82 genera with the *Handroanthus* genus composed of woody species known popularly as 'Ipê'. The yellow corolla and trichomes in the leaves and stem characterize these species. In the field there are problems with identification of *Handroanthus ochraceus* and *Handroanthus chrysotrichus* due to the presence of individuals with intermediate characteristics in the same area, as well as the report of successful artificial hybridization between these species, suggesting the possibility of natural hybridization, even though this is considered rare in Bignoniaceae. Chromosome counts and morphological characterization by banding with fluorochromes CMA / DAPI were performed in two species of *Handroanthus* with 9 individuals from different locations in order to investigate patterns of karyotypic evolution. None of the cytotypes showed DAPI<sup>+</sup> bands, but CMA<sup>+</sup> bands varied from 5 to 18. The individual of Três Marias was the only one to show conserved chromosome number ( $2n = 80$ ) and also the same amount of CMA<sup>+</sup> bands. The other cytotypes, both diploid and polyploid, showed different patterns of bands in the same individual, as well as chromosomal losses, which suggests that these individuals are in a process of karyotype evolution. *In situ* hybridization studies are suggested to confirm such inferences as well as the sampling of other populations.

Keywords: CMA/DAPI banding, chromosomes, karyotype evolution, ipê, poliploidy

## INTRODUÇÃO GERAL

A família Bignoniaceae, com cerca de 827 espécies e 82 gêneros (Olmstead *et al.* 2009, Lohmann & Ulloa 2011, Santos *et al.* 2013), é pantropical e seu centro de diversidade encontra-se nas regiões neotropicais, principalmente na América do Sul (Gentry 1980, 1992, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Lohmann 2004, 2006). Apenas no Brasil são encontrados cerca de 32 gêneros e 391 espécies (Santos *et al.* 2013), sendo considerado um dos centros de dispersão e de diversidade da família (Gentry 1973). Estão inclusas na família árvores, arbustos e lianas, além de dois gêneros herbáceos (Gentry 1980, Olmstead *et al.* 2009) e os maiores gêneros são *Tabebuia* com cerca de 100 spp., *Arrabidaea* com cerca de 70 spp., *Adenocalymma* com cerca de 50 spp. e *Jacaranda* com cerca de 40 spp. (Judd *et al.*, 1999).

Além disso, a família apresenta importância econômica e sua grande diversidade de plantas lenhosas é importante na composição de florestas neotropicais (Gentry 1980; Lohmann 2006), sendo que a grande diversidade vegetal da família nessas regiões está relacionada principalmente aos sistemas de polinização dependentes de animais e aos sistemas de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) (Bawa 1974; Gibbs & Bianchi 1993, 1999; Oliveira & Gibbs 2000, Bittencourt Júnior 2003, Sampaio 2010). Há ainda grande número de espécies de Bignoniaceae em cada comunidade vegetal onde ocorre, demonstrando que elas são adaptadas a uma ampla gama de variações ambientais (Gentry 1976, 1980, 1990).

A família apresenta também importância em vários aspectos, entre eles a qualidade da madeira, utilizada tanto na construção civil como na indústria madeireira, são fontes de corantes utilizadas por comunidades. Porém, um ponto bastante

explorado é seu elevado potencial ornamental, que desperta o interesse de paisagistas que incluem espécies arbóreas em projetos paisagísticos urbanos (Gentry, 1980). Há também grande importância etnobotânica e medicinal do grupo, especialmente das lianas, utilizadas como alucinógenos e afrodisíacos por comunidades indígenas e, na medicina popular, para o tratamento de diversas doenças, como câncer, diabetes, hepatites e sífilis, sendo uma possível fonte de compostos bioativos para a indústria farmacêutica (Gentry, 1980, 1992, 1993).

Revisões taxonômicas baseadas em estudos recentes de filogenia molecular (Spangler & Olmstead 1999, Lohmann 2006, Grose & Olmstead 2007 a e b, Olmstead *et al.* 2009, Lohmann 2014), posicionaram a família Bignoniaceae na ordem Lamiales (Figura 1) (Judd *et al.* 2008). Bignoniaceae é representada por oito tribos, sendo estas Bignonieae, Catalpeae, Coleeae, Crescentieae, Jacarandaeae, Oroxyleae, Tecomeae e Tourrettieae (Olmstead *et al.* 2009). Atualmente a família é considerada monofilética, tendo como sinapomorfias morfológicas, a ausência de endosperma na semente, folhas compostas e sementes providas de asas hialinas circundando o embrião (Spangler & Olmstead, 1999).

Estudos moleculares recentes também elucidaram dois pontos importantes em relação à família. O primeiro é o fato de a tribo Tecomeae *sensu* Gentry (1980), que é a segunda maior em Bignoniaceae, se apresenta como parafilética. O segundo foi o fato de o gênero *Tabebuia* ter sido definido como polifilético, e por esse motivo, ter sido dividido em três gêneros: *Roseodendron*, *Tabebuia* e *Handroanthus*. O gênero *Roseodendron*, com duas espécies, tem cálice amarelado semelhante à corola, enquanto as espécies do gênero *Tabebuia* possuem corola branca ou avermelhada, e raramente amarelada, indumento de escamas lepidotas ou sésseis. Por fim, as plantas do gênero *Handroanthus* apresentam corola amarelada, indumento nas folhas e caule,

além de ter espécies com madeira extremamente densas (Grose & Olmstead 2007, Rodrigues 2012).

A linhagem neotropical de Bignoniaceae, denominada informalmente de aliança *Tabebuia* (Figura 2), possui cerca de 14 gêneros e 147 espécies, sendo composta pela tribo Crescentieae (35 espécies e três gêneros: *Amphitecna*, *Crescentia* e *Parmentiera*) e por 112 espécies pertencentes a 11 gêneros (*Cybistax*, *Ekmanianthe*, *Godmania*, *Handroanthus*, *Paratecoma*, *Romeroa*, *Roseodendron*, *Sparattosperma*, *Spirotecoma*, *Tabebuia* e *Zeyheria*) segregados de Tecomeae (Grose & Olmstead, 2007b; Olmstead *et al.*, 2009). Seu nome informal deve-se ao grande número de espécies do gênero *Tabebuia* que pertencem a esse grupo (Grose & Olmstead 2007b).

No Brasil essa aliança possui cerca de 44 espécies e sete gêneros, sendo eles *Cybistax*, *Godmania*, *Handroanthus*, *Paratecoma*, *Sparattosperma*, *Tabebuia* e *Zeyheria* (Espírito-Santo 2012). O gênero *Handroanthus* Mattos (1970) é pequeno e possui aproximadamente 30 espécies distribuídas em toda América Central e do Sul, com uma espécie ocorrendo nas Antilhas (Grose & Olmstead 2007a).

As espécies de Bignoniaceae apresentam predominantemente o número cromossômico de  $2n=40$  e  $x=20$  (Goldblatt & Gentry 1979, Piazzano 1998, Sampaio 2010), porém  $2n=36$  está presente em algumas espécies já estudadas (Sampaio 2010).

Estudos de filogenia molecular colocaram o gênero *Jacaranda*, que é grupo irmão de *Handroanthus*, com  $2n=36$ , juntamente a *Digomphia*, de número cromossômico desconhecido, constituindo a tribo Jacarandaeae, a mais basal da família (Spangler & Olmstead 1999, Olmstead *et al.* 2009). Análises do número cromossômico de outras famílias da ordem Lamiales também mostram a presença de espécies com  $2n=36$  (<http://www.tropicos.org/Project/IPCN>), por isso é possível que

os eventos de poliploidização ocorridos no passado sejam compartilhados pelo ancestral da ordem, que teria um número básico de  $x=6$  (Sampaio 2010).

Os grupos mais basais do grupo “core” das Bignoniaceae (Figura 2), Tourrettieae, Argylia, Tecomeae *sensu strictu*, e Delostoma, possuem ampla distribuição geográfica e diferentes formas de vida (Olmstead et al. 2009), o que pode explicar a grande variabilidade nos números de cromossomos encontrados em várias espécies do grupo, embora eupoliploidizações estejam ausentes (Sampaio 2010). O grupo que engloba o clado das Crescentiina, Catalpeae e Bignonieae, parece ser onde o número de  $2n=40$  se estabilizou. A estabilização do número cromossômico em Bignoniaceae pode ter sido vantajosa, favorecendo uma maior diversificação de suas espécies (Olmstead *et al.* 2009 *apud* Sampaio 2010).

A especiação simpátrica, que se dá pela mudança no número cromossômico e processos de hibridação, é considerada rara na família Bignoniaceae (Gentry 1980, 1990). Apesar de existir certa sobreposição entre a floração de espécies (Amaral 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007), cruzamentos interespecíficos e a formação de híbridos podem ser evitados (Sampaio 2010), pois cada espécie parece apresentar um nicho de polinização único (Gentry 1990, Amaral 1992, Ynagizawa & Maimoni-Rodella 2007, Zjhra 2008).

A especiação alopátrica pode justificar a concorrência de espécies filogeneticamente distantes numa mesma comunidade, sendo que este processo é considerado bastante comum em Bignoniaceae (Gentry 1980, 1990). Porém, o contato secundário gerado entre espécies congênicas, dado pela quebra de barreiras geográficas poderia favorecer o fluxo gênico e hibridações entre elas (Sampaio 2010).

Deste modo, embora hibridações e especiações simpátricas sejam consideradas raras em Bignoniaceae, existem registros de cruzamentos em casas de vegetação, que geraram prole viável entre espécies dos gêneros *Catalpa*, *Chilopsis* e *Campsis* (Gentry 1990), e em polinizações experimentais no campo entre espécies do gênero *Handroanthus* (Sampaio 2010), *Tabebuia sensu strictu* (Bittencourt Júnior 2003) e *Anemopaegma* (Firetti 2009). Portanto, acredita-se ser possível a ocorrência de hibridações naturais em espécies desses três gêneros. Tal inferência pode ser feita, pois já foram observados indivíduos com morfologia intermediária na natureza, o que gera uma série de complicações no tratamento taxonômico dos gêneros em questão (Ferreira 1973, Gentry 1990, Gentry 1992, Firetti 2009).

Geralmente tais complicações ocorrem dentro de complexos, que são pequenos grupos de espécies dentro de cada gênero, como os complexos *chrysotricha*, formado pelas espécies de *Handroanthus* (Paclt 1992), e *arvense*, referente às espécies de *Anemopaegma* (Ferreira 1973, Firetti 2009). Durante as transições entre os períodos glaciais e interglaciais pode ter ocorrido o contato entre espécies filogeneticamente próximas, como por exemplo, entre espécies de florestas tropicais úmidas e de cerrado, que possuem distribuição alopátrica, o que favoreceria o fluxo gênico entre elas (Sarmiento 1983, Morawetz 1986, Forni-Martins & Martins 2000, Carman 2007 *apud* Sampaio 2010). A destruição de barreiras geográficas pela ação humana e a introdução de espécies exóticas também podem ser consideradas ações promotoras de cruzamentos interespecíficos (Ellstrand & Schierenbeck 2000, Ellstrand 2003).

As dificuldades que geralmente ocorrem durante o pareamento cromossômico dos híbridos, que por vezes leva a produção de gametas não reduzidos nesses indivíduos (Ramsey & Schemske 1998, 2002), podem levar à produção de plantas triploides, quando estes cruzam com espécies parentais diplóides, ou também gerar

indivíduos diplóides, triplóides ou tetraplóides, no caso de espécies autoférteis (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Levin 2002). Desta forma, indivíduos alopoliplóides aparentam ter maior facilidade no pareamento de cromossomos, podendo estabelecer novas linhagens evolutivas (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Levin 2002, Soltis *et al.* 2007), o que pode levar ao aparecimento de características completamente novas, justificando assim o reconhecimento de novas espécies (Soltis *et al.* 2009). Estas características tem sido cada vez mais observadas em espécies da flora brasileira como, por exemplo, em Orquidaceae.

As espécies *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos e *H. chrysotrichus* possuem representantes no Cerrado e Mata Atlântica. Sua distribuição é distinta quanto aos estados de ocorrência, porém há regiões em que ambas podem estar presentes. *H. ochraceus* (Figura 3A) está distribuído nas regiões Norte (Pará e Tocantins), Nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí), Centro-oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná). Já *H. chrysotrichus* (Figura 3B) tem representantes no Nordeste (Bahia, Paraíba, Pernambuco), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina).

Além de citótipos diplóides, com  $2n=40$ , *H. ochraceus* apresenta citótipos tetraplóides, com  $2n=80$  (Sampaio 2010). A ocorrência de citótipos diplóides e tetraplóides em diferentes populações pode indicar que os tetraplóides tenham se dispersado de suas populações de origem e se estabelecido em novos habitats (Stebbins 1971, Levin 2002). Já *H. chrysotrichus* apresenta  $2n=80$  cromossomos, sendo, portanto tetraplóide (Sampaio 2010).



De acordo com Gentry (1992), *Handroanthus chrysotrichus* pode ser o resultado de cruzamentos entre *H. ochraceus* e alguma outra espécie congênica, pois indivíduos de *H. chrysotrichus* e *H. ochraceus* são frequentemente confundidos uns com os outros e já foram observados indivíduos de morfologia intermediária. Porém, *H. chrysotrichus* parece diferir morfológica e ecologicamente de seus possíveis parentais diplóides, diferentemente do citótipo tetraplóide de *H. ochraceus*, o que pode ter feito com que fosse reconhecida como uma espécie e não uma variedade de *H. ochraceus*, e justificaria sua expansão para habitats como florestas com distúrbios (Levin 2002).

A presença de diferentes citótipos em *H. ochraceus* e a proximidade taxonômica dessa espécie com *H. chrysotrichus* (Gentry 1992, Grose & Olmstead 2007b), indicam que ambos podem se tratar de complexos agâmicos poliplóides, que são definidos como a associação entre citótipos poliplóides, autofertilidade e apomixia num mesmo grupo de plantas, gerando citótipos que apresentam diferenças morfológicas e variações em seus sistemas reprodutivos, gerando assim um grande desafio para o tratamento taxonômico do gênero (Nogler 1984, Stebbins 1971, Levin 2002, Soltis *et al.* 2007, 2009, Bayer & Chandler 2007, Talent & Dickinson 2007, Sampaio 2010).

Estudos citogenéticos são importantes nas análises de várias características cromossômicas, como a morfologia, organização, replicação, variação e também sua função (Guerra 1988), de maneira que é possível usar tais dados para compreender mecanismos evolutivos e também na determinação de relações filogenéticas (Stebbins 1971).

A contagem cromossômica por si só já é um parâmetro que fornece dados importantes para a taxonomia e sua obtenção é considerada simples e barata (Guerra 2008). Apesar de confiável, somente os dados de contagem cromossômica não são suficientes na elucidação da maioria dos casos de problemas encontrados tanto nas relações interespecíficas, como nas intraespecíficas. Técnicas mais detalhadas da morfologia cromossômica têm sido cada vez mais utilizadas na resolução de inconsistências taxonômicas. Foi possível diferenciar algumas subfamílias através do padrão de condensação prometafásico e pelo padrão de coloração com fluorocromos em espécies da família Arecaceae (Röser 1994, 1995). O padrão de bandeamento heterocromático foi estudado através da análise com CMA e DAPI em Rutaceae, onde *Murraya paniculata* e *M. koenigii* apresentaram padrões de bandas CMA bem distintos, sugerindo assim a separação da última espécie no gênero *Bergera*, dentro da subtribo Clauseninae, enquanto *M. paniculata* seria classificada junto com o gênero *Merrillia*, dentro da subtribo Merrilliinae (Guerra *et al.* 2000).

Estudos cariotípicos são também importantes ferramentas para investigação de possíveis origens híbridas, assim como para detecção de hibridações naturais em diversos grupos de plantas. Estão incluídos nesses estudos técnicas de bandeamentos com o uso de fluorocromos como marcadores de sequências específicas, entre outros (Costa 2006).

Esses estudos facilitam a identificação de pares cromossômicos, além de possibilitar a detecção de pequenas alterações estruturais nos cromossomos e a sua localização exata, as quais não poderiam ser identificadas pelas técnicas de coloração convencional (Guerra 1988; D'Emérico *et al.* 1999). Para estudos evolutivos, estas técnicas possibilitam também a observação detalhada das transformações que ocorrem em grupos de espécies próximas taxonomicamente ou citótipos, que apresentam

cariótipos muito semelhantes (Cerbah *et al.* 1995, 1998; Guerra 1988; Snowdon *et al.* 2001; Sumner 2003).

A coloração com fluorocromos determina a composição predominante da heterocromatina (Schweizer 1976), sendo que o fluorocromo DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) evidencia sequências repetitivas de DNA compostas principalmente por adenina e timina (A-T). Já o CMA (cromomicina A<sub>3</sub>) liga-se predominantemente a regiões ricas em citosina e guanina (C-G) (Moscone *et al.* 1996).

A principal importância da utilização de cromossomos mais distendidos em estudos morfológicos tem sido a determinação de bandas extras e dos pontos de quebra-fusão que podem ocorrer nas alterações cromossômicas (Therma & Susman 1992). Dessa forma, as técnicas de bandeamento cromossômico têm contribuído para a identificação de alterações cromossômicas e seus locais de ocorrência no genoma (Giannoni & Lui 1988; Torres-Mariano & Morelli 2008).

O objetivo do presente trabalho é a análise da morfologia cromossômica da progênie de diferentes citótipos de *Handroanthus ochraceus* e de *H. chrysotrichus*, em diferentes populações, através de bandeamento cromossômico utilizando a coloração sequencial CMA/DAPI, com a finalidade de assim compreender possíveis padrões de evolução cariotípica e suas implicações em processos reprodutivos e especialmente na taxonomia e evolução do gênero *Handroanthus*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amaral, M. E. C. 1992. Ecologia floral de dez espécies da Tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma floresta semidecídua no município de Campinas, SP. **Tese (Doutorado)**, Departamento de Ecologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Bawa, K. S. 1974. Breeding systems of tree species of lowland tropical community. **Evolution** **28**: 85-92. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1974.tb00729.x>

Bayer, R. J. & Chandler, G. T. 2007. Evolution of polyploid agamic complexes: a case study using the Catipes group of *Antennaria*, including the *A. rosea* complex (Asteraceae: Gnaphalieae). In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 317-336. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Biondo, E.; Miotto, S.T.S.; Schiffino-Wittmann, M.T. 2005. Citogenética de espécies arbóreas da subfamília Caesalpinioideae - Leguminosae do sul do Brasil. **Ciência Florestal** **15**: 241-248. <https://doi.org/10.5902/198050981861>

Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Autoincompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese (Doutorado)**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Briggs, D.; Walters, S. M. 1997. **Plant variation and evolution**. University Press: Cambridge.

Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörland, E.; Grossniklaus, U.; van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Cerbah, M.; Coulaud, J. Godelle, B. & Siljak-Yakovlev, S. 1995. Genome size fluorochrome banding, and karyotype evolution in some *Hypochaeris* species. **Genome** **38**: 689-695. <https://doi.org/10.1139/g95-087>

Cerbah, M.; Coulaud, J. & Siljak-Yakovlev, S. 1998. rDNA organization and evolutionary relationship in the genus *Hypochaeris* (Asteraceae). **The J Heredity** **89**: 312-318. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.4.312>

Clarck, M. S.; Wall, W. J. 1992. **Chromosomes: the complex code**. Chapman e Hall, England, 345p.

Costa, J. Y. 2006. Citotaxonomia e aspectos evolutivos de espécies de Hoffmannseggella H.G. Jones (Orchidaceae), De Campos Rupestres Brasileiros. **Tese (Doutorado)**. Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Botânica.

Costa, M. E.; Sampaio, D. S.; Paoli, A. A. S. & Leite, S. C. A. L. 2004. Poliembrião e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). **Revista Brasileira de Botânica** 27: 395-406.  
<https://doi.org/10.1590/S0100-84042004000200017>

Cuco, S. M.; Vieira, M. L. C.; Mondin, M. & Aguiar-Perecin, M. L. R. 2005. Comparative karyotype analysis of three *Passiflora* L. species and cytogenetic characterization of somatic hybrids. **Caryologia** 58: 220-228.  
<https://doi.org/10.1080/00087114.2005.10589454>

D'Emérico, S.; Grünanger P.; Scrugli A.; & Pignone D. 1999. Karyomorphological parameters and C-band distribution suggest phyletic relationships within the subtribe Limodorinae (Orchidaceae). **Plant Systematics and Evolution**. 217p.  
<https://doi.org/10.1007/BF00984927>

Ellstrand, N. C. & Schierenbeck, K. A. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? **Proceedings of the National Academy of Sciences** 97: 7043-7050. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.13.7043>

Ellstrand, N. C. 2003. Current knowledge of gene flow in plants: implications for transgene flow. **Phil. Trans, R. Soc. London B** 338: 1163-1170.  
<https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1299>

Espírito-Santo, F. S. 2012. A Aliança Tabebuia (Bignoniaceae) no Estado da Bahia. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Estadual De Feira De Santana, Departamento de Ciências Biológicas, Feira De Santana, BA.

Ferreira, M. B. 1973. Bignoniaceae do Distrito Federal - I. O gênero *Anemopaegma* Mart. **Oréades** 4: 28-39.

Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese (Doutorado)**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.

Forni-Martins, E. & Martins, F. R. 2000. Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. **Genetic and Molecular Biology** **23**: 947-955. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572000000400040>

Fuchs, J.; Strehl, S.; Brandes, A.; Schweizer, D.; Schubert, I. 1998. Molecular-cytogenetic characterization of the *Vicia faba* genome – heterochromatin differentiation, replication patterns and sequence localization. **Chromosome Research** **6**: 219-230. <https://doi.org/10.1023/A:1009215802737>

Fukui, K.; Nakayama, S. 1996. Plant chromosomes: laboratory methods. **CRC Press**, U.S.A., 274p.

Gentry, A. H. 1973. Generic delimitations of Central American Bignoniaceae. **Brittonia** **25**: 226-242. <https://doi.org/10.2307/2805585>

Gentry, A. H. 1976. Bignoniaceae of southern Central America. Distribution and ecological specity. **Biotropica** **8**: 117-131. <https://doi.org/10.2307/2989632>

Gentry, A. H. 1980. Bignoniaceae - Part. I. (Crescentieae and Tourrettieae). **Flora Neotropica Monograf** **25**: 1-130.

Gentry, A. H. 1990. Evolutionary patterns in Neotropical Bignoniaceae. **Memoirs of the New York Botanical Garden** **55**: 118-129.

Gentry, A. H. 1992. A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **79**: 53-64. <https://doi.org/10.2307/2399809>

Gentry, A. H. 1993. Six new species of *Adenocalymna* (Bignoniaceae) from eastern South America. **Novon** **3**: 137-141. <https://doi.org/10.2307/3391520>

Giannoni, M. L.; Lui, J. F. 1988. Citogenética e sua aplicação na seleção de reprodutores eqüinos. **UNESP**, Jaboticabal. 31p.

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibility. **Botanica Acta** **106**: 64-71. <https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.1993.tb00339.x>

Gibbs, P. E. & Bianchi, M. B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LST: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. **Annals of Botany** **84**: 449-457. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.0933>

Goldblatt, P. & Gentry, A. H. 1979. Cytology of Bignoniaceae. **Botanical Notiser** **132**: 475-482.

Goldblatt, P. 1976. New or noteworthy chromosome records in the angiosperms. **Annual Missouri Botanic Garden** **64**: 889-895. <https://doi.org/10.2307/2395253>

Gottsberger, G. & Silberbauer-Gottsberger, I. 2006. **Life in the Cerrado: a south american tropical seasonal ecosystem**. Vol. 1: origin, structure, dynamics and plant use. Ulm: Reta Verlag, Germany.

Grose, S. O. & Olmstead, R. G. 2007a. Evolution of a charismatic neotropical clade: molecular phylogeny of *Tabebuia* s.l., *Crescentieae*, and allied genera (Bignoniaceae). **Systematic Botany** **32**: 650-659. <https://doi.org/10.1600/036364407782250553>

Grose, S. O. & Olmstead, R. G. 2007b. Taxonomic revision in the polyphyletic genus *Tabebuia* s.l. (Bignoniaceae). **Systematic Botany** **32**: 660-670. <https://doi.org/10.1600/036364407782250652>

Guerra, M. 2008. Chromosome numbers in plant cytogenetics: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research** **120**: 339-350. <https://doi.org/10.1159/000121083>

Guerra, M. S. 1988. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 130.

Guerra, M.; Souza, M. J. 2002. **Como observar cromossomos**. Ribeirão Preto: Ed. Funpec, 131p.

John, B. 1988. The biology of heterochromatin. Pp. 1-147. In: Verma, R. S. (Ed.). **Heterochromatin: molecular and structural aspects**. New York, Cambridge University Press, 320p.

Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A. & Stevens, P. F. 1999. *Plant systematics: a phylogenetic approach*. **Sunderland**: Sinauer.

Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F. & Donoghue, M. J. 2008. Chapter 7. An overview of green plant phylogeny. In: JuddWS, ed. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland, UK: Sinauer Associates, Inc., 153–184.

Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford.

Lohmann, L. G. 2004. Bignoniaceae In: Smith, N.; Mori, S.A; Henderson, A.; Stevenson, D.W. & Heald, S.V. (eds.) *Flowering Plants of the Neotropics*. New Jersey: **Princeton University Press**. p.1-53.

Lohmann, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). **American Journal of Botany** **93**: 304-318.  
<https://doi.org/10.3732/ajb.93.2.304>

Lohmann, L. G. & Ulloa, U. 2011. Bignoniaceae in iPlants prototype Checklist. Disponível em <<http://www.iplants.org>>.

Lohmann, L. G. 2014. Bignoniaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB112305>>.

Lohmann, L.G. Bignoniaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB114078>>. Acesso em: 24 Dez. 2014.

Lohmann, L.G. Bignoniaceae in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB114091>>. Acesso em: 24 Dez. 2014.



- Londe, L. N. 2010. Caracterização Molecular e Citogenética de frutos de *Caryocar brasiliense* (Cambess) com e sem espinho no caroço. 155 f. **Tese (Doutorado)**. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.
- Marcon, A. B.; Barros, I. C. L.; Guerra, M. 2005. Variation in chromosome numbers, CMA bands and 45S rDNA sites in species of Selaginella (Pteridophyta). **Annals of Botany** **95**: 271-276. <https://doi.org/10.1093/aob/mci022>
- Mondin, M.; Aguiar-Perecin, M. L. R.; Morales, A. G.; Andrade, L.M.; Molina, S. C. M. 2007. Citogenética do gênero *Crotalaria* (Leguminosae-Papilionoideae): da clássica a molecular. In: **Simposio Latinoamericano de Citogenética y Evolución**, 2, 2007a, Palmira. Memórias. Palmira: Universidad Nacional de Colômbia, p. 189-195.
- Morawetz, W. 1986. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody plants. **Plant Systematics and Evolution** **152**: 49-100. <https://doi.org/10.1007/BF00985351>
- Moscone, E. A; Matzke, M. A. & Matzke, A. J. M. 1996. The use of combined FISH/GISH in conjunction with DAPI counterstaining to identify chromosomes containing transgene inserts in amphidiploid tobacco. **Chromosoma** **105**: 231-236. <https://doi.org/10.1007/BF02528771>
- Nogler, G. A. 1984. Gametophytic apomixis. In: Johri, B. M. (ed.). p. 475-518. **Embryology of Angiosperms**, Springer-Verlag, Berlin. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-69302-1\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-69302-1_10)
- Oliveira, P. E. & Gibbs, P. E. 2000. Reproductive biology of woody plants in a Cerrado community of Central Brazil. **Flora** **195**: 311-329. [https://doi.org/10.1016/S0367-2530\(17\)30990-8](https://doi.org/10.1016/S0367-2530(17)30990-8)
- Olmstead, R. G., Zjhra, M. L., Lohmann, L. G., Grose, S. O. & Eckert, A. J. 2009. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. **American Journal of Botany** **96**: 1731-1743. <https://doi.org/10.3732/ajb.0900004>
- Ortolani, F. A. 2007. Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de ipês (Bignoniaceae). 2007. xi, 95 f. **Tese (Doutorado)**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.

Paclt, J. 1992. A review of brazilian representatives of the chrysotricha species group in the genus *Tabebuia* Gomes ex DC. (Bignoniaceae) **Acta Botanica Hungarica** **37**: 95-103.

Piazzano, M. 1998. Números cromosômicos em Bignoniaceae de Argentina. **Kurtziana** **26**: 179-189.

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 1998. Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** **29**: 467-501. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.29.1.467>

Ramsey, J. & Schemske, D. W. 2002. Neopolyploidy in flowering plants. **Annual Review of Ecology and Systematics** **33**: 589-639. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.33.010802.150437>

Rodrigues, M. C. 2012. Bignoniáceas de dezoito fragmentos florestais remanescentes no noroeste paulista. **Dissertação (Mestrado)**. Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, Botucatu, SP.

Ruas, C. F.; Vanzela, A. L. L.; Santos, M. O.; Fregonezi, J. N.; Ruas, P. M.; Matzenbacher, N. I. & Aguiar-Perecin, M. L. R. 2005. Chromosomal organization and phylogenetic relationships in *Hipochaeris* species (Asteraceae) from Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, Ribeirão Preto, v. 28, p. 129-139. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572005000100023>

Salomão, A. N. & Allem, A. C. 2001. Polyembryony in angiosperm trees of the brazilian cerrado and caatinga vegetation. **Acta Botânica Brasilica** **15**: 369-378. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062001000300007>

Sampaio, D.S. 2010. Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal de Uberlândia, MG.

Santos, L. L. et al. 2014. Bignoniaceae Juss. no Parque Nacional Vale do Catimbau, Pernambuco. **Rodriguésia** **64**. Available from <<http://dx.doi.org/10.1590/S2175-78602013000300003>> Acesso em 22 de dezembro de 2014. <https://doi.org/10.1590/S2175-78602013000300003>

Sarmiento, G. 1983. The savannas of tropical America. In: Bourlière, F. (ed.). p. 245-288. **Ecosystems of the world**. Elsevier, Amsterdam.

Schäferhoff, B., Fleischmann, A., Fischer, E., Albach, D.C., Borsch, T., Heubl, G., Müller, K.F., 2010. Towards resolving Lamiales relationships: insights from rapidly evolving chloroplast sequences. **BMC Evolutionary Biology** **10**: 352–374. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-352>

Schwarzacher, T.; Schweizer, D. 1982. Karyotype analysis and heterochromatin Differentiation with Giemsa (Banding and Fluorescent Counterstaining in *Cephalanthera* (Orchidaceae). **Plant systematic and Evolution** **141**: 91-113. <https://doi.org/10.1007/BF00986411>

Schweizer, D. 1976. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. **Chromosoma** **58**: 307-324. <https://doi.org/10.1007/BF00292840>

Schweizer, D. & J. Loidl. 1987. A model for heterochromatin dispersion and the evolution of C band patterns. **Chromosome Today** **9**: 61-74. [https://doi.org/10.1007/978-94-010-9166-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-010-9166-4_7)

Snowdon R., Kusterer B., Horn R. 2001. Structural genome analysis using molecular cytogenetic techniques. **Progress in Botany** **63**: 55-79. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-56276-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-56276-1_2)

Soltis, D. E.; Albert, V. A.; Leebens-Mack, J.; Bell, C. D.; Paterson, A. H.; Zheng, C.; Sankoff, D.; Pamphilis, C. W.; Kerr Wall, P. & Soltis, P. S. 2009. Polyploidy and angiosperm diversification. **American Journal of Botany** **96**: 336-348. <https://doi.org/10.3732/ajb.0800079>

Soltis, D. E.; Soltis, P. S.; Schemske, D. W.; Hancock, J. F.; Thompson, J. N.; Husband, B. C. & Judd, W. S. 2007. Autopolyploidy in angiosperms: have we grossly underestimated the number of species? **Taxon** **56**: 13-30.

Souza, L. A.; Iwazaki, M. C. & Moscheta, I. S. 2005. Morphology of pericarp and seed of *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC) Stand. (Bignoniaceae). **Brazilian Archives of Biology and Technology** **48**: 407-418. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132005000300012>

Spangler, R. E., & R. G. Olmstead . 1999. Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences of rbc L and ndh F. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **86**: 33 – 46. <https://doi.org/10.2307/2666216>

Spangler, R. E. & Olmstead, R. G. 1999. Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences rbcL and ndhF. **Annals of the Missouri Botanical Garden** **86**: 33-46. <https://doi.org/10.2307/2666216>

Stebbins, G. L. 1971. **Chromosomal evolution in higher plants**. Londres: Edward Arnold, 216p

Stace, C.A., 1991. **Plant taxonomy and Biosystematics**. University Press: Cambrigde, 2nd.

Sumner A. T. 2003. **Chromosomes – Organization and Function**. North Berwick, United Kingdom, Blackwell Publishing. 287 p.

Talent, N. & Dickinson, T. A. 2007. Apomixis and hybridization in Rosaceae subtribe Pyrinae Dumort.: a new tool promises new insights. In: Hörland, E., Grossniklaus, U., van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 301-316. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.

Therma, E.; Susman, M. 1992. **Human chromosomes. Structure, behavior and effects**. Springer-Verlag, Germany. 376p.

Torres-Mariano, A. R. & Morelli, S. 2008. B chromosomes in *Astyanax eigenmanniorum* population (Characiformes, Characidae) from the Araguari River basin (Uberlandia, MG, Brazil). **Genetics and Molecular Biology** **31**: 246249. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572008000200015>

Ynagizawa, Y. A. N. & Maimoni-Rodella, R. C. S. 2007. Floral visitors and reproductive strategies in five Melittophilous species of Bignoniaceae in Southeastern Brazil. **Brazilian Archives of Biology and Technology** **50**: 1043-1050. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132007000700015>

Zjhra, M. L. 2008. Facilitating sympatric species coexistence via pollinator partitioning in endemic tropical trees of Madagascar. **Plant Systematics and Evolution** **271**: 157-176. <https://doi.org/10.1007/s00606-007-0628-9>

## 1. INTRODUÇÃO

Bignoniaceae possui distribuição pantropical e seu centro de diversidade encontra-se nas regiões neotropicais, principalmente na América do Sul (Gentry 1980, 1992, Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger 2006, Lohmann 2004, 2006). A família possui cerca de 827 espécies e 82 gêneros (Olmstead *et al.* 2009, Lohmann & Ulloa 2011, Santos *et al.* 2013), no Brasil são encontrados cerca de 32 gêneros e 391 espécies (Santos *et al.* 2013), sendo assim considerado um dos centros de dispersão e de diversidade da família (Gentry 1973). Os maiores gêneros são *Tabebuia* com cerca de 100 spp., *Arrabidaea* com cerca de 70 spp., *Adenocalymma* com cerca de 50 spp. e *Jacaranda* com cerca de 40 spp. (Judd *et al.*, 1999) e os hábitos encontrados são árvores, arbustos e lianas, além de dois gêneros herbáceos (Gentry 1980, Olmstead *et al.* 2009).

As espécies de Bignoniaceae apresentam número cromossômico de  $2n=40$  e  $x=20$  (Goldblatt & Gentry 1979 *apud* Sampaio 2010, Piazzano 1998), apesar da predominância deste, espécies com número  $2n=36$  já foram descritas (Sampaio 2010).

Embora sejam considerados raros em Bignoniaceae, casos de hibridações e especiações simpátricas já foram observados. Há registros de cruzamentos em casas de vegetação com geração de prole viável entre espécies dos gêneros *Catalpa*, *Chilopsis* e *Campsis* (Gentry 1990), além de polinizações experimentais no campo entre espécies do gênero *Handroanthus* (Sampaio 2010), *Tabebuia sensu strictu* (Bittencourt Júnior 2003) e *Anemopaegma* (Firetti 2009). Deste modo, acredita-se ser possível a ocorrência de hibridações naturais em espécies desses três gêneros. Por conta da observação de indivíduos com morfologia intermediária na natureza, tal inferência pode ser feita, porém isso também gera uma série de complicações no tratamento

taxonômico dos gêneros em questão (Ferreira 1973, Gentry 1990, Gentry 1992, Firetti 2009).

Os complexos *chrysotricha*, formado pelas espécies de *Handroanthus* (Paclt 1992), e *arvense*, referente às espécies de *Anemopaegma* (Ferreira 1973, Firetti 2009) são exemplos de onde tais complicações tomam lugar. O contato entre espécies filogeneticamente próximas pode ter ocorrido durante as transições entre os períodos glaciais e interglaciais, como por exemplo, entre espécies de florestas tropicais úmidas e de cerrado, que possuem distribuição alopátrica, o que favoreceria o fluxo gênico entre elas (Sarmiento 1983, Morawetz 1986, Forni-Martins & Martins 2000, Carman 2007 *apud* Sampaio 2010). A ação antrópica na destruição de barreiras geográficas e a introdução de espécies exóticas também podem ser consideradas ações promotoras de cruzamentos interespecíficos (Ellstrand & Schierenbeck 2000, Ellstrand 2003).

As dificuldades que geralmente ocorrem durante o pareamento cromossômico dos híbridos, que por vezes leva a produção de gametas não reduzidos nesses indivíduos (Ramsey & Schemske 1998, 2002), podem levar à produção de plantas triplóides, quando estes cruzam com espécies parentais diplóides, ou também gerar indivíduos diplóides, triplóides ou tetraplóides, no caso de espécies autoférteis (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Levin 2002). Desta forma, indivíduos alopoliplóides aparentam ter maior facilidade no pareamento de cromossomos, podendo estabelecer novas linhagens evolutivas (Ramsey & Schemske 1998, 2002, Levin 2002, Soltis *et al.* 2007), o que pode levar ao aparecimento de características completamente novas, justificando assim o reconhecimento de novas espécies (Soltis *et al.* 2009).

As espécies *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos e *H. chrysotrichus* possuem representantes no Cerrado e Mata Atlântica. Sua distribuição é distinta quanto aos estados de ocorrência, porém há regiões de sobreposição, como o sudeste. *H. ochraceus* (Figura 3A) está distribuído nas regiões Norte (Pará e Tocantins), Nordeste (Bahia, Ceará, Maranhão, Paraíba, Piauí), Centro-oeste (Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso do Sul, Mato Grosso), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná). Já *H. chrysotrichus* (Figura 3B) tem representantes no Nordeste (Bahia, Paraíba, Pernambuco), Sudeste (Espírito Santo, Minas Gerais, Rio de Janeiro, São Paulo) e Sul (Paraná, Rio Grande do Sul, Santa Catarina).

Além de citótipos diplóides, com  $2n=40$ , *H. ochraceus* apresenta citótipos tetraplóides, com  $2n=80$  (Sampaio 2010). A ocorrência de citótipos diplóides e tetraplóides em diferentes populações pode indicar que os tetraplóides tenham se dispersado de suas populações de origem e se estabelecido em novos habitats (Stebbins 1971, Levin 2002). Já *H. chrysotrichus* apresentou somente citótipo tetraplóide  $2n=80$  em todas as populações estudadas.

A contagem cromossômica por si só já é um parâmetro que fornece dados importantes para a taxonomia e sua obtenção é considerada simples e barata (Guerra 2008). Apesar de confiável, somente os dados de contagem cromossômica não são suficientes na elucidação da maioria dos casos de problemas encontrados tanto nas relações interespecíficas, como nas intraespecíficas. Técnicas mais detalhadas da morfologia cromossômica têm sido cada vez mais utilizadas na resolução de inconsistências taxonômicas. A coloração com fluorocromos determina a composição predominante da heterocromatina (Schweizer 1976), sendo que o fluorocromo DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol) evidencia sequências repetitivas de DNA compostas

principalmente por adenina e timina (A-T). Já o CMA (cromomicina A<sub>3</sub>) liga-se predominantemente a regiões ricas em citosina e guanina (C-G) (Moscone *et al.* 1996).

Na família Arecaceae, foi possível diferenciar algumas subfamílias através do padrão de condensação prometáfásico e pelo padrão de coloração com fluorocromos (Röser 1994, 1995). Em Rutaceae, o padrão de bandeamento heterocromático foi estudado através da análise com CMA e DAPI, onde *Murraya paniculata* e *M. koenigii* apresentaram padrões de bandas CMA bem distintos, sugerindo assim a separação da última espécie no gênero *Bergera*, dentro da subtribo Clauseninae, enquanto *M. paniculata* seria classificada junto com o gênero *Merrillia*, dentro da subtribo Merrilliinae (Guerra *et al.* 2000).

Estudos cariotípicos são também importantes ferramentas para investigação de possíveis origens híbridas, assim como para detecção de hibridações naturais em diversos grupos de plantas. Estão incluídos nesses estudos técnicas de bandeamentos com o uso de fluorocromos como marcadores de sequências específicas (Costa 2006).

Esses estudos facilitam a identificação de pares cromossômicos, além de possibilitar a detecção de pequenas alterações estruturais nos cromossomos e a sua localização exata, as quais não poderiam ser identificadas pelas técnicas de coloração convencional (Guerra 1988; D'Emérico *et al.* 1999). Para estudos evolutivos, estas técnicas possibilitam também a observação detalhada das transformações que ocorrem em grupos de espécies próximas taxonomicamente ou citótipos, que apresentam cariótipos muito semelhantes (Cerbah *et al.* 1995, 1998; Guerra 1988; Snowdon *et al.* 2001; Sumner 2003).

Em plantas com cromossomos pequenos e que se condensam intensamente no estágio metafásico, os cromossomos prometáfásicos podem proporcionar informações importantes nas técnicas de bandeamento cromossômico, que não poderiam ser vistas se



os cromossomos estivessem em grau maior de compactação (Clark & Wall 1992; Fukui & Nakayama, 1996).

Porém, os diferentes estádios de compactação podem provocar erros na classificação cariotípica, pois os cromossomos mais compactados não permitem que as constrições secundárias sejam facilmente localizadas, ao mesmo tempo, os menos compactados apresentam diversas constrições, o que dificulta a identificação das regiões centroméricas (Londe 2010).

Cromossomos mais distendidos podem ser bandeados e a principal importância de sua utilização em estudos morfológicos tem sido a determinação de bandas extras e dos pontos de quebra-fusão que podem ocorrer nas alterações cromossômicas (Therma & Susman 1992). Dessa forma, as técnicas de bandeamento cromossômico têm contribuído para a identificação de alterações cromossômicas e seus locais de ocorrência no genoma (Giannoni & Lui 1988; Torres-Mariano & Morelli 2008).

O objetivo do presente trabalho é a análise da morfologia cromossômica da progênie de diferentes citótipos de *Handroanthus ochraceus* e de *H. chrysotrichus*, em diferentes populações, através de bandeamento cromossômico utilizando a coloração sequencial CMA/DAPI, com a finalidade de obter dados detalhados referentes à morfologia destes cromossomos e assim compreender possíveis padrões de evolução cariotípica e suas implicações em processos reprodutivos e especialmente na taxonomia e evolução do gênero *Handroanthus*.

## **2. MATERIAIS E MÉTODOS**

### **2.1. Material botânico e locais de coleta**

O material disponibilizado para esse estudo foi resultado de coletas realizadas por pesquisadores colaboradores. No total são nove indivíduos encontrados em quatro

populações de *Handroanthus ochraceus* e nove indivíduos de duas populações de *H. chrysotrichus* (Tabela 1 e Figura 4).

**Tabela 1.** Lista de espécies e populações de *Handroanthus* utilizadas no estudo e suas respectivas procedências.

Espécie/População	Localização	Indivíduos	Número de coleta ou Herbário
<i>Handroanthus ochraceus</i>			
Jataí	BR365	1 e 2	FMCS 20 e FMCS 39
Três Marias	BR365	1	FMCS 10
Bom Jesus de Goiás	BR452	1, 2 e 3	FMCS 30, FMCS 31 e FMCS 34
São José do Rio Preto	São José do Rio Preto	1, 2 e 3	SJRP-29235
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>			
Itatiaia	Itatiaia	1, 2, 3 e 4	HUFU-68112
Uberlândia	UFU Umuarama	1, 2, 3, 4 e 5	FMCS 2, FMCS 3, FMCS 4, FMCS 5 e FMCS 6

## 2.2. Pré-tratamento, fixação e armazenamento

Na preparação de lâminas para obtenção de metáfases mitóticas para a realização de contagem cromossômica e identificação de padrões de bandas CMA<sub>3</sub>/DAPI, foi utilizado o protocolo descrito por Guerra & Souza (2002).

Foram obtidas pontas de raízes através da germinação das sementes previamente coletadas, as quais foram pré-tratadas em solução anti-mitótica de paradichlorobenzeno (PDB) por 4 horas em banho-maria, com temperatura entre 16°-18°C. Em seguida o material foi fixado em Carnoy (solução 3:1, etanol P.A.: ácido acético P.A.) por pelo menos 24h à temperatura ambiente, após esse tempo foi feita a troca da solução de Carnoy e o material armazenado em freezer a -4° C.

### 2.3. Preparação de lâminas com digestão enzimática

Na preparação das lâminas, as pontas de raízes foram lavadas em água destilada três vezes, sendo que cada lavagem durou cinco minutos. O material foi transferido para tubos eppendorf, onde foi acrescentada a solução enzimática de celulase e pectinase (2:20 em tampão de McIlvaine) para digestão da parede celular, ficando de 35 a 37 minutos a 37°C. As raízes foram cuidadosamente lavadas com água destilada e transferidas para lâminas, onde receberam uma gota de ácido acético 45%. Com o auxílio de estereomicroscópio foi feita a separação do meristema, que foi esmagado após ser coberto com lamínula. Para retirada da lamínula e fixação do material, as lâminas foram mergulhadas em nitrogênio líquido. As lâminas foram então envelhecidas por três dias em temperatura ambiente.

### 2.4. Preparações citológicas para bandeamentos CMA<sub>3</sub> e DAPI

Para os procedimentos de bandejamento CMA<sub>3</sub>/DAPI (Guerra & Souza 2002) foram utilizadas as lâminas já preparadas conforme descrito no item anterior (Ver item 2.3). Foi utilizada a coloração sequencial com os corantes cromomicina A<sub>3</sub> (CMA<sub>3</sub>) e 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI).

Com o auxílio de pipetas Pasteur, foi adicionada uma gota de CMA<sub>3</sub> (0,5mg/ml) sobre as células e o material então foi coberto com lamínula de plástico. Após uma hora em caixa escura, as lâminas foram lavadas com água destilada para retirada da lamínula e excesso de fluorocromo. Estas então foram secas com bomba de ar. Seguidamente acrescentou-se uma gota de DAPI (2 µg/ml) e lamínula de plástico. As lâminas foram guardadas em caixa escura por mais trinta minutos, lavadas com água destilada e secas com bomba de ar. Acrescentou-se então uma gota de meio de montagem (glicerol 1:1 tampão McIlvaine com MgCl<sub>2</sub> 2,5M) e dessa vez foi feita

cobertura com lamínula de vidro para visualização no microscópio. Para estabilização dos fluorocromos, as lâminas descansaram em caixa escura por três a quatro dias antes da análise sob fotomicroscópio óptico de fluorescência.

#### 2.5. Obtenção dos tipos cromossômicos

Para elaboração dos tipos cromossômicos, foram analisadas metáfases com boas condições de espalhamento. Os padrões foram fixados após a observação das bandas positivas nos cromossomos de todos os indivíduos estudados. A classificação da morfologia cromossômica não foi possível devido ao tamanho diminuto dos cromossomos encontrados nas espécies estudadas, assim como a dificuldade em encontrar células com bom espalhamento. Os cromossomos foram desenhados e as bandas acrescentadas por meio do software Adobe® Photoshop® CC.

#### 2.6. Microscopia

Todas as lâminas foram analisadas e fotografadas em microscópio óptico e de fluorescência modelo Olympus BX51 e a documentação do material em foto foi feita com câmera digital acoplada ao microscópio modelo Olympus DP70. As imagens foram capturadas e processadas com o programa Olympus DP Controller. Para as análises dos procedimentos de bandeamentos CMA<sub>3z</sub>/DAPI as lâminas foram observadas com filtros de fluorescência. Para observação do fluorocromo CMA utilizou-se os filtros de excitação/emissão FITC (430 a 480 nm), enquanto o DAPI (358 a 461 nm) foi observado em filtro de mesmo nome.

### 3. RESULTADOS

Todos os dados de número cromossômicos encontradas estão compilados na tabela 2. As representações esquemáticas dos tipos cromossômicos estão organizadas nas figuras 6 a 11 (Anexo 1).

#### 3.1. Números cromossômicos

Foram observadas perdas cromossômicas em *Handroanthus ochraceus*, tanto nos citótipos diplóides  $2n=2x=40$  como nos tetraplóides  $2n=4x=80$ , assim como em *H. chrysotrichus*, cujas populações estudadas são tetraplóides,  $2n=4x=80$ . Tais dados serão discutidos nos tópicos a seguir.

##### 3.1.1. *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos

O número cromossômico (Tabela 2) variou em todos os indivíduos das populações estudadas, exceto no indivíduo da população de Três Marias (Figs. 27 e 28) e o indivíduo 3 da população de São José do Rio Preto (Figs 43, 44 e 45). Em ambos os embriões são poliplóides e possuem número cromossômico conservado  $2n=4x=80$ .

A progênie das demais populações são citótipos diplóides com número cromossômico  $2n=2x=40$ . O indivíduo 1 da população de Jataí revelou uma variação pequena entre as células dos meristemas analisados, onde em um deles foram encontradas células com  $2n=36$  (Fig. 18) e as demais mantiveram  $2n=40$  (Figs. 12-18). Já em outra raiz, foram encontrados  $2n=37$ ,  $2n=38$ ,  $2n=39$  e  $2n=40$ . O indivíduo 2 de Jataí apresentou em uma raiz, número cromossômico de  $2n=40$  (Figs. 20-26). Em outro meristema foram encontradas duas células com  $2n=37$  e  $2n=38$ , sendo que o restante se manteve conservado  $2n=40$ .

Na população de Bom Jesus de Goiás, a progênie do indivíduo 1 apresentou os números cromossômicos, em uma das raízes, variando entre  $2n=38$  e  $2n=40$  (Fig. 29-31), enquanto em outra raiz foram encontrados  $2n=36$ ,  $2n=37$  (Fig. 32),  $2n=38$  e  $2n=40$ . Já o indivíduo 2 teve em uma das raízes células com número cromossômico  $2n=38$  (Fig. 33) e  $2n=39$  (Fig. 34), enquanto outra apresentou células com  $2n=34$ ,  $2n=38$  e apenas uma célula com  $2n=40$ . A progênie do indivíduo 3 também apresentou número cromossômico variável, sendo que células da primeira raiz analisada possuíam  $2n=40$  (Fig. 35) e  $2n=38$  (Fig. 36 e 37), na segunda raiz os números se repetem.

A progênie dos outros dois indivíduos da população de São José do Rio Preto apresentaram perdas cromossômicas. O indivíduo 1 apresentou em diferentes meristemas analisados  $2n=80$  (Fig. 38) e  $2n=76$  (Fig. 39). Já o indivíduo 2 apresentou em um único meristema, células com  $2n=76$ ,  $2n=78$  e  $2n=80$  (Figs. 40, 41 e 42), os demais meristemas analisados mantiveram número cromossômico constante,  $2n=80$ .

### 3.1.2. *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos

Nesta espécie também houve grande variação intra- e interpopulacional na progênie quanto ao número cromossômico, assim como diferenças entre as células de um mesmo indivíduo. Os embriões das duas populações estudadas, Itatiaia e Uberlândia (Tabela 2), são tetraplóides  $2n=4x=80$ , porém a maioria deles apresentaram perdas cromossômicas.

Na população de Itatiaia, somente o indivíduo 1 apresentou embriões com número cromossômico conservado,  $2n=80$  (Fig. 46). No indivíduo 2 os meristemas apresentaram variação entre  $2n=80$  (Fig. 47) e  $2n=76$  (Fig. 48). Já no indivíduo 3 o meristema apresentou células com  $2n=72$ ,  $2n=80$  (Fig. 49) e  $2n=76$  (Fig. 50). O

indivíduo 4 por sua vez, apresentou  $2n=76$  e  $2n=78$  (Fig. 51), não sendo encontradas células com  $2n=80$  nos meristemas analisados.

Na população de Uberlândia, nenhum dos indivíduos analisados apresentou progênie com número cromossômico constante, com exceção do indivíduo 4 com  $2n=68$  (Fig. 60 e 61), porém os números cromossômicos encontrados são menores que a ploidia correspondente que seria de  $2n=4x=80$ . O indivíduo 1 teve meristemas com números cromossômicos  $2n=78$  (Fig. 54),  $2n=80$  (Fig. 53) e  $2n=81$  (Fig. 52), sendo este o único a apresentar número superior à ploidia. O indivíduo 2 apresentou grande perda cromossômica em uma das raízes analisadas, de forma que apresentou células com  $2n=63$  (Fig. 57) e  $2n=66$  (Fig. 56), enquanto a outra raiz teve células com número constante de  $2n=80$  (Fig. 55). O indivíduo 3 apresentou  $2n=74$  e  $2n=80$  (Fig. 58) em uma das raízes analisadas, enquanto outra apresentou células com  $2n=76$  (fig. 59). O indivíduo 5 apresentou células com  $2n=76$  (Fig. 62) e  $2n=77$  (Fig. 63).

### 3.2. Bandeamento CMA/DAPI

Devido ao tamanho diminuto dos cromossomos, não foi possível identificar o centrômero em todos os cromossomos para classificá-los em acrocêntricos, metacêntricos ou submetacêntricos.

Nenhum dos indivíduos de ambas as espécies apresentou cromossomos com bandas DAPI<sup>+</sup>. No entanto, foi encontrado grande número de bandas CMA<sub>3</sub><sup>+</sup>, sendo que a maioria das bandas encontradas são teloméricas. Já nas regiões pericentroméricas, os indivíduos apresentaram pelo menos um cromossomo com bandas CMA<sub>3</sub><sup>+</sup>/DAPI<sup>-</sup>, com exceção de alguns indivíduos. Também foram encontradas bandas CMA<sup>+</sup> localizadas em constrições secundárias. Os citótipos tetraplóides ( $2n=4x=80$ ) analisados apresentaram quantidade maior de bandas aos citótipos diplóides ( $2n=2x=40$ ).

A análise dos cromossomos quanto à posição e à quantidade de bandas CMA<sub>3</sub> e DAPI revelou 7 tipos cromossômicos, descritos a seguir:

- A. Cromossomo sem bandas CMA<sub>3</sub>/DAPI.
- B. Cromossomo com banda CMA<sub>3</sub><sup>+</sup>/DAPI telomérica.
- C. Cromossomo com banda CMA<sub>3</sub><sup>+</sup>/DAPI na região pericentromérica.
- D. Cromossomo com banda CMA<sub>3</sub><sup>+</sup> em posição intercalar.
- E. Cromossomo com banda CMA<sub>3</sub><sup>+</sup>/DAPI em constrição secundária.
- F. Cromossomo com banda CMA<sub>3</sub><sup>+</sup> intercalar e banda CMA<sub>3</sub><sup>+</sup> em constrição secundária.
- G. Cromossomo com duas bandas CMA<sub>3</sub><sup>+</sup> em constrição secundária

Os tipos de cromossomos encontrados estão representados na figura 5, porém, como não foi possível determinação da posição do centrômero em todos os cromossomos, a figura não está em escala, de modo que os cromossomos com banda pericentromérica não são necessariamente metacêntricos.

Assim como foram encontradas variações significativas quanto aos números cromossômicos, houve também várias diferenças quanto à quantidade e localização de bandas encontradas em um mesmo indivíduo, assim como a diferença de padrões entre as populações das duas espécies.

### 3.2.1. *Handroanthus ochraceus* (Cham.) Mattos

A progênie dos dois indivíduos de *Handroanthus ochraceus* da população de Jataí (2n=ca.40) apresentaram diferenças entre si, porém alguns dos padrões encontrados se repetiram entre eles. Assim sendo, o indivíduo 1 apresentou oito padrões de distribuição das regiões de heterocromatina ricas em C-G nos embriões. A quantidade de bandas variou entre 5 e 9, sendo que as fórmulas cariotípicas encontradas



são  $35A + 4B + 1C$  (Fig. 12),  $34A + 3B + 3C$  (Fig. 13),  $34A + 4B + 2C$  (Fig. 14),  $33A + 5B + 2C$  (Fig. 15),  $33A + 4B + 3C$  (Fig. 16),  $32A + 5B + 3C$  (Fig. 17),  $30A + 3B + 2C + 1F$  (Fig. 18) e  $28A + 4B + 4C$  (Fig. 19). Já a progênie do indivíduo 2 apresentou sete padrões distintos com as seguintes fórmulas:  $33A + 5B + 2C$  (Fig. 20),  $32A + 5B + 2C + 1E$  (Fig. 21),  $32A + 4B + 3C + 1E$  (Fig. 22),  $32A + 3B + 3C + 1E + 1F$  (Fig. 23),  $31A + 5B + 3C + 1F$  (Fig. 24),  $31A + 4B + 3C + 2F$  (Fig. 25),  $31A + 4B + 3C + 1D + 1E$  (Fig. 26).

O único indivíduo de Três Marias ( $2n=80$ ) apresentou progênie com 12 bandas e dois padrões de distribuição, com fórmulas  $68A + 7B + 4C + 1F$  (Fig. 27) e  $68A + 5B + 4C + 3F$  (Fig. 28).

A população de Bom Jesus de Goiás ( $2n=ca.40$ ) apresentou diferenças de padrão de bandas entre a progênie dos seus indivíduos, sendo que a quantidade de bandas variou entre 5 e 8. O indivíduo 1 apresentou embriões com quatro padrões de bandas, sendo as fórmulas cariotípicas:  $34A + 3B + 2C + 1F$  (Fig. 29),  $34A + 4B + 2C$  (Fig. 30),  $31A + 3B + 3C + 1F$  (Fig. 31) e  $30A + 5B + 1C + 1E$  (Fig. 32). Por outro lado, o indivíduo 2 teve embriões com dois padrões de banda, com as seguintes fórmulas cariotípicas:  $33A + 5B$  (Fig. 33) e  $32A + 7B$  (Fig. 34). Por fim, na progênie do indivíduo 3 foram encontrados quatro padrões de bandas, sendo as fórmulas cariotípicas:  $33A + 5B + 2C$  (Fig. 35),  $30A + 4B + 3C + 1F$  (Fig. 36) e  $30A + 5B + 3C$  (Fig. 37).

Na população de São José do Rio Preto ( $2n=ca.80$ ) também foram encontrados diversos padrões na distribuição de bandas entre os indivíduos. A quantidade de bandas variou entre 8 e 16. O indivíduo 1 apresentou embriões com dois padrões de bandas, sendo suas fórmulas cariotípicas  $68A + 8B + 1C + 3F$  (Fig. 38) e  $62A + 12B + 2C$  (Fig. 39). Na progênie do indivíduo 2 foram encontrados três padrões:  $68A + 10B + 2C$  (Fig.

40),  $65A + 10B + 4C + 1E$  (Fig. 41) e  $64A + 10B + 5C + 1F$  (Fig. 42), enquanto do indivíduo 3 foram encontrados três padrões de bandas, sendo representadas pelas seguintes fórmulas cariotípicas:  $72A + 6B + 2E$  (Fig. 43),  $72A + 5B + 1C + 2F$  (Fig. 44) e  $66A + 9B + 3C + 1E + 1F$  (Fig. 45).

### 3.2.2. *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos

A quantidade de bandas da progênie da população de *H. chrysotrichus* de Itatiaia ( $2n \approx 80$ ) variou de 8 a 11. O indivíduo 1 apresentou somente um padrão de bandas, no total de 10 bandas teloméricas, o qual é representado pela seguinte fórmula cariotípica:  $70A + 10B$  (Fig. 46). O segundo indivíduo apresentou embriões com as seguintes fórmulas:  $71A + 7B + 2C$  (Fig. 47) e  $65A + 8B + 2C + 1E$  (Fig. 48). O terceiro apresentou:  $72A + 6B + 2F$  (Fig. 49) e  $67A + 6B + 2C + 1F$  (Fig. 50). Já na progênie do indivíduo 4 somente um padrão de distribuição das bandas foi encontrado:  $68A + 8B + 2C$  (Fig. 51).

A progênie da população de Uberlândia mostrou grande diversidade com relação à quantidade e padrão de distribuição das bandas entre os indivíduos analisados, sendo que a quantidade de bandas encontradas variou de 5 a 18. A progênie do indivíduo 1 é representada pelas seguintes fórmulas cariotípicas:  $69A + 6B + 4C + 2E$  (Fig. 52),  $67A + 10B + 1C + 2F$  (Fig. 53) e  $60A + 13B + 4C + 1F$  (Fig. 54). Do indivíduo 2 apresentou as fórmulas:  $70A + 2B + 2C + 4F$  (Fig. 55),  $61A + 5B$  (Fig. 56) e  $48A + 6B + 5C + 2E + 2F$  (Fig. 57). Embriões do indivíduo 3 seguem representados por:  $67A + 4B + 6C + 3F$  (Fig. 58) e  $67A + 6B + 2C + 1F$  (Fig. 59). O indivíduo 4 apresentou embriões com as seguintes fórmulas:  $58A + 4B + 2C + 2F + 2G$  (Fig. 60) e  $56A + 9B + 1C + 2F$  (Fig. 61). Por fim, do indivíduo 5 obteve-se os seguintes padrões de bandas:  $70A + 4B + 3F$  (Fig. 62) e  $63A + 8B + 3C + 3F$  (Fig. 63).

**Tabela 2.** Número cromossômico, total de bandas e fórmulas cariotípicas de *Handroanthus ochraceus* nas populações de Jataí, Três Marias, Bom Jesus de Goiás e São José do Rio Preto e *Handroanthus chrysotrichus* de Itatiaia e Uberlândia. Na tabela (-) indica as células onde foi possível a contagem, porém não foi possível observar bandas.

<b>Espécies/Populações</b>	<b>2n</b>	<b>Total de bandas</b>	<b>Fórmulas cariotípicas</b>
<i>Handroanthus ochraceus</i>			
<b>Jataí 1</b>	2n=40	5	35A + 4B + 1C
	2n=40	6	34A + 3B + 3C
	2n=40	6	34A + 4B + 2C
	2n=40	7	33A + 5B + 2C
	2n=40	7	33A + 4B + 3C
	2n=40	8	32A + 5B + 3C
	2n=36	6	30A + 3B + 2C + 1F
	2n=36	8	28A + 4B + 4C
	2n=37	-	-
	2n=38	-	-
	2n=39	-	-
<b>Jataí 2</b>	2n=40	7	33A + 5B + 2C
	2n=40	8	32A + 5B + 2C + 1E
	2n=40	8	32A + 4B + 3C + 1E
	2n=40	8	32A + 3B + 3C + 1E + 1F
	2n=40	9	31A + 5B + 3C + 1F
	2n=40	9	31A + 4B + 3C + 2F
	2n=40	9	31A + 4B + 3C + 1D + 1E
	2n=38	-	-
	2n=37	-	-
<b>Três Marias 1</b>	2n=80	12	68A + 7B + 4C + 1F
	2n=80	12	68A + 5B + 4C + 3F
<b>Bom Jesus de Goiás 1</b>	2n=40	6	34A + 3B + 2C + 1F
	2n=40	6	34A + 4B + 2C
	2n=38	7	31A + 3B + 3C + 1F
	2n=37	7	30A + 5B + 1C + 1E
	2n=39	-	-
	2n=36	-	-
<b>Bom Jesus de Goiás 2</b>	2n=38	5	33A + 5B
	2n=39	7	32A + 7B
	2n=34	-	-
	2n=40	-	-
<b>Bom Jesus de Goiás 3</b>	2n=40	7	33A + 5B + 2C
	2n=38	8	30A + 4B + 3C + 1F
	2n=38	8	30A + 5B + 3C

<b>São José do Rio Preto 1</b>	2n=80	12	68A + 8B + 1C + 3F
	2n=76	14	62A + 12B + 2C
<b>São José do Rio Preto 2</b>	2n=80	12	68A + 10B + 2C
	2n=80	15	65A + 10B + 4C + 1E
	2n=80	16	64A + 10B + 5C + 1F
	2n=76	-	-
	2n=78	-	-
<b>São José do Rio Preto 3</b>	2n=80	8	72A + 6B + 2E
	2n=80	8	72A + 5B + 1C + 2F
	2n=80	14	66A + 9B + 3C + 1E + 1F
<i>Handroanthus chrysotrichus</i>			
<b>Itatiaia 1</b>	2n=80	10	70A + 10B
<b>Itatiaia 2</b>	2n=80	9	71A + 7B + 2C
	2n=76	11	65A + 8B + 2C + 1E
<b>Itatiaia 3</b>	2n=80	8	72A + 6B + 2F
	2n=76	9	67A + 6B + 2C + 1F
	2n=72	-	-
<b>Itatiaia 4</b>	2n=78	10	68A + 8B + 2C
	2n=76	-	-
<b>Uberlândia 1</b>	2n=81	12	69A + 6B + 4C + 2E
	2n=80	13	67A + 10B + 1C + 2F
	2n=78	18	60A + 13B + 4C + 1F
<b>Uberlândia 2</b>	2n=80	8	70A + 2B + 2C + 4F
	2n=66	5	61A + 5B
	2n=63	15	48A + 6B + 5C + 2E + 2F
<b>Uberlândia 3</b>	2n=80	13	67A + 4B + 6C + 3F
	2n=76	9	67A + 6B + 2C + 1F
	2n=74	-	-
<b>Uberlândia 4</b>	2n=68	10	58A + 4B + 2C + 2F + 2G
	2n=68	12	56A + 9B + 1C + 2F
<b>Uberlândia 5</b>	2n=76	7	70A + 4B + 3F
	2n=77	14	63A + 8B + 3C + 3F

#### 4. DISCUSSÃO

Características como número cromossômico diplóide elevado, cromossomos pequenos e poliploidia são consistentes com o padrão esperado para plantas lenhosas tropicais (Goldblatt 1976, Piazzano 1998, Biondo et al. 2005), padrões estes que estão também presentes nas espécies do gênero *Handroanthus* deste estudo.

Os números cromossômicos obtidos confirmam as contagens já feitas anteriormente por Sampaio (2010) para *H. ochraceus*, com citótipos diplóides ( $2n=40$ ) e citótipos tetraplóides ( $2n=80$ ), assim como para *H. chrysotrichus*, que apresentou  $2n=80$ . Chama a atenção no presente trabalho a variação observada na progênie da maioria dos indivíduos amostrados em ambas as espécies. Foram observadas tanto variação de números entre meristemas quanto variações dentro de um mesmo meristema. A ocorrência de variação numérica dentro de um mesmo meristema já foi observada em outros grupos vegetais.

Muitas das variações também observadas para padrões de bandas poderiam ser explicadas através de eventos de inversão cromossômica. Embora isto seja um evento comumente descrito durante a meiose, eventos de inversão explicariam a variação de bandas terminais e intercalares, e dependendo do caso, até mesmo de perdas de cromossomos, caso a inversão seja pericêntrica (Appels et al. 1998). Isto explicaria indivíduos com menor número cromossômico, mas não variações intraindividuais.

As variações intraindividuais de número cromossômico em nível somático são denominadas polissomatia e aneussomatia, referentes à ocorrência de poliploidia e aneuploidia, respectivamente (Davide et al. 2007; Rodrigues et al. 2009).

A aneussomatia já foi descrita para meristemas radiculares de *Hoffmannseggella rupestris* (Orchidaceae), porém foi encontrado número cromossômico constante em tecido do ovário, o que poderia garantir a estabilidade reprodutiva sexuada da espécie

(Costa 2006; Yamagishi-Costa & Forni-Martins 2009). Este processo pode levar à produção ativa de aneuplóides em populações de plantas e a aneuploidia é um fator importante na especiação (Segundo D'Amato 1997; Rodrigues *et al.* 2009).

O fato de haver variação numérica aneuplóide dentro de um mesmo meristema faz com que a variação aneuplóide descrita para indivíduos da progênie de um indivíduo e até mesmo entre progênies de diferentes indivíduos ou de diferentes populações seja analisada com cautela, já que poucas células com bom espalhamento e morfologia são observadas em cada meristema e estas células podem representar variações aneussomáticas. Entretanto, para *Handroanthus ochraceus*, observou-se a predominância de  $2n=40$  cromossomos na progênie dos dois indivíduos de Jataí. Também se observou predominância do número  $2n=80$  cromossomos nas populações de Três Marias e São José do Rio Preto. A maior variação foi encontrada na população de Bom Jesus de Goiás. Já para *H. chrysotrichus* foi observada uma maior variação na população de Uberlândia, sendo que a população de Itatiaia apresentou predominantemente  $2n=80$  cromossomos.

A maior variação nos números cromossômicos pode representar possíveis locais onde tenha ocorrido ou esteja ocorrendo hibridação entre espécies. Pois logo após um evento de hibridação, a nova constituição genômica do híbrido pode resultar em problemas no pareamento dos bivalentes durante a meiose, conduzindo a rearranjos genéticos, muitas vezes gerando gametas desbalanceados, o que pode acabar gerando descendentes com diferentes números cromossômicos (Appels *et al.* 1998; Riddle & Birchler 2003).

O mecanismo de eliminação cromossômica é bastante sensível e influenciado por fatores estes que podem levar a estabilidade do híbrido (Pickering 1985; Linde-Laursen & Bothmer 1999). Eles podem ser genéticos, como translocações

Robertsonianas, idade das células e cruzamentos entre espécies próximas, ou ambientais, como a temperatura, infecções por vírus e estresse fisiológico (Appels *et al.* 1998).

Assim como os indivíduos parentais que tiveram a progênie analisada podem representar híbridos, os próprios embriões analisados em cada indivíduo podem ser originados de um processo de hibridação. Entretanto, para compreender as possibilidades de hibridação é necessário avaliar a presença de espécies próximas ocorrendo no mesmo local e se há quebras de barreiras ao fluxo gênico que possibilitam a formação de híbridos. Embora este caso específico deva ser mais profundamente estudado, já existem registros de cruzamentos em casas de vegetação, que geraram prole viável entre espécies dos gêneros *Catalpa*, *Chilopsis* e *Campsis* (Gentry 1990), e em polinizações experimentais no campo entre espécies do gênero *Handroanthus* (Sampaio 2010), *Tabebuia sensu strictu* (Bittencourt Júnior 2003) e *Anemopaegma* (Firetti 2009).

O detalhamento morfológico dos cromossomos com fluorocromos CMA<sub>3</sub>/DAPI demonstrou que além da variação aneuplóide observada também há variação no padrão de bandas CMA<sup>+</sup>/DAPI tanto intraindividual como interindividual. A grande quantidade de fórmulas cariotípicas encontradas dificulta a análise de possíveis direções evolutivas e até mesmo avaliar possíveis origens para os citótipos tetraplóides. Observando-se apenas as fórmulas encontradas nas células que apresentam o número cromossômico padrão ( $2n=2x=40$  ou  $2n=4x=80$ ), é possível observar que os citótipos tetraplóides tendem a ter um número de bandas próximo ao dobro do número de bandas dos diplóides. Também existe um maior número de bandas terminais, em especial do tipo cromossômico B.

Embora a variação no padrão de bandas CMA<sub>3</sub>/DAPI claramente ocorra, esta pode ter sido subestimada ou até mesmo superestimada em virtude do tamanho reduzido dos cromossomos e efeitos da técnica. Como não foi possível observar centrômeros e

realizar medidas cromossômicas, é possível que as fórmulas que são aparentemente idênticas na verdade não sejam, porque as bandas na verdade se encontram em pares cromossômicos diferentes, ou bandas terminais consideradas idênticas estejam em braços cromossômicos diferentes. Da mesma forma, os tipos cromossômicos B e E são muito semelhantes entre si, diferindo apenas pela visualização da constrição secundária, que pode ser mascarada pela preparação citológica. O mesmo ocorre entre os tipos F e G, sendo que no tipo G apenas podem estar mais visíveis os dois segmentos de DNA repetitivo. Para que este problema seja resolvido, o ideal seria realizar a hibridização fluorescente *in situ* (FISH), podendo ser usadas sondas centroméricas, para evidenciar centrômeros, e 45S, para identificar a região organizadora do nucléolo.

Muitos trabalhos já demonstraram que a presença de blocos CMA<sub>3</sub><sup>+</sup> na região terminal de alguns cromossomos estão, em geral, associadas na maioria das angiospermas às regiões organizadoras do nucléolo (Guerra 2000), que são ricas em nucleotídeos GC (Schwarzacher & Schweizer 1982; Fuchs et al. 1998; Ruas et al. 2005; Cuco et al. 2005; Marcon, Barros & Guerra 2005; Mondin, Santos-Serejo & Aguiar-Perecin; 2007).

As diferenças quantitativas e qualitativas de bandas CMA<sub>3</sub><sup>+</sup> encontradas em um mesmo indivíduo, assim como as diferenças entre indivíduos e entre as populações analisadas, indica clara diferenciação genética em cada uma das espécies. Tais resultados podem ser explicados pelos mecanismos de dispersão da heterocromatina. De acordo com Schweizer e Loidl (1987) a heterocromatina ancestral presente em um ou poucos pares de cromossomos se espalharia pelo complemento cariotípico na mesma região dos cromossomos através de transposições (Ver Fig. 42 e 53), sendo que este processo seria facilitado pelo rearranjo dos cromossomos na interfase meiótica e núcleo interfásico.



Segundo John (1988), o espalhamento da heterocromatina também poderia ser realizado através de várias etapas de replicação e de acumulação.

Em *Handroanthus ochraceus*, há presença de vários citótipos em diferentes locais e, além disso, grande variação na morfologia cromossômica em cada um deles, além de perdas cromossômicas. Pode-se assim inferir que tais indivíduos podem estar em processo de conhecido como evolução cariotípica ou diversificação cariotípica, processo esse que pode levar ao isolamento genético, fornecendo uma barreira ao fluxo gênico (Stace, 1991) atuando na diferenciação e favorecendo o processo de especiação (Briggs & Walters, 1997). Em *Handroanthus chrysotrichus* não foram analisados citótipos diplóides, mas da mesma forma foram encontradas diversas evidências de possível rearranjo do cariótipo, tais como perda cromossômica e diferenciação nos padrões de bandas encontradas, tanto entre células de um mesmo indivíduo, quanto entre eles.

Destaca-se também a grande quantidade de fórmulas cariotípicas encontradas que apresentam heteromorfismo de bandas, em ambas as espécies e em ambos citótipos diplóides e tetraplóides de *H. ochraceus*. As variações na extensão de regiões heterocromáticas entre pares de cromossomos homólogos são denominadas heteromorfismos. O heteromorfismo de bandas está frequentemente correlacionado à origem híbrida. Estudos mais aprofundados, envolvendo técnicas de hibridação *in situ* e análise genômica, têm observado que a formação de híbridos muitas vezes envolve origens múltiplas e herança desbalanceada dos genótipos parentais (Lim *et al.* 2008).

Há certa dificuldade em comparar os resultados encontrados com grupos próximos e entre espécies do gênero *Handroanthus*, pois os trabalhos com espécies do gênero tratam somente de contagens cromossômicas, mesmo assim, nestes, a amostragem de diferentes populações e indivíduos é ausente. Estudos de caracterização

morfológica de cromossomos também são extremamente escassos em gêneros ou tribos próximas a *Handroanthus*, assim como não existem estudos anteriores no gênero que possam ou não corroborar com os dados encontrados.

No presente trabalho, quando comparamos os citótipos diplóides ( $2n=40$ ) e tetraplóides ( $2n=80$ ) de *H. ochraceus*, verificamos que não foi encontrada nenhuma fórmula cariotípica diplóide que pudesse ter gerado, por duplicação do próprio genoma, qualquer uma das fórmulas cariotípicas observadas nos tetraplóides. As fórmulas mais próximas entre si seriam  $30A + 3B + 2C + 1F$  ( $2n=36$ ), encontrada no indivíduo 1 da população de Jataí e  $68A + 7B + 4C + 1F$  ( $2n=80$ ), encontrada na população de Três Marias. Infelizmente o citótipo de Jataí não apresenta  $2n=40$  cromossomos, não sendo então possível afirmar que esta fórmula esteja completa. Quando comparamos as espécies entre si, também não há nenhuma fórmula idêntica entre o citótipo tetraplóide de *H. ochraceus* ( $2n=80$ ) e *H. chrysotrichus* ( $2n=80$ ). Da mesma forma, não foi observado um citótipo diplóide de *H. ochraceus* ( $2n=40$ ) que pudesse ter dado origem diretamente a qualquer citótipo de *H. chrysotrichus* ( $2n=80$ ).

Várias inferências podem ser feitas em relação ao material estudado, porém, antes de qualquer afirmação, vê-se necessária a realização de estudos com citótipos de outras localidades, assim como a aplicação de técnicas de hibridação *in situ* para melhor elucidação da forma como estas mudanças estão ocorrendo em cada uma dessas populações. Ainda assim, os resultados apresentados no presente trabalho reforçam a necessidade e a importância de uma amostragem cromossômica criteriosa, que envolva diferentes populações e indivíduos, para que não se subestime a variação intraespecífica que pode ocorrer nas diferentes espécies. A grande variabilidade observada, inclusive nos citótipos diplóides de *H. ochraceus* ( $2n=40$ ), nos leva a crer que há a possibilidade de que este já tenha se originado por um processo de hibridação (homoplóide ou

alopoliplóide) que tenha ocorrido múltiplas vezes. De acordo com Soltis & Soltis (2009), populações alotetraplóides de origens múltiplas teriam cada uma o seu próprio genótipo, e mesmo com um fluxo gênico limitado entre as populações, novos genótipos poderiam ser gerados entre indivíduos geneticamente distintos, seguidos por segregação e distribuição independente de variantes genéticas, gerando uma espécie altamente variável geneticamente. Esta variabilidade pode ser observada em ambas as espécies no presente trabalho, assim como em ambos citótipos.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Appels, R.; Morris, R.; Gill, B. S. & May, C. E. 1998. **Chromosome Biology**. Kluwer Academic Publishers, Boston, 401 pp. <https://doi.org/10.1007/978-1-4615-5409-7>
- Biondo, E.; Miotto, S. T. S.; Schifino-Wittmann, M.T. 2005. Citogenética de espécies arbóreas da subfamília Caesalpinioideae - Leguminosae do sul do Brasil. **Ciência Florestal** **15**: 241-248. <https://doi.org/10.5902/198050981861>
- Bittencourt Júnior, N. S. 2003. Autoincompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae. **Tese (Doutorado)**. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.
- Briggs, D.; Walters, S. M. 1997. **Plant variation and evolution**. University Press: Cambridge.
- Carman, J. G. 2007. Do duplicate genes cause apomixis? In: Hörland, E.; Grossniklaus, U.; van Dijk, P. J. & Sharbel, T. F. (eds.). p. 63-91. **Apomixis: Evolution, Mechanisms and Perspectives**. A. R. G. Gantner Verlag, Rugell, Liechtenstein.
- Cerbah, M.; Coulaud, J. & Siljak-Yakovlev, S. 1998. rDNA organization and evolutionary relationship in the genus *Hypochoeris* (Asteraceae). **The Journal of Heredity** **89**: 312-318. <https://doi.org/10.1093/jhered/89.4.312>
- Costa, J. Y. 2006. Citotaxonomia e aspectos evolutivos de espécies de Hoffmannseggella H.G. Jones (Orchidaceae), De Campos Rupestres Brasileiros. **Tese (Doutorado)**. Universidade Estadual de Campinas, Departamento de Botânica.
- Cuco, S. M.; Vieira, M. L. C.; Mondin, M. & Aguiar-Perecin, M. L. R. 2005. Comparative karyotype analysis of three *Passiflora* L. species and cytogenetic characterization of somatic hybrids. **Caryologia** **58**: 220-228. <https://doi.org/10.1080/00087114.2005.10589454>
- D'Amato, F. 1997. Role of somatic mutations in the evolution of higher plants. **Caryologia** **50**: 1-15. <https://doi.org/10.1080/00087114.1997.10797380>
- Davide, L. C.; Techio, V.H.; Nunes, J. D. & Pereira, A. V. 2007. Variação cromossômica numérica em *Pennisetum*. **Ciência e Agrotecnologia** **31**: 398-405. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542007000200020>
- D'Emérico, S.; Grünanger P.; Scrugli A.; & Pignone D. 1999. Karyomorphological parameters and C-band distribution suggest phyletic relationships within the subtribe Limodorinae (Orchidaceae). **Plant Systematics and Evolution**. 217p. <https://doi.org/10.1007/BF00984927>
- Ellstrand, N. C. & Schierenbeck, K. A. 2000. Hybridization as a stimulus for the evolution of invasiveness in plants? **Proceedings of the National Academy of Sciences** **97**: 7043-7050. <https://doi.org/10.1073/pnas.97.13.7043>
- Ellstrand, N. C. 2003. Current knowledge of gene flow in plants: implications for transgene flow. **Phil. Trans. R. Soc. London B** **338**: 1163-1170. <https://doi.org/10.1098/rstb.2003.1299>

- Ferreira, M. B. 1973. Bignoniaceae do Distrito Federal - I. O gênero *Anemopaegma* Mart. **Oréades** 4: 28-39.
- Firetti, F. 2009. Biossistemática das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex De Souza (Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos, citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos. **Tese (Doutorado)**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil.
- Forni-Martins, E. & Martins, F. R. 2000. Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. **Genetic and Molecular Biology** 23: 947-955. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572000000400040>
- Fuchs, J.; Strehl, S.; Brandes, A.; Schweizer, D.; Schubert, I. 1998. Molecular-cytogenetic characterization of the *Vicia faba* genome – heterochromatin differentiation, replication patterns and sequence localization. **Chromosome Research** 6: 219-230. <https://doi.org/10.1023/A:1009215802737>
- Gentry, A. H. 1976. Bignoniaceae of southern Central America. Distribution and ecological specificity. **Biotropica** 8: 117-131. <https://doi.org/10.2307/2989632>
- Gentry, A. H. 1980. Bignoniaceae - Part. I. (Crescentieae and Tourrettieae). **Flora Neotropica Monog.** 25: 1-130.
- Gentry, A. H. 1990. Evolutionary patterns in Neotropical Bignoniaceae. **Memoirs of the New York Botanical Garden** 55: 118-129.
- Gentry, A. H. 1992. A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 79: 53- 64. <https://doi.org/10.2307/2399809>
- Giannoni, M. L.; Lui, J. F. 1988. Citogenética e sua aplicação na seleção de reprodutores eqüinos. UNESP, Jaboticabal. 31p.
- Goldblatt, P. 1976. New or noteworthy chromosome records in the angiosperms. **Annual Missouri Botanic Garden** 64: 889-895. <https://doi.org/10.2307/2395253>
- Gottsberger, G. & Silberbauer-Gottsberger, I. 2006. **Life in the Cerrado: a south american tropical seasonal ecosystem**. Vol. 1: origin, structure, dynamics and plant use. Ulm: Reta Verlag, Germany.
- Guerra, M. S. 1988. **Introdução à citogenética geral**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 130.
- Guerra, M.; Santos, K. G. B.; Barros e Silva, A. E. & Ehrendorfer, F. 2000. Heterochromatin banding patterns in Rutaceae-Aurantioideae – A case of parallel chromosomal evolution. **American Journal of Botany** 87: 735-747. <https://doi.org/10.2307/2656860>
- Guerra, M.; Souza, M. J. 2002. **Como observar cromossomos**. Ribeirão Preto: Ed. Funpec, 131p.
- Guerra, M. 2008. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research** 120: 339-350. <https://doi.org/10.1159/000121083>

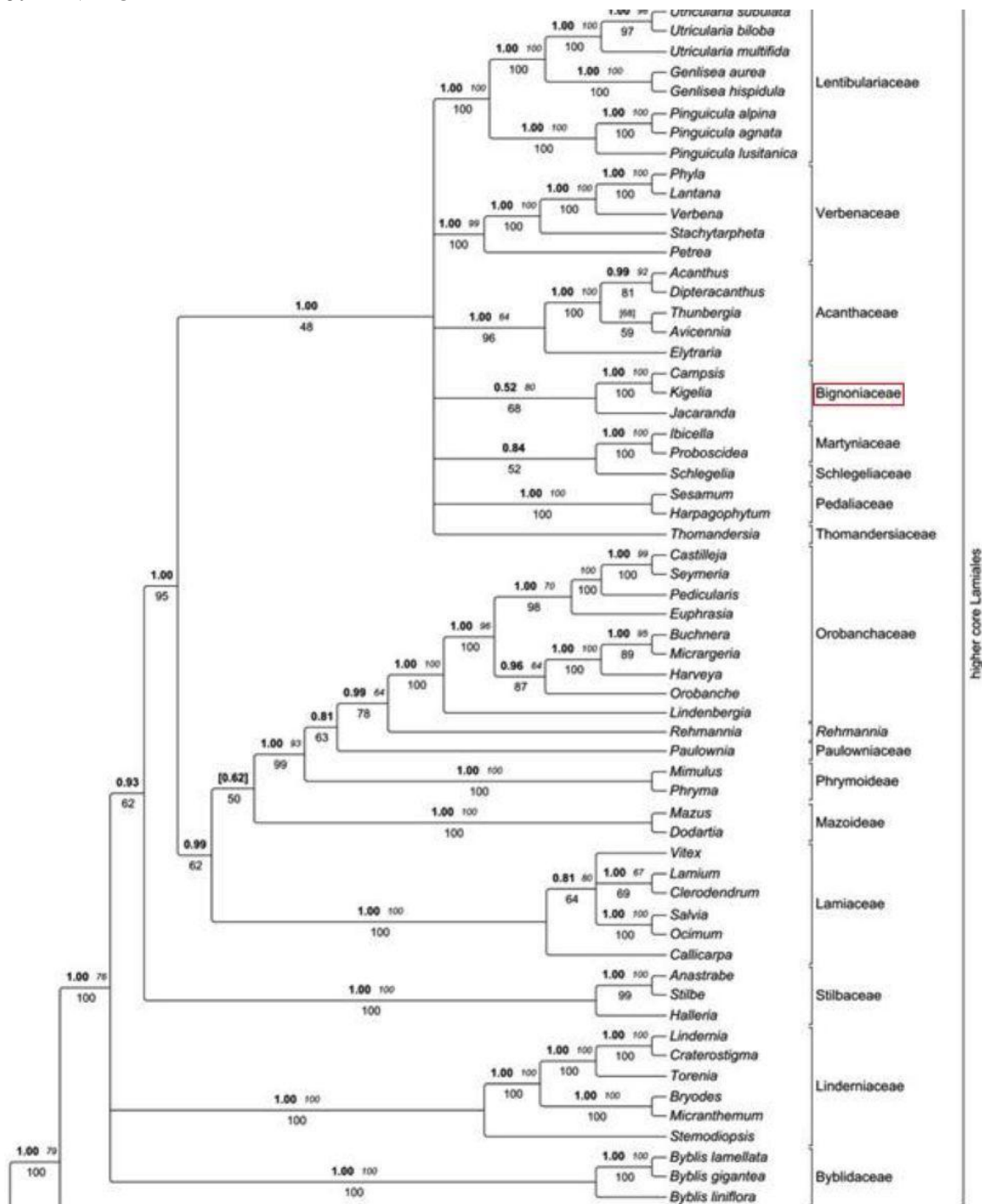
- John, B. 1988. **The biology of heterochromatin**. Pp. 1-147. In: Verma, R. S. (Ed.). *Heterochromatin: molecular and structural aspects*. New York, Cambridge University Press, 320p.
- Judd, W. S.; Campbell, C. S.; Kellogg, E. A. & Stevens, P. F. 1999. **Plant systematics: a phylogenetic approach**. Sunderland: Sinauer.
- Levin, D. A. 2002. **The role of chromosomal change in plant evolution**. Oxford University Press, Oxford.
- Lohmann, L. G. 2004. Bignoniaceae In: Smith, N.; Mori, S.A; Henderson, A.; Stevenson, D.W. & Heald, S.V. (eds.) **Flowering Plants of the Neotropics**. New Jersey: Princeton University Press. p. 51-53.
- Lohmann, L. G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). **American Journal of Botany** **93**: 304-318. <https://doi.org/10.3732/ajb.93.2.304>
- Lim, L. P.; Glasner, M. E.; Yekta, S.; Burge, C. B. & Bartel, D. P. 2003. Vertebrate microRNA genes. **Science** **299**: 1540. <https://doi.org/10.1126/science.1080372>
- Linde-Laursen, I.; Bothmer, R. 1999. Orderly arrangement of the chromosomes whitim barley genomes of chromosome-elimination *Hordeum lechleri* x barley hybrids. **Genome** **42**: 225-236. <https://doi.org/10.1139/g98-158>
- Marcon, A. B.; Barros, I. C. L.; Guerra, M. 2005. Variation in chromosome numbers, CMA bands and 45S rDNA sites in species of *Selaginella* (Pteridophyta). **Annals of Botany** **95**: 271-276. <https://doi.org/10.1093/aob/mci022>
- Mondin, M.; Aguiar-Perecin, M. L. R.; Morales, A. G.; Andrade, L.M.; Molina, S. C. M. 2007. Citogenética do gênero *Crotalaria* (Leguminosae-Papilionoideae): da clássica a molecular. In: **Simposio Latinoamericano de Citogenética y Evolución**, 2, 2007a, Palmira. Memórias. Palmira: Universidad Nacional de Colômbia, p. 189-195.
- Morawetz, W. 1986. Remarks on karyological differentiation patterns in tropical woody plants. **Plant Systematics and Evolution** **152**: 49-100. <https://doi.org/10.1007/BF00985351>
- Moscone, E. A; Matzke, M. A. & Matzke, A. J. M. 1996. The use of combined FISH/GISH in conjunction with DAPI counterstaining to identify chromosomes containing transgene inserts in amphidiploid tobacco. **Chromosoma** **105**: 231-236. <https://doi.org/10.1007/BF02528771>
- Olmstead, R. G., Zjhra, M. L., Lohmann, L. G., Grose, S. O. & Eckert, A. J. 2009. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. **American Journal of Botany** **96**: 1731-1743. <https://doi.org/10.3732/ajb.0900004>
- Ortolani, F. A. 2007. Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de ipês (Bignoniaceae). 2007. xi, 95 f. **Tese (Doutorado)**. Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias.
- Paclt, J. 1992. A review of brazilian representatives of the chrysotricha species group in the genus *Tabebuia* Gomes ex DC. (Bignoniaceae) **Acta Botanica Hungarica** **37**: 95-103.

- Piazzano, M. 1998. Números cromosômicos em Bignoniaceae de Argentina. **Kurtziana** **26**: 179-189.
- Pickering, R. A. 1985. Partial control of chromosome elimination by temperature in immature embryos of *Hordeum vulgare* L. x *H. bulbosum* L. **Euphytica** **34**: 869-874. <https://doi.org/10.1007/BF00035426>
- Rodrigues, R. S.; Correa, A. M.; Forni-Martins, E. & Tozzi, A. M. G. A. 2009. Números cromossômicos em espécies de *Acosmium* Schott e *Leptolobium* Vogel (Leguminosae, Papilionoideae). **Acta Botanica Brassilica** **23**: 902-906. <https://doi.org/10.1590/S0102-33062009000300031>
- Riddle, N. C.; Birchler, J. A. 2003. Effects of reunited diverged regulatory hierarchies in allopolyploids and species hybrids. **Trends in Genetics** **19**: 597-600. <https://doi.org/10.1016/j.tig.2003.09.005>
- Röser M. 1994. Pathways of karyological differentiation in palms (Arecaceae). **Plant Systematics and Evolution** **189**: 83-122. <https://doi.org/10.1007/BF00937580>
- Röser M. 1995. Trends in the karyo-evolution of palms. In: Brandham PE, Bennett MD (eds.). **Kew Chromosome Conference IV**: 249-265. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Ruas, C. F.; Vanzela, A. L. L.; Santos, M. O.; Fregonezi, J. N.; Ruas, P. M.; Matzenbacher, N. I. & Aguiar-Perecin, M. L. R. 2005. Chromosomal organization and phylogenetic relationships in *Hipochaeris* species (Asteraceae) from Brazil. **Genetics and Molecular Biology** **28**: 129-139. <https://doi.org/10.1590/S1415-47572005000100023>
- Sampaio, D. S. 2010. Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no cerrado e variações no sistema de autoincompatibilidade. **Tese (Doutorado)** - Universidade Federal de Uberlândia, MG.
- Santos, L. L. et al. 2013. Bignoniaceae Juss. no Parque Nacional Vale do Catimbau, Pernambuco. **Rodriguésia** **64**. Available from <<http://dx.doi.org/10.1590/S2175-78602013000300003>> Acesso em 22 de dezembro. <https://doi.org/10.1590/S2175-78602013000300003>
- Sarmiento, G. 1983. The savannas of tropical America. In: Bourlière, F. (ed.). p. 245-288. **Ecosystems of the world**. Elsevier, Amsterdam.
- Schwarzacher, T.; Schweizer, D. 1982. Karyotype analysis and heterochromatin Differentiation with Giemsa (Banding and Fluorescent Counterstaining in *Cephalanthera* (Orchidaceae). **Plant systematic and Evolution** **141**: 91-113. <https://doi.org/10.1007/BF00986411>
- Schweizer, D. & J. Loidl. 1987. A model for heterochromatin dispersion and the evolution of C band patterns. **Chromosome Today** **9**: 61-74. [https://doi.org/10.1007/978-94-010-9166-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-010-9166-4_7)
- Snowdon R., Kusterer B., Horn R. 2001. Structural genome analysis using molecular cytogenetic techniques. **Progress in Botany** **63**: 55-79. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-56276-1\\_2](https://doi.org/10.1007/978-3-642-56276-1_2)

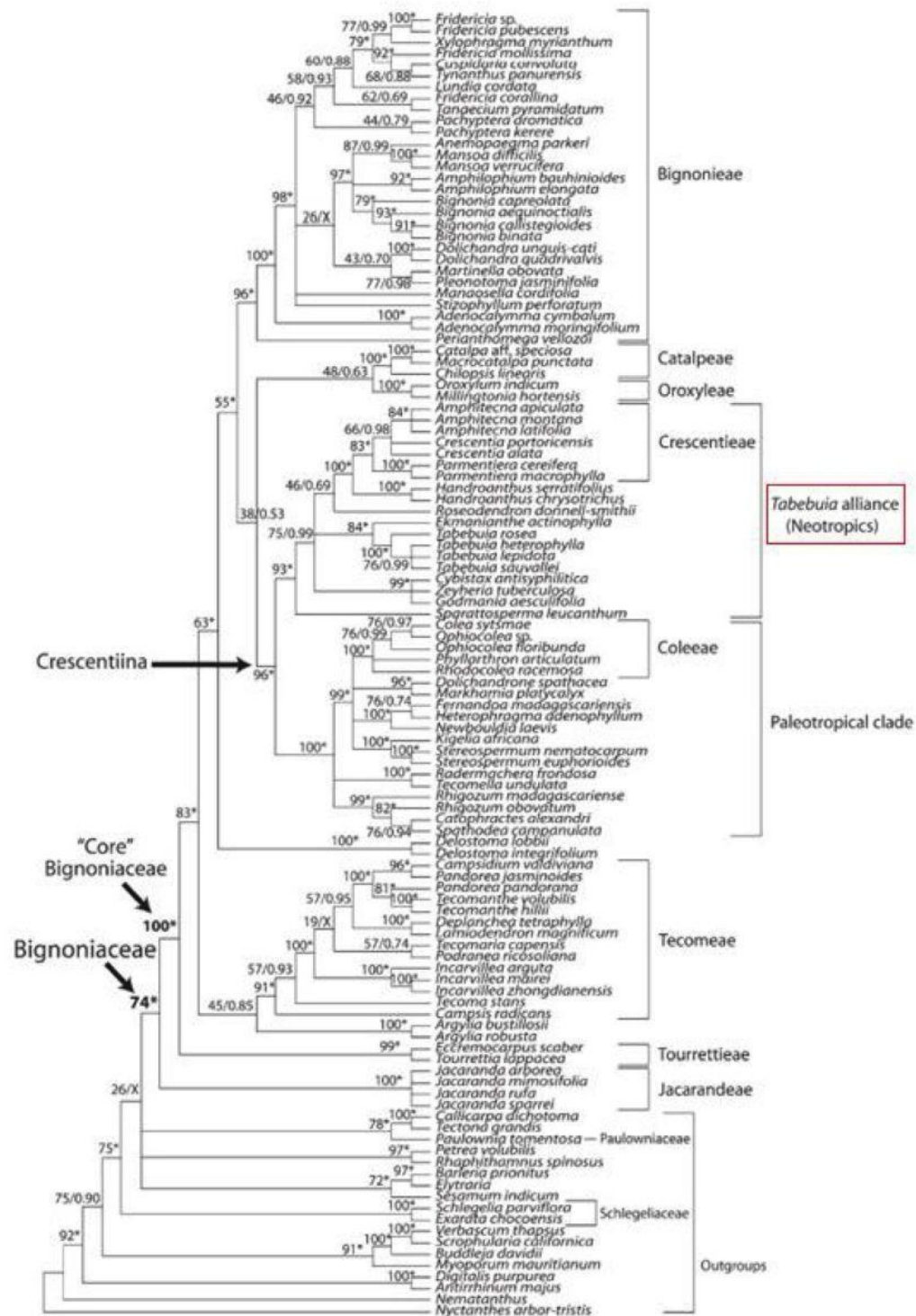
- Soltis, P. S. & Soltis, D. E. 2009. The role of hybridization in plant speciation. **Annual Review of Plant Biology** **60**: 561-588.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.043008.092039>
- Stebbins, G. L. 1971. **Chromosomal evolution in higher plants**. Londres: Edward Arnold, 216p
- Stace, C.A., 1991. **Plant taxonomy and Biosystematics**. University Press: Cambridge, 2nd.
- Sumner A. T. 2003. **Chromosomes – Organization and Function**. North Berwick, United Kingdom, Blackwell Publishing. 287 p.
- Therma, E.; Susman, M. 1992. **Human chromosomes. Structure, behavior and effects**. Springer-Verlag, Germany. 376p.
- Torres-Mariano, A. R. & Morelli, S. 2008. B chromosomes in *Astyanax eigenmanniorum* population (Characiformes, Characidae) from the Araguari River basin (Uberlandia, MG, Brazil). **Genetics and Molecular Biology** **31**: 246-249.  
<https://doi.org/10.1590/S1415-47572008000200015>
- Yamagishi-Costa, J. & Forni-Martins, E. R. 2009. Hybridization and Polyploidy: Cytogenetic Indications for *Hoffmannseggella* (Orchidaceae) Species Evolution. **International Journal of Botany**, **5**: 93-99.  
<https://doi.org/10.3923/ijb.2009.93.99>



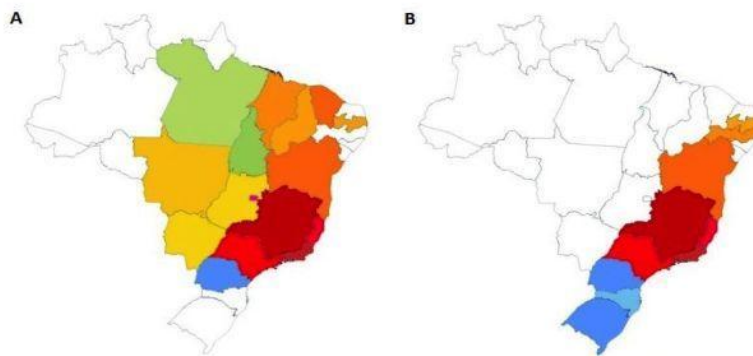
## 6. ANEXO 1



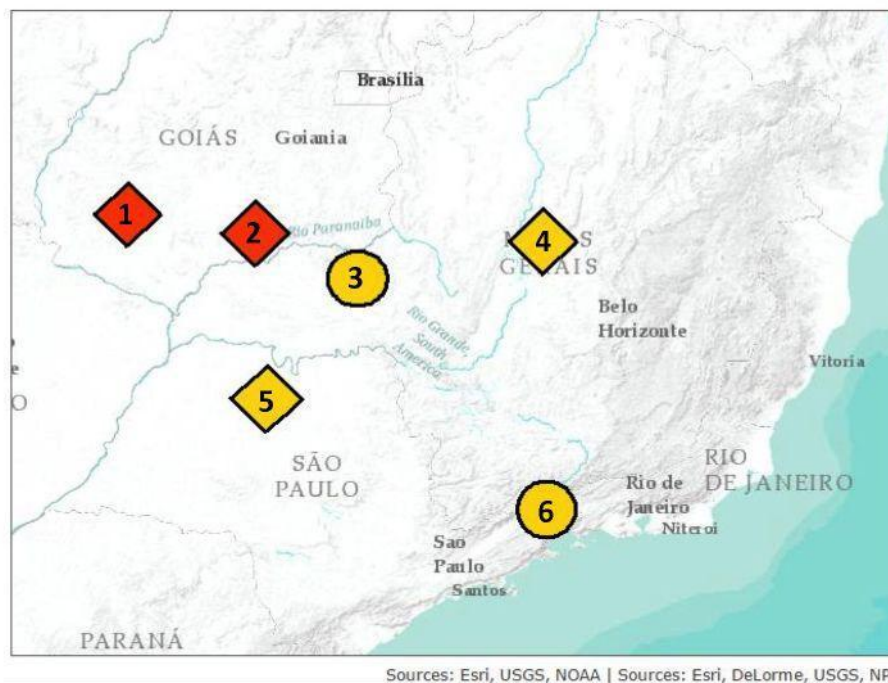
**Figura 1.** Trecho da filogenia para Lamiales, inferida a partir de parcimônia, probabilidade e análise Bayesiana de seqüências de plastídeo *trnK/matK*, *trnL-F* e *tps/S*. Os números em negrito acima dos ramos são probabilidades posteriores de inferência Bayesiana, números em *itálico* acima dos ramos são valores da máxima parcimônia (MP) de bootstrap, números abaixo dos ramos indicam proporções da probabilidade máxima (ML) de bootstrap. Os números entre parênteses indicam que o respectivo nó não foi apoiado por todas as três abordagens metodológicas. Modificado de Schäferhoff *et al.* (2010).



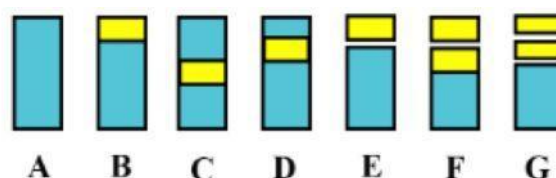
**Figura 2.** Trecho da filogenia da '*Tabebuia* alliance' inferida através de um consenso estrito da parcimônia baseada em análises combinadas de seqüências de ndhF, trnL-F e rbcL. Os valores acima dos ramos indicam suporte de bootstrap (BT) da máxima parcimônia e probabilidade posterior (PP) da análise Bayesiana. \* indica PP = 1,0; X indica ciados ausentes no consenso de maioria da Bayesiana. Modificada de Olmstead *et al.* (2009).



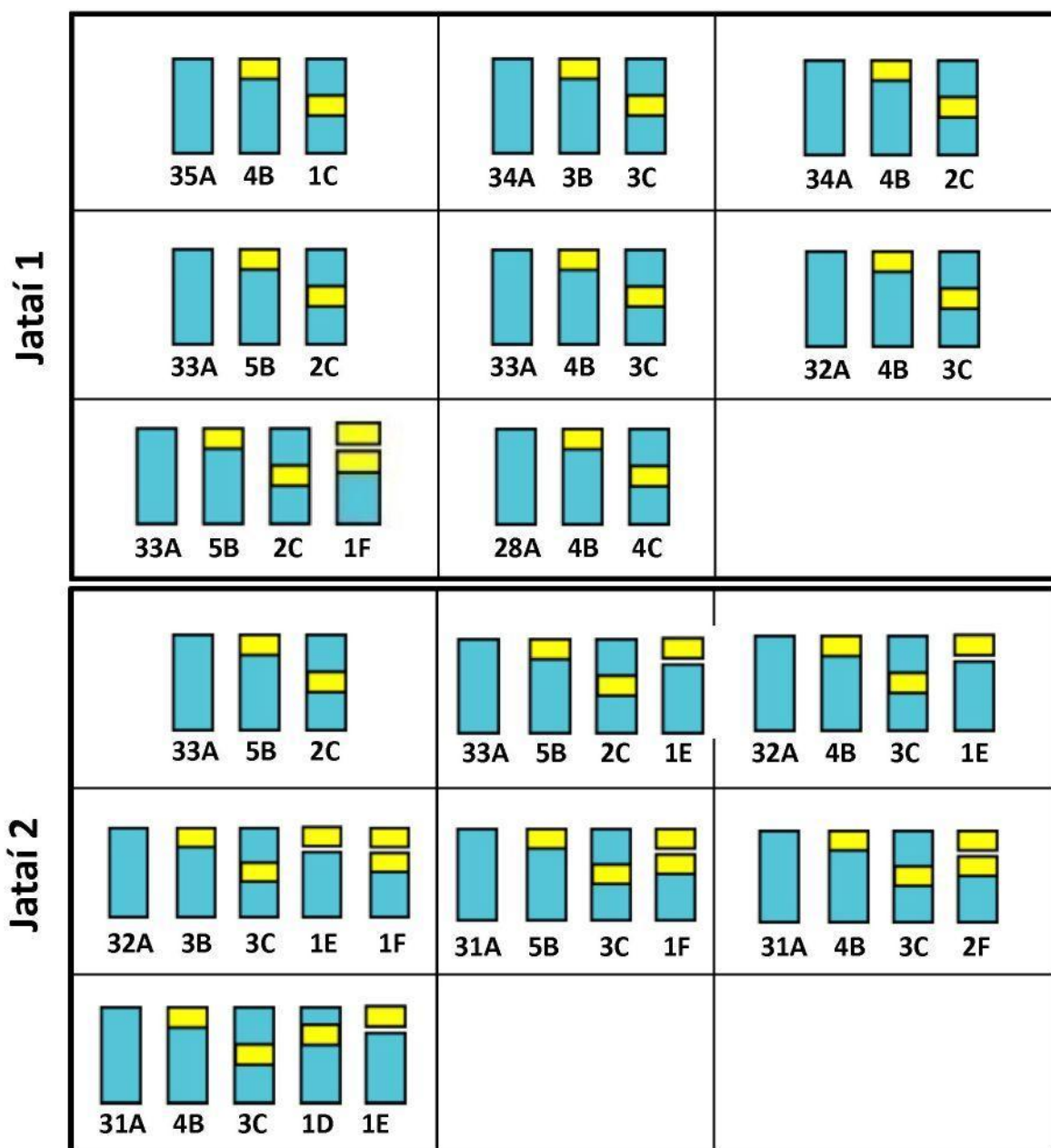
**Figura 3.** Mapas de distribuição geográfica de *Handroanthus* no Brasil. Os tons de uma mesma cor representam as diferentes regiões brasileiras. Verde: Norte; Laranja: Nordeste; Amarelo: Centro-Oeste; Vermelho: Sudeste e Azul: Sul. A - *Handroanthus ochraceus*, disponível em <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB114091>>; B - *Handroanthus chrysotrichus*, disponível em <<http://reflora.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB114078>>.



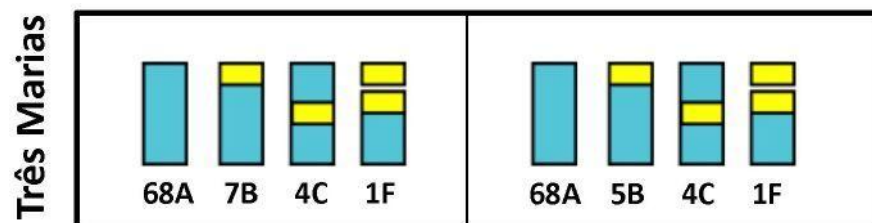
**Figura 4.** Mapa de pontos de coleta das populações de *Handroanthus ochraceus* - representados por losangos (Jataí, Bom Jesus de Goiás, Três Marias e São José do Rio Preto) e *Handroanthus chrysotrichus* - representados por círculos (Itatiaia e Uberlândia). A cor laranja mostra organismos diplóides ( $2n=2x=40$ ) e o amarelo os organismos tetraplóides ( $2n=4x=80$ ). 1 - Jataí; 2 - Bom Jesus de Goiás; 3 - Uberlândia; 4-Três Marias; 5-São José do Rio Preto; 6- Itatiaia.



**Figura 5.** Tipos cromossômicos encontrados em *H. ochraceus* e *H. chrysotrichus*, mostrando a localização das bandas CMA3+em amarelo. A. Cromossomo sem bandas CMA3/DAPI; B. Cromossomo com banda CMA3+/DAPI- telomérica; C. Cromossomo com banda CMA3+/DAPI- na região pericentromérica; D. Cromossomo com banda CMA3+em posição intercalar; E. Cromossomo com banda CMA3+/DAPI- em constrição secundária; F. Cromossomo com banda CMA3+ intercalar e banda CMA3+ em constrição secundária; G. Cromossomo com duas bandas CMA3+ em constrição secundária.



**Figura 6.** Representação esquemática dos tipos cromossômicos encontrados na progênie da população de Jataí de *Handroanthus ochraceus*. A cor amarela representa as bandas  $CMA_3^+$ .



**Figura 7.** Representação esquemática dos tipos cromossômicos encontrados na progênie da população de Três Marias de *Handroanthus ochraceus*. A cor amarela representa as bandas  $CMA_3^+$ .

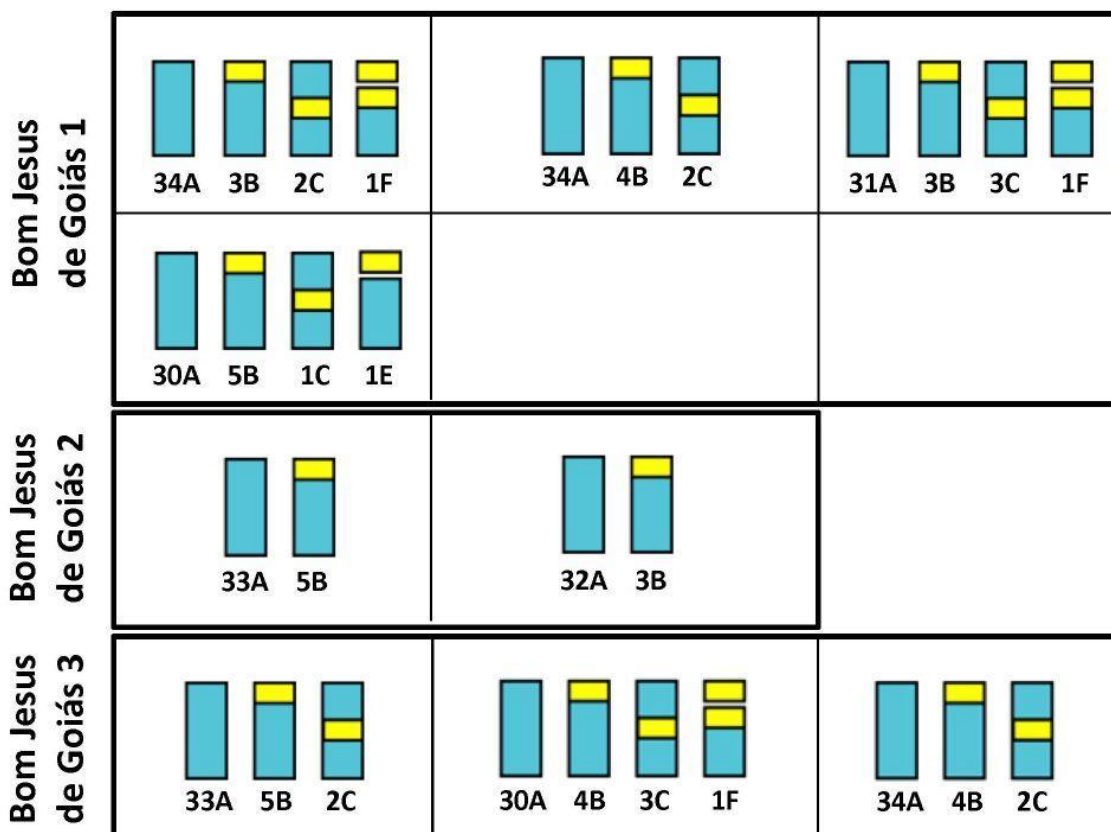


Figura 8. Representação esquemática dos tipos cromossômicos encontrados na progênie da população de Bom Jesus de Goiás de *Handroanthus ochraceus*. A cor amarela representa as bandas  $CMA_3^+$ .

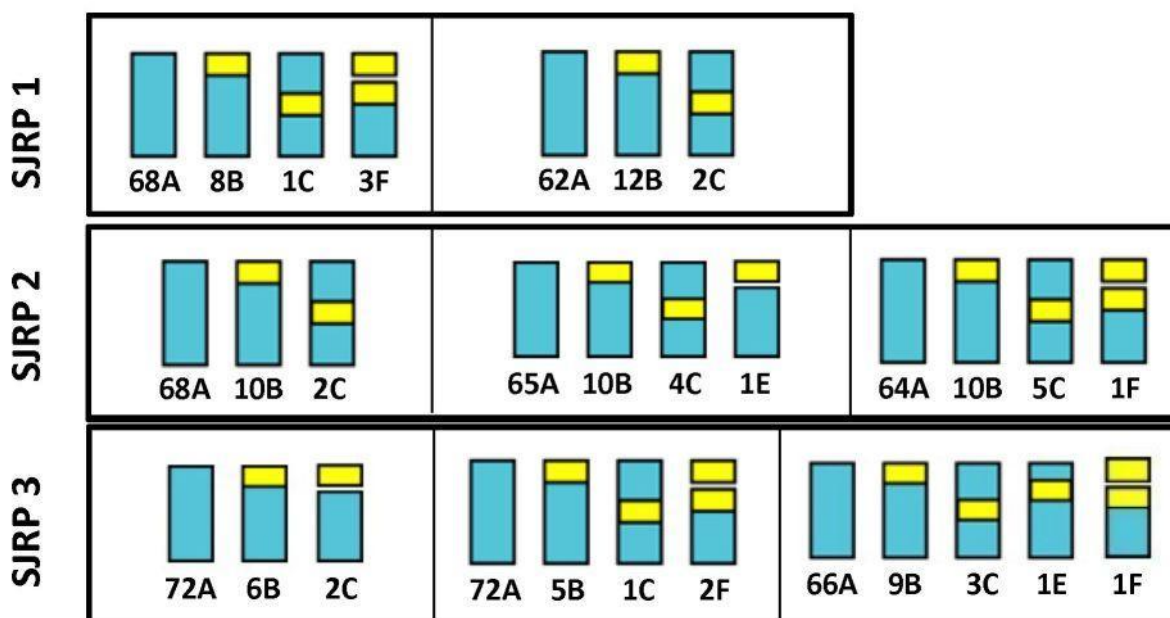


Figura 9. Representação esquemática dos tipos cromossômicos encontrados na progênie da população de São José do Rio Preto de *Handroanthus ochraceus*. A cor amarela representa as bandas  $CMA_3^+$ .



Itatiaia 1  
Itatiaia 2  
Itatiaia 3  
Itatiaia 4

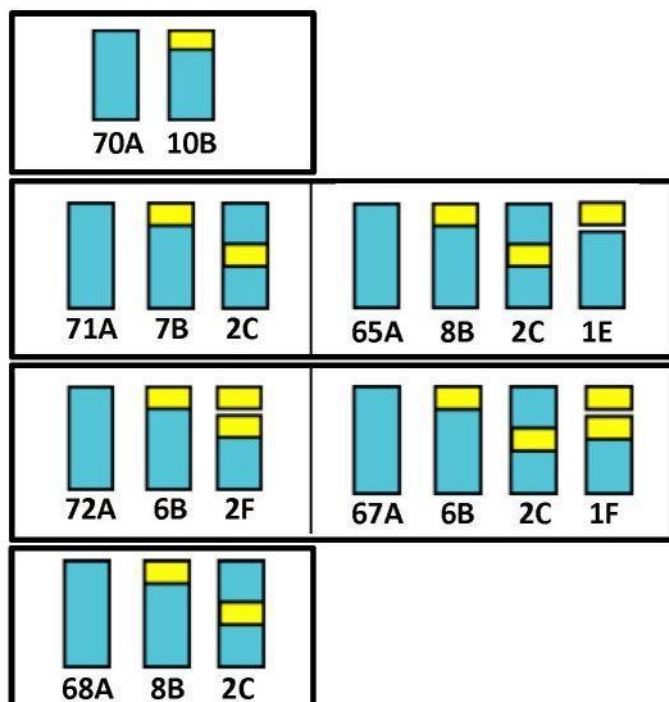


Figura 10. Representação esquemática dos tipos cromossômicos encontrados na progênie da população de Itatiaia de *Handroanthus chrysotrichus*. A cor amarela representa as bandas  $CMA_3^+$ .

UDI 1  
UDI 2  
UDI 3  
UDI 4  
UDI 5

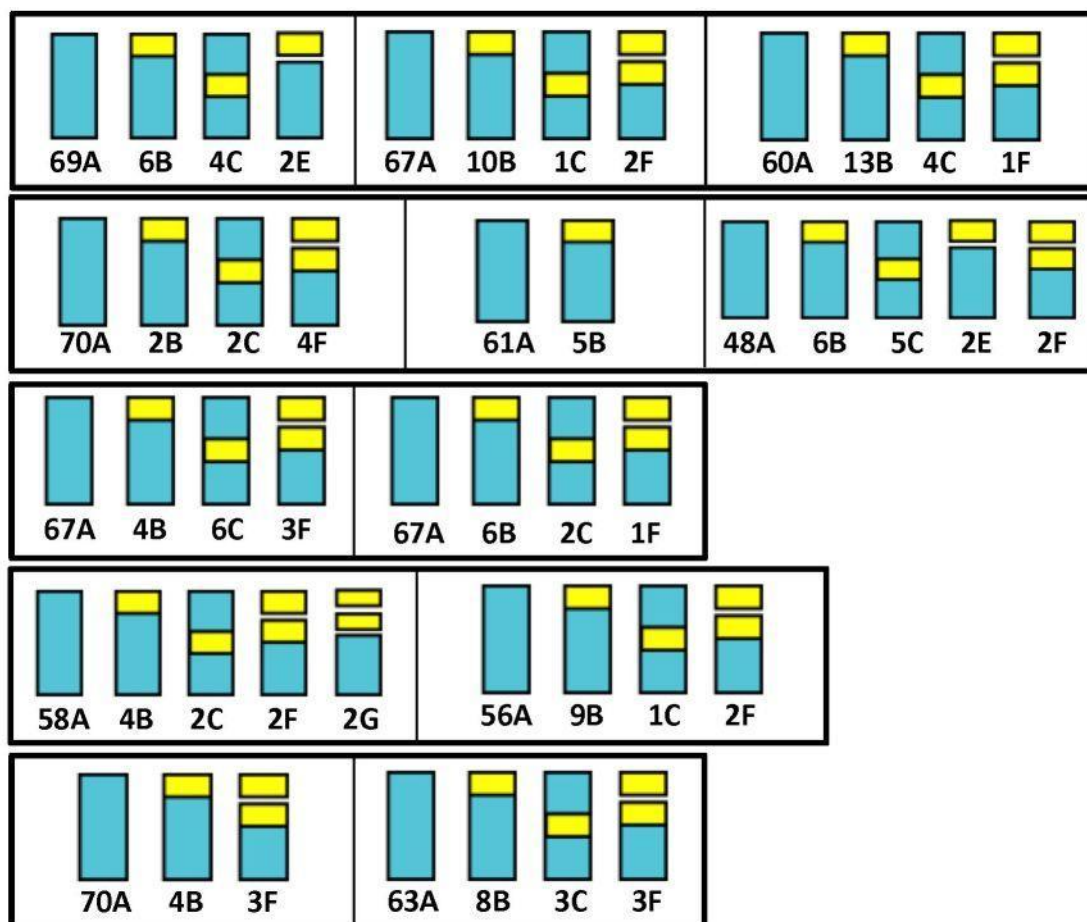
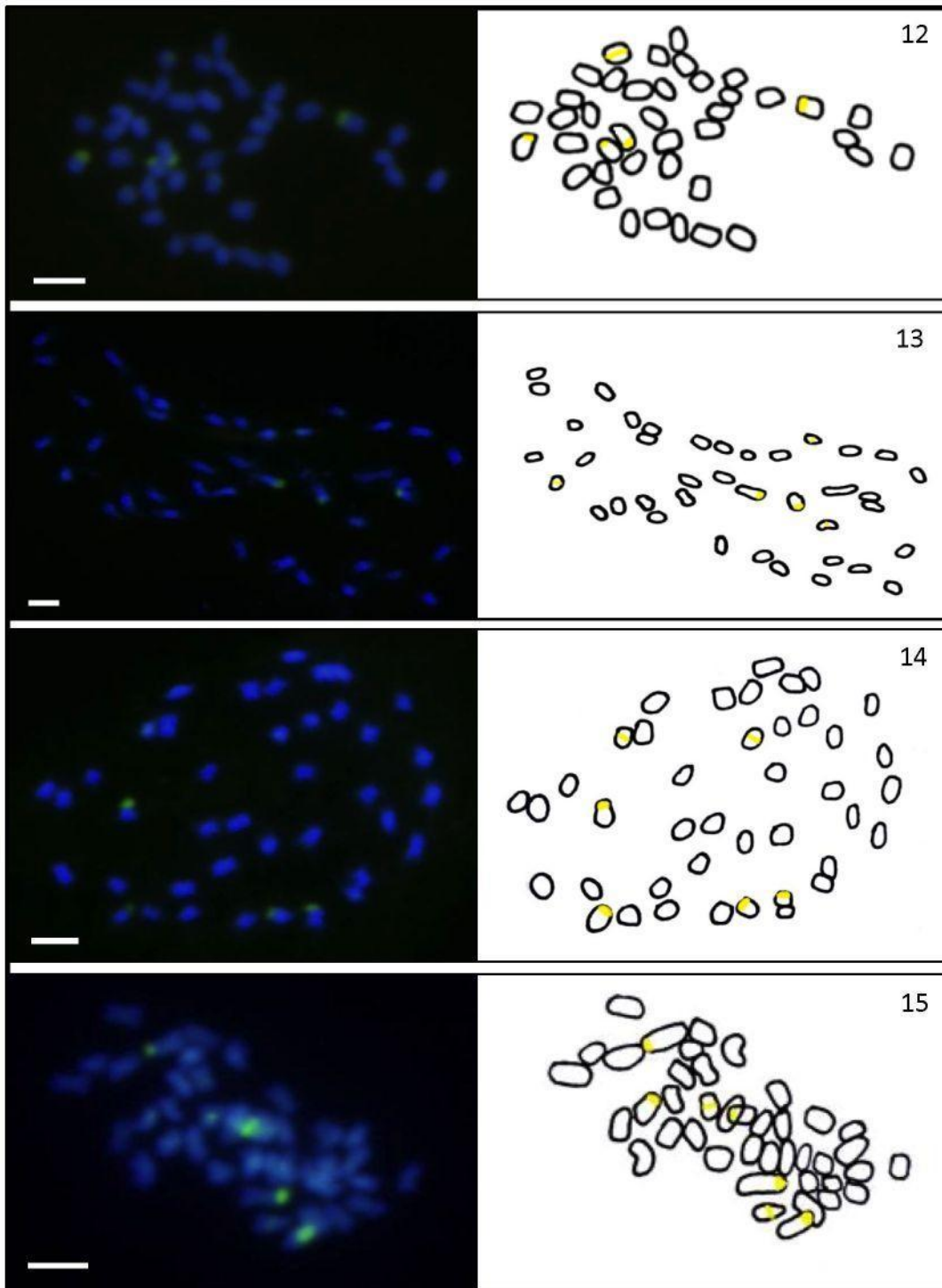
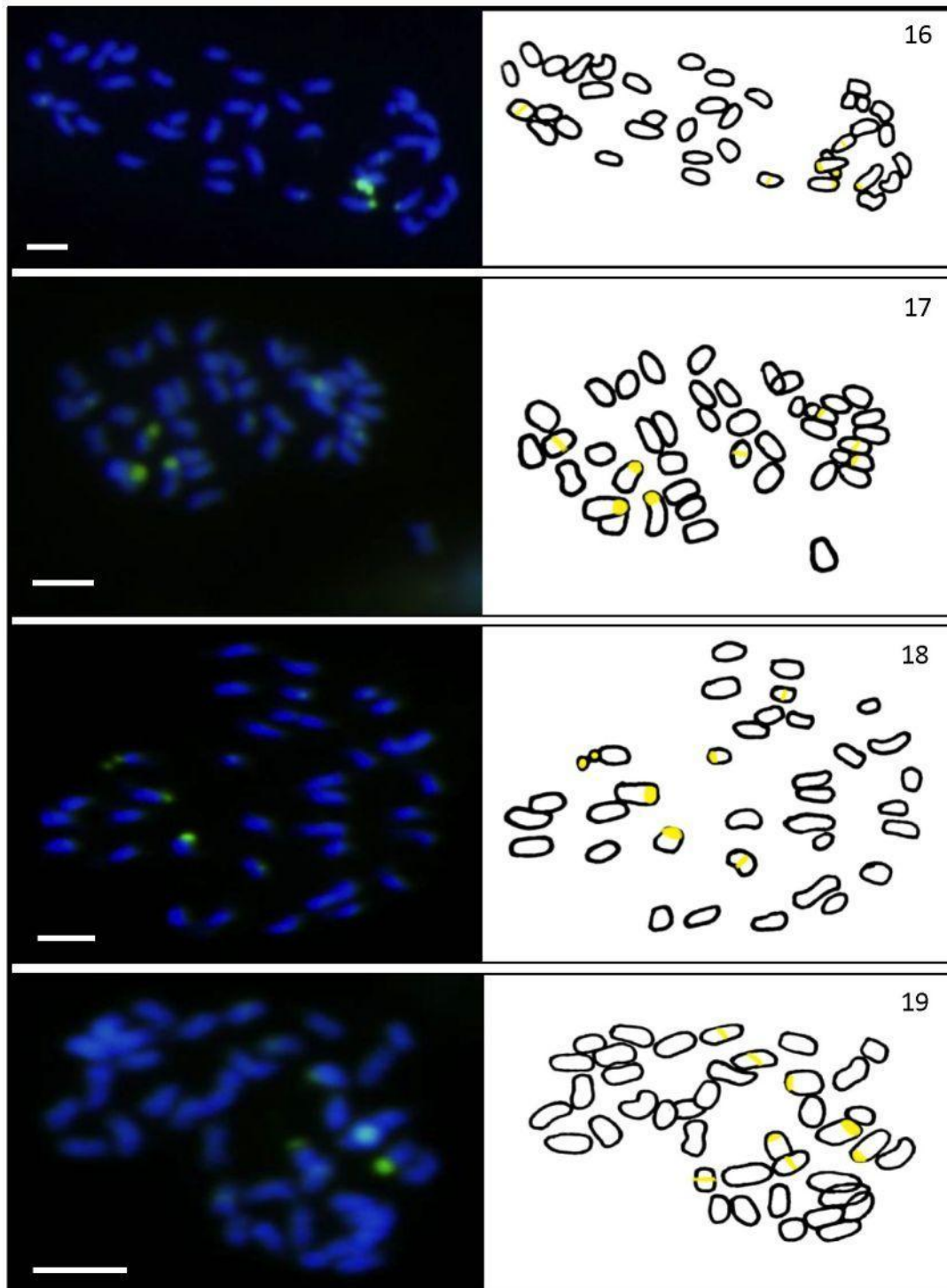


Figura 11. Representação esquemática dos tipos cromossômicos encontrados na progênie da população de Uberlândia (UDI) de *Handroanthus chrysotrichus*. A cor amarela representa as bandas  $CMA_3^+$ .

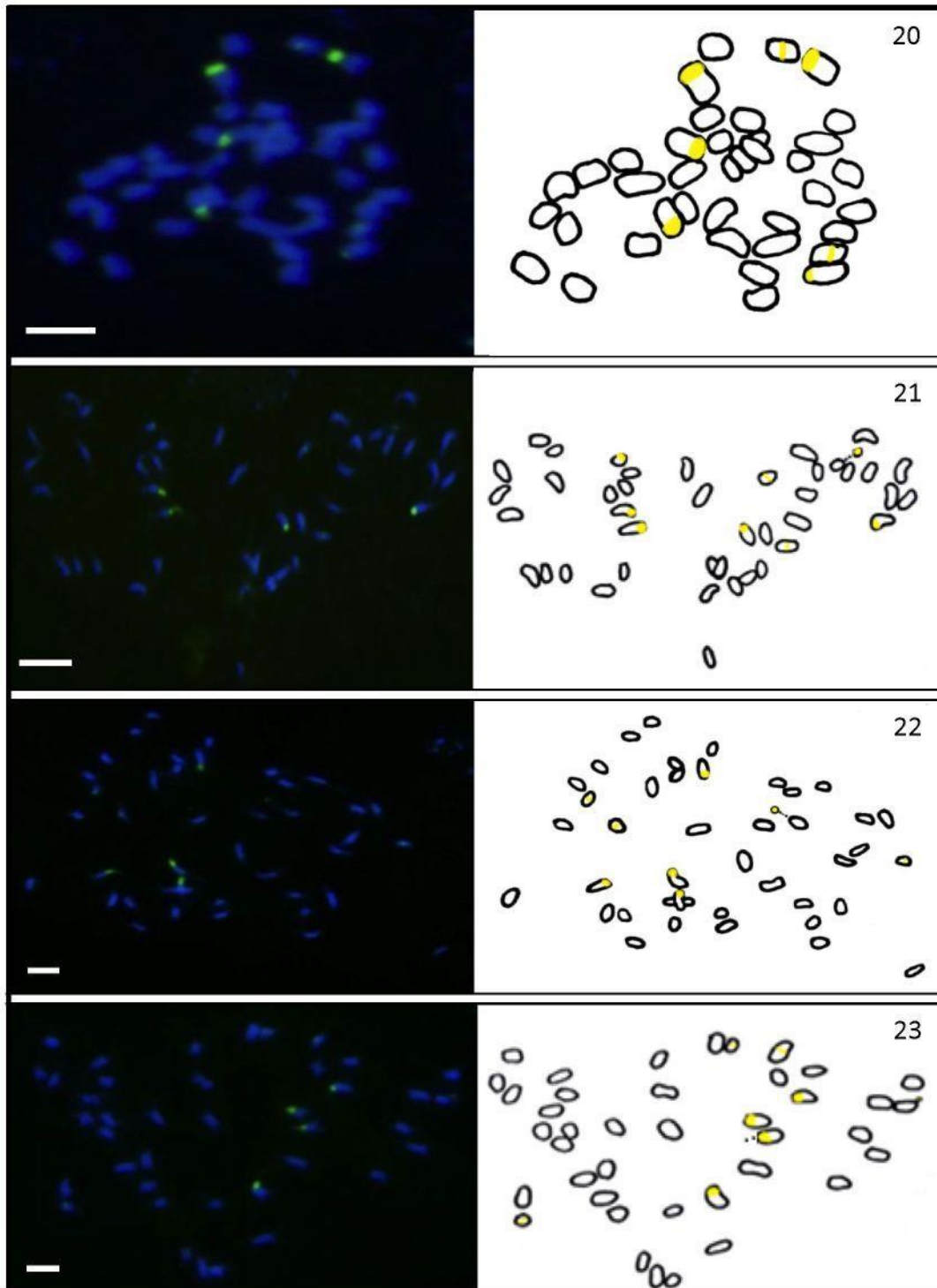


**Figura 12-15. Jatai - Indivíduo 1.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 12** - Padrão 35A + 4B + 1C (2n=40). **Fig. 13** - Padrão 34A + 3B + 3C (2n=40). **Fig. 14**- Padrão 34A + 4B + 2C (2n=40). **Fig. 15**- Padrão 33A + 5B + 2C (2n=40). Barra = 5µm.

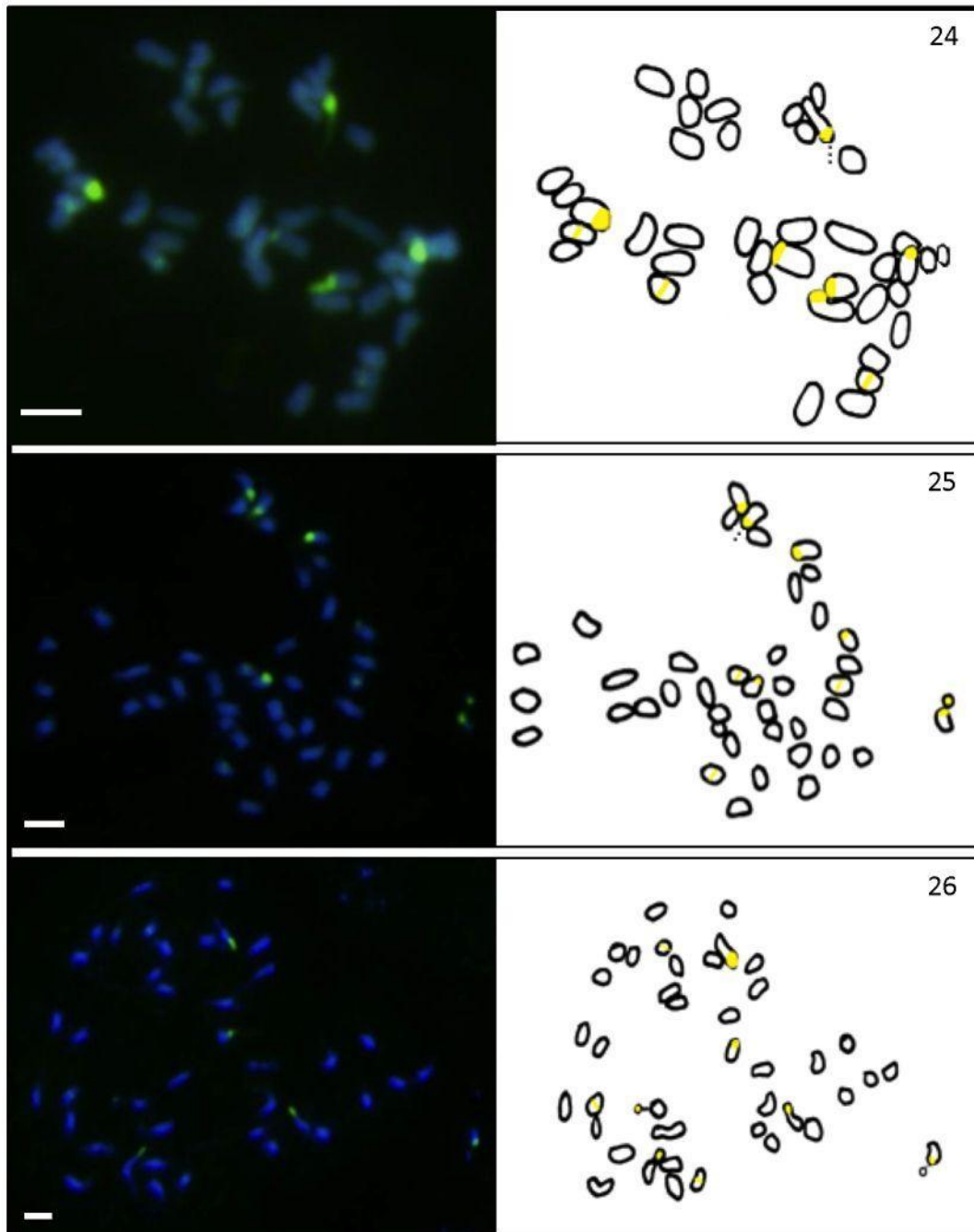


**Figura 16-19. Jatai - Indivíduo 1.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 16** - Padrão 33A + 4B + 3C (2n=40). **Fig. 17** - Padrão 32A + 5B + 3C (2n=40). **Fig. 18** - Padrão 30A + 3B + 2C + 1F (2n=36). **Fig. 19**- Padrão 28A + 4B + 4C (2n=40). Barra = 5µm.

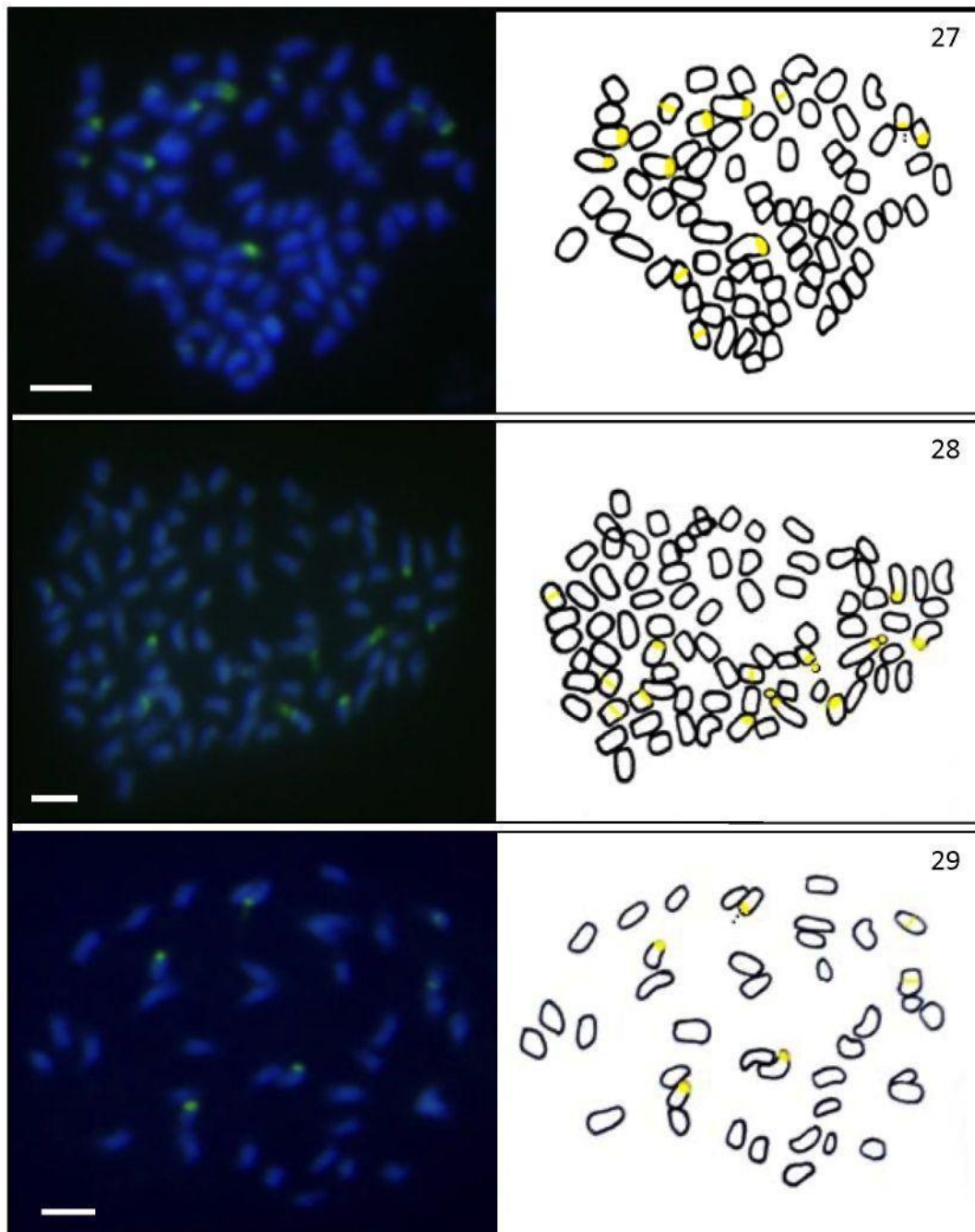




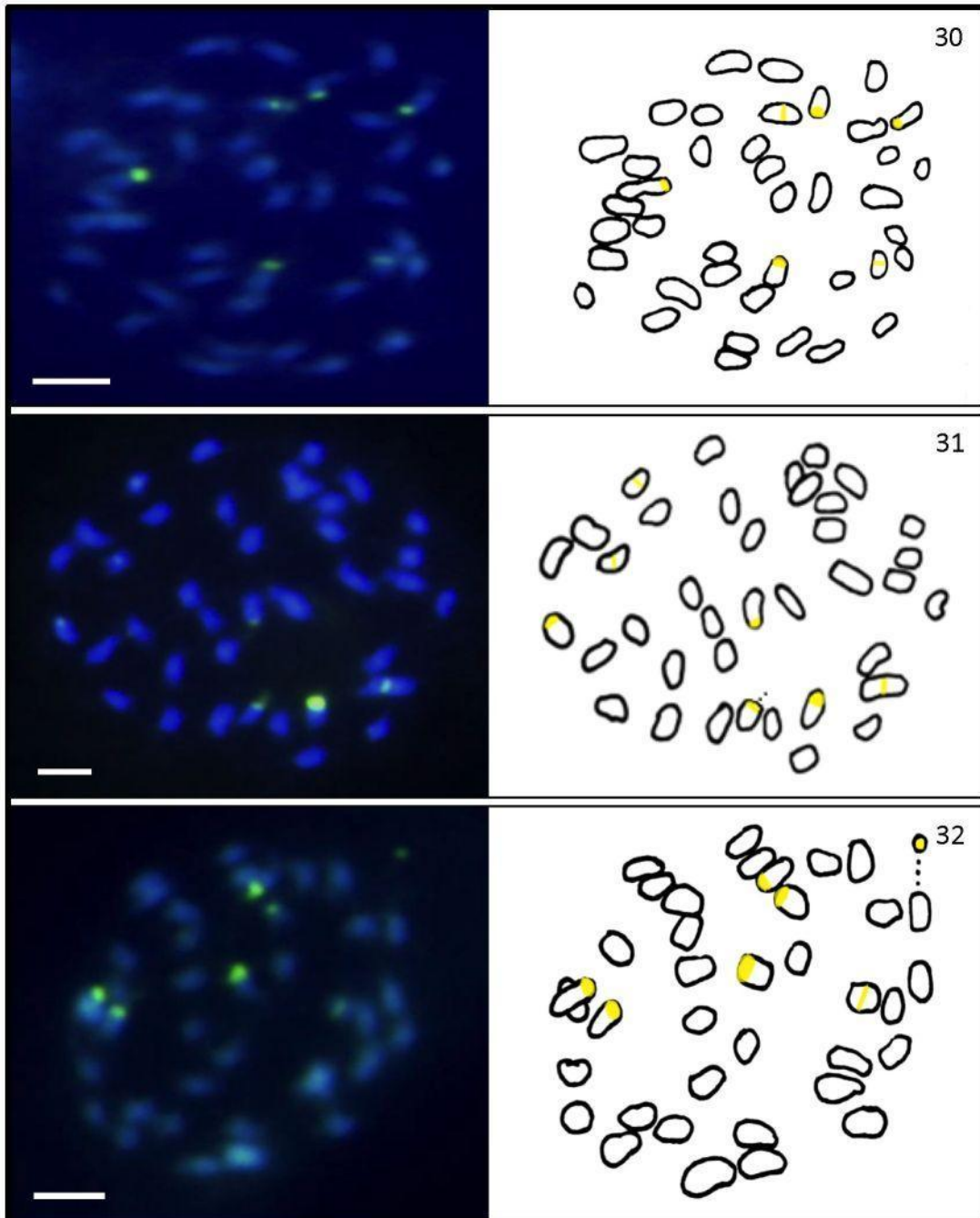
**Figura 20-23. Jatai - Indivíduo 2.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 20** - Padrão 33A + 4B + 3C (2n=40). **Fig 21** - Padrão 32A + 5B + 2C + 1E (2n=40). **Fig 22** - Padrão 32A + 4B + 3C + 1E (2n=40). **Fig. 23** - Padrão 32A + 3B + 3C + 1E + 1F (2n=40). Barra = 5µm.



**Figura 24-26. Jatai - Indivíduo 2.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 24** - Padrão 31A + 5B + 3C + 1F (2n=40). **Fig. 25** - 31A + 4B + 3C + 2F (2n=40). **Fig. 26** - Padrão 31A + 4B + 3C + 1D + 1E (2n=40). Barra = 5µm.

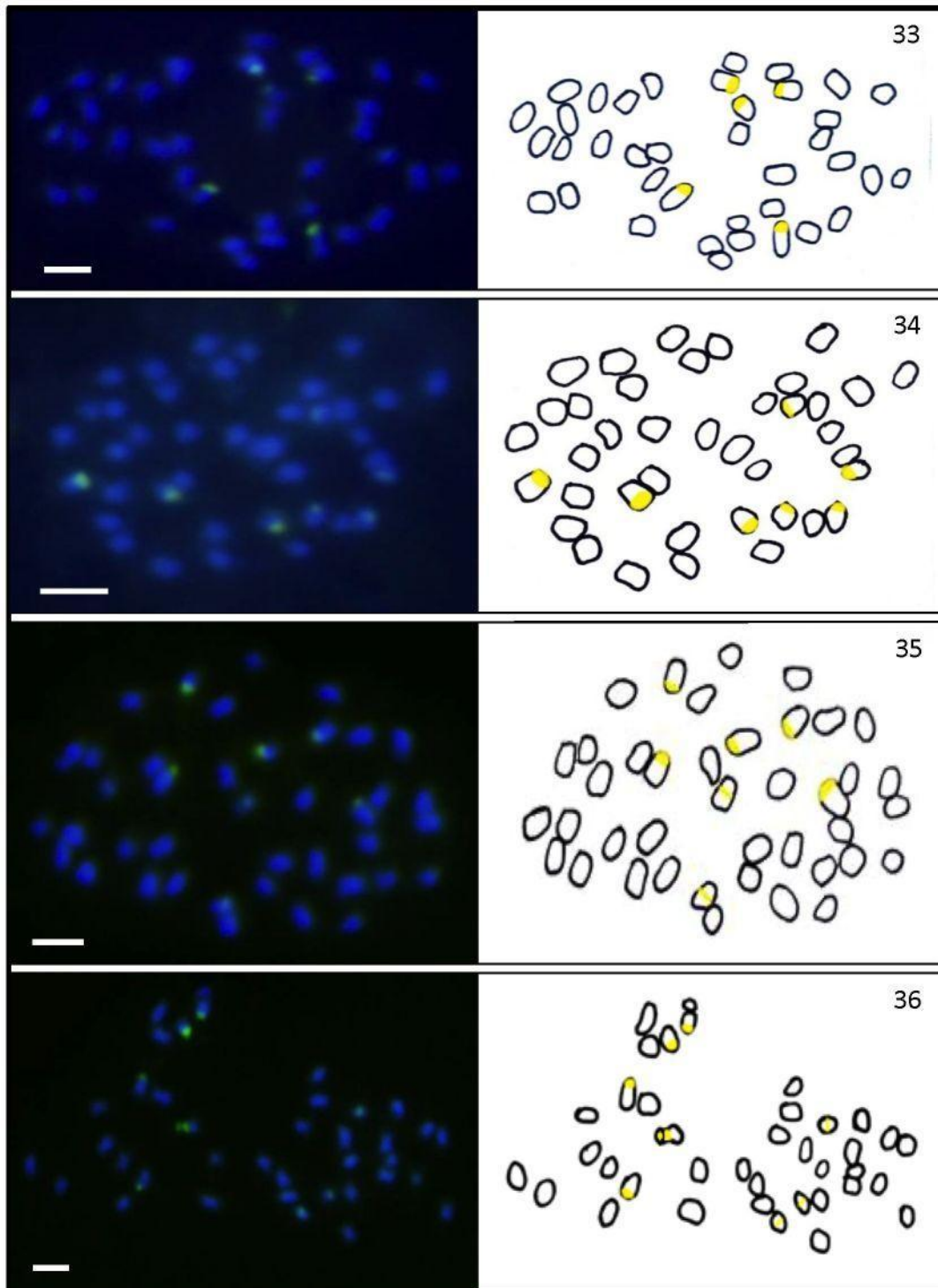


**Figura 27-29.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 27 a 28.** Três Marias - Indivíduo único. **Fig. 27** - Padrão 68A + 7B + 4C + 1F (2n=80). **Fig. 28** - Padrão 68A + 5B + 4C + 3F (2n=80). **Fig. 29** - Bom Jesus de Goiás - Indivíduo 1. Padrão 34A + 3B + 2C + 1F (2n=40). Barra = 5µm.

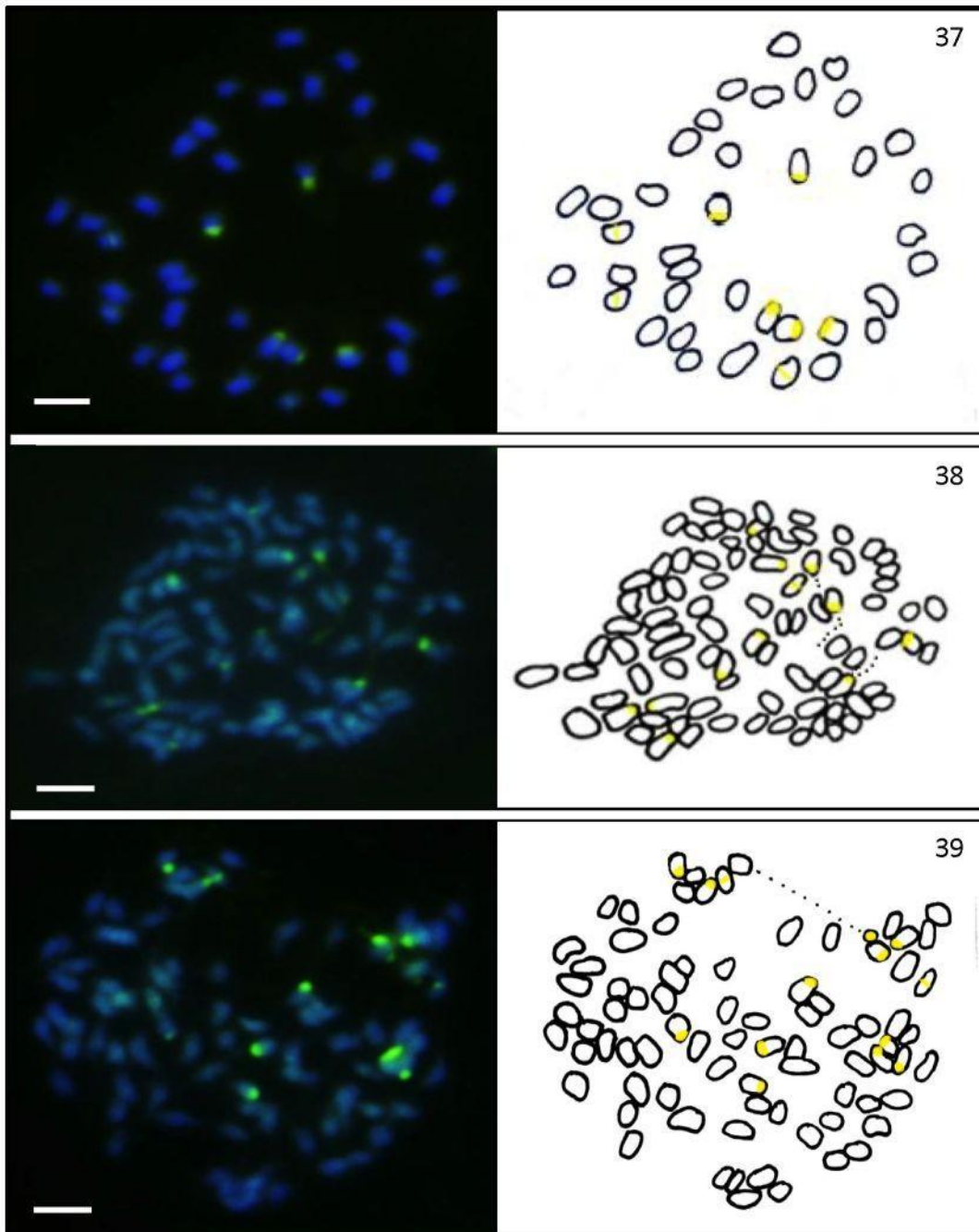


**Figura 30-32. Bom Jesus de Goiás - Indivíduo 1.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 30** - Padrão 34A + 4B + 2C ( $2n=40$ ). **Fig. 31** - Padrão 31A + 3B + 3C + 1F ( $2n=38$ ). **Fig. 32** - Padrão 30A + 5B + 1C + 1E ( $2n=37$ ). Barra = 5 $\mu$ m.

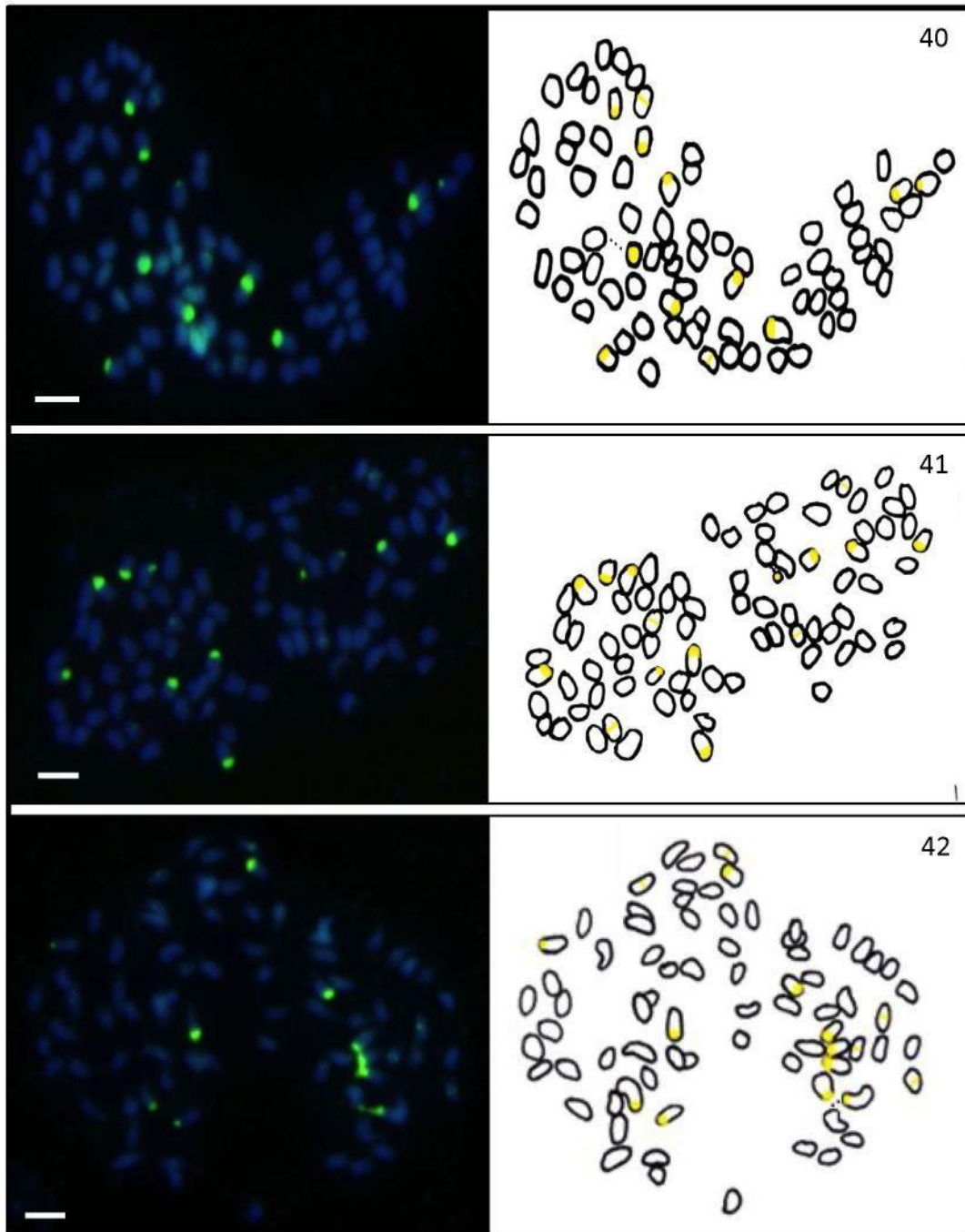




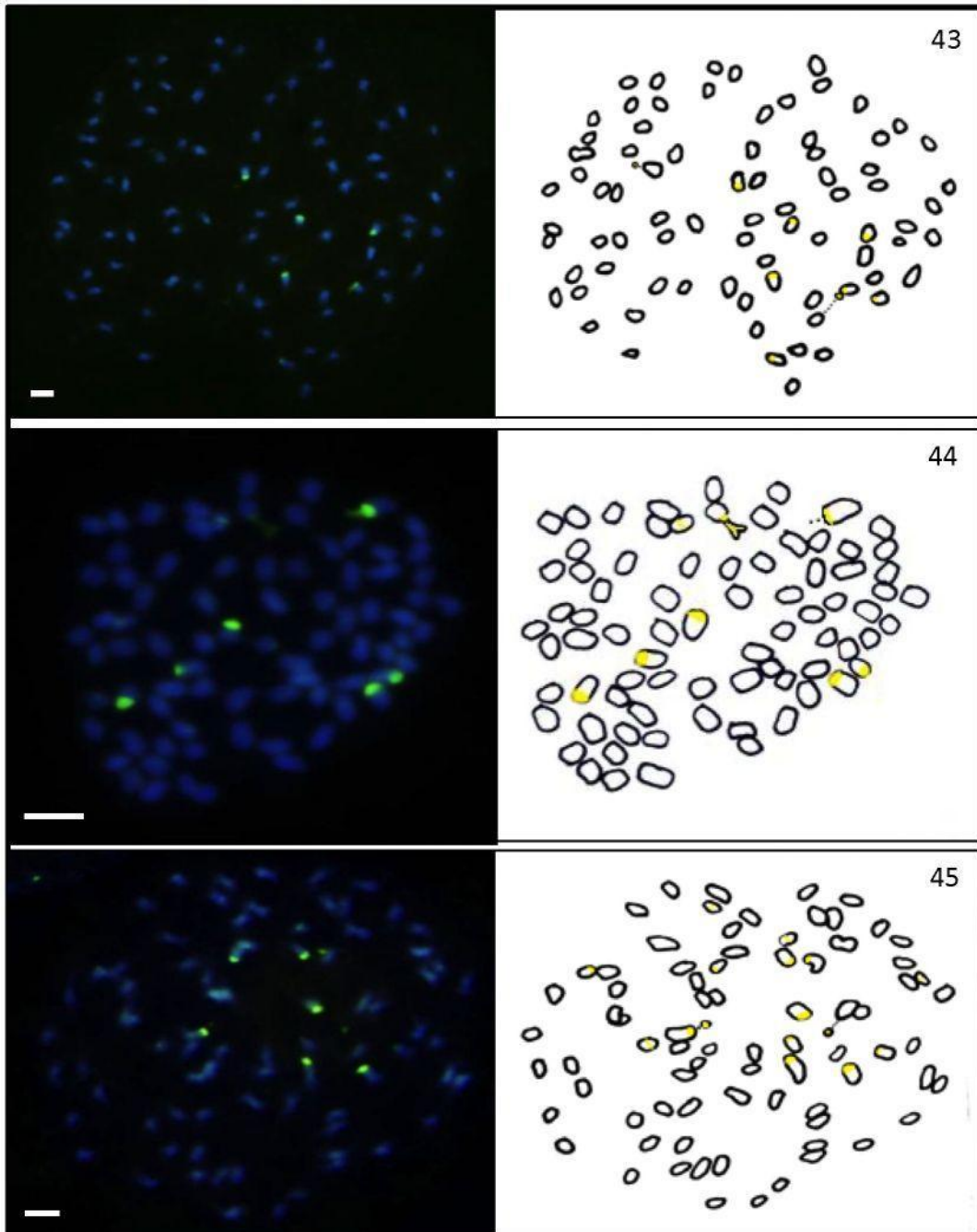
**Figura 33-36.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 33 e 34. Bom Jesus de Goiás - Indivíduo 2.** **Fig. 33** - Padrão 33A + 5B (2n=38). **Fig. 34** - Padrão 32A + 7B (2n=39). **Fig 34 e 35. Bom Jesus de Goiás - Indivíduo 3.** **Fig. 35** - Padrão 33A + 5B + 2C (2n=40). **Fig. 36** - Padrão 30A + 4B + 3C + 1F (2n=38). Barra = 5µm.



**Figura 37-39.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 37.** Bom Jesus de Goiás - Indivíduo 3. Padrão 30A + 5B + 3C (2n=38). **Fig. 38 e 39.** São José do Rio Preto - Indivíduo 1. **Fig. 38** - Padrão 68A + 8B + 1C + 3F (2n=80). **Fig. 39** - Padrão 62A + 12B + 2C (2n=76). Barra = 5µm.

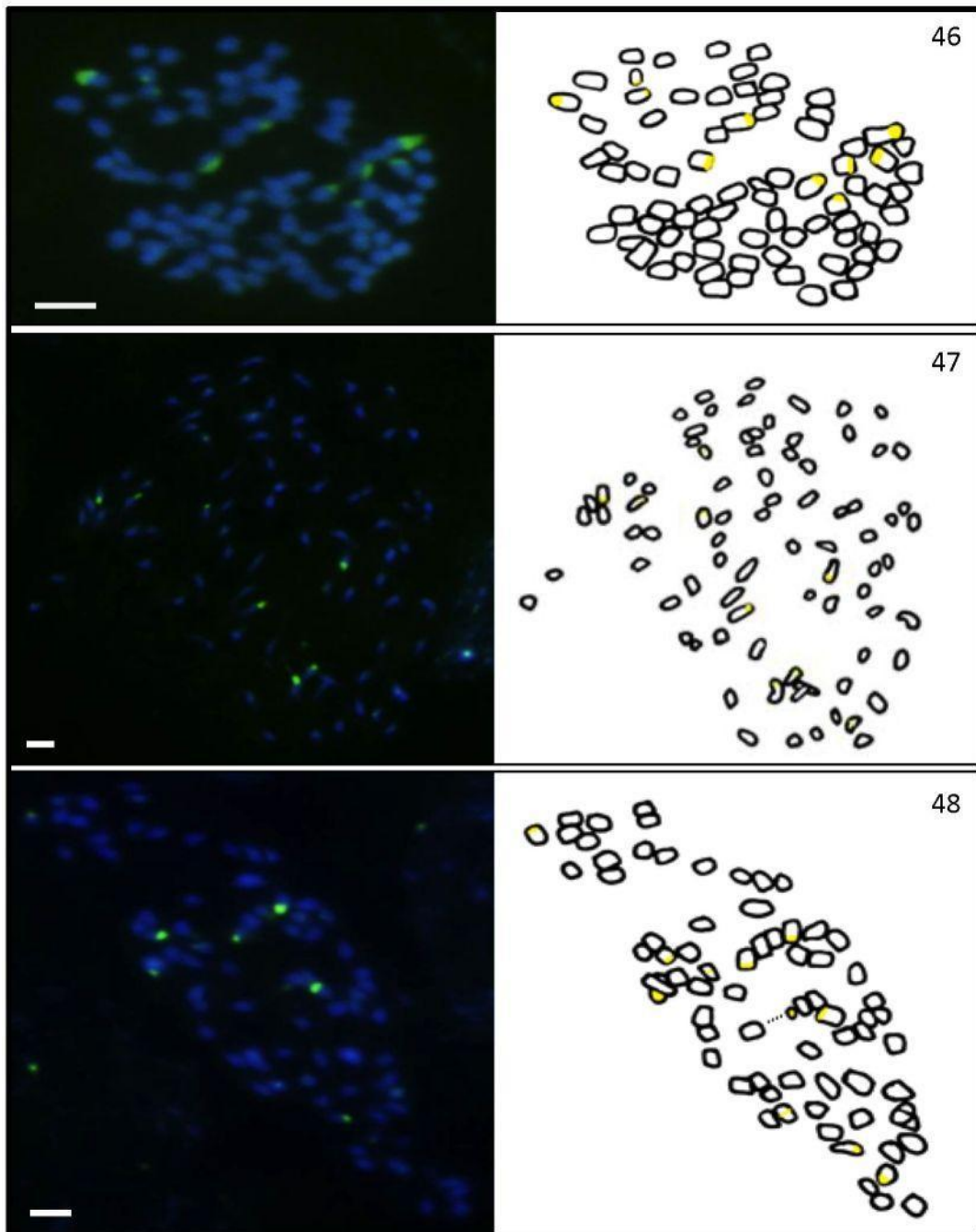


**Figura 40-42. São José do Rio Preto - Indivíduo 2.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 40** - Padrão 68A + 10B + 2C (2n=80). **Fig. 41** - Padrão 65A + 10B + 4C + 1E (2n=80). **Fig. 42** - Padrão 64A + 10B + 5C + 1F (2n=80). Barra = 5µm.

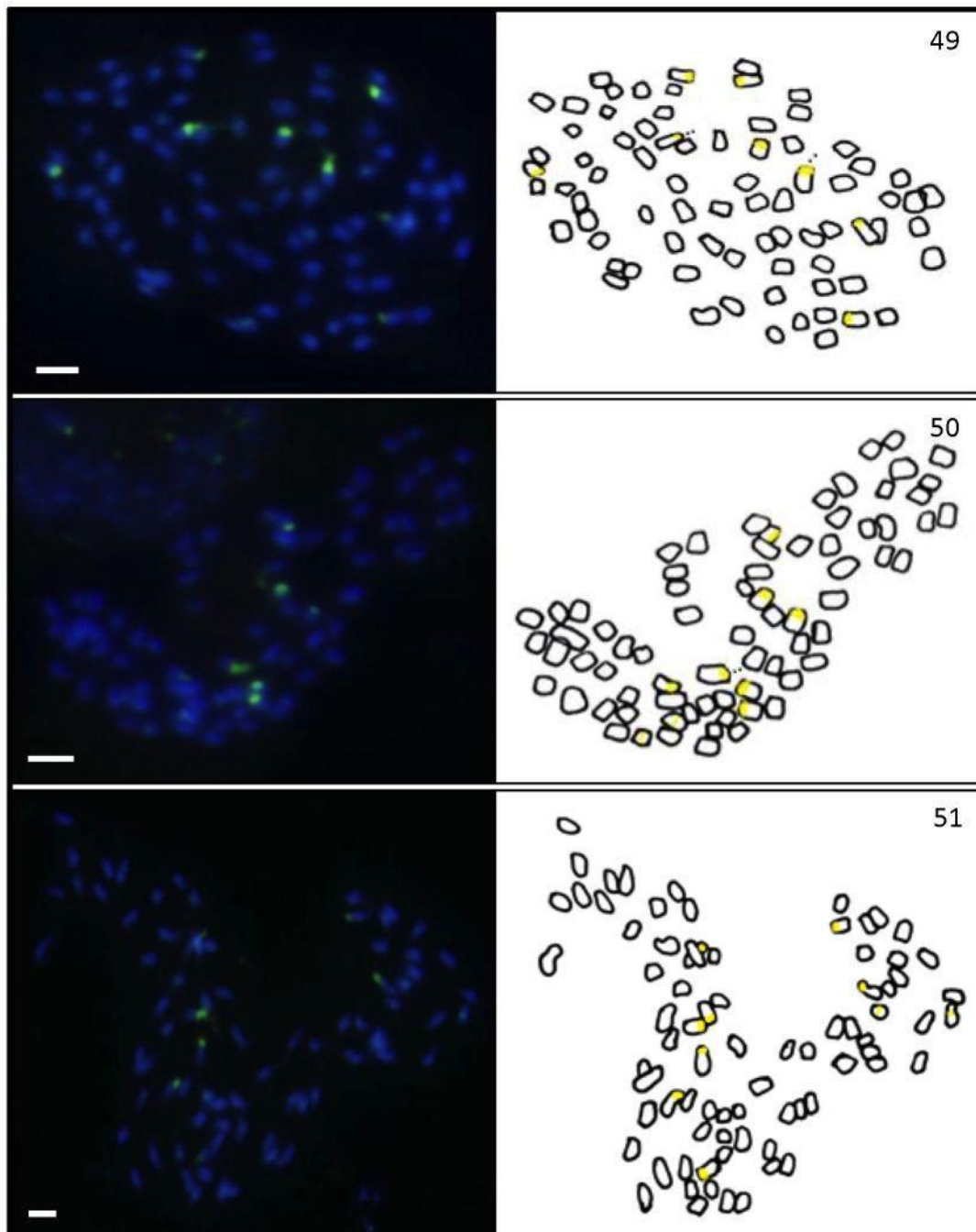


**Figura 43-45. São José do Rio Preto - Indivíduo 3.** Metáfases mitóticas de *H. ochraceus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 43** - Padrão 72A + 6B + 2E (2n=80). **Fig. 44** - Padrão 72A + 5B + 1C + 2F (2n=80). **Fig. 45** - Padrão 66A + 9B + 3C + 1E + 1F (2n=80). Barra = 5µm.

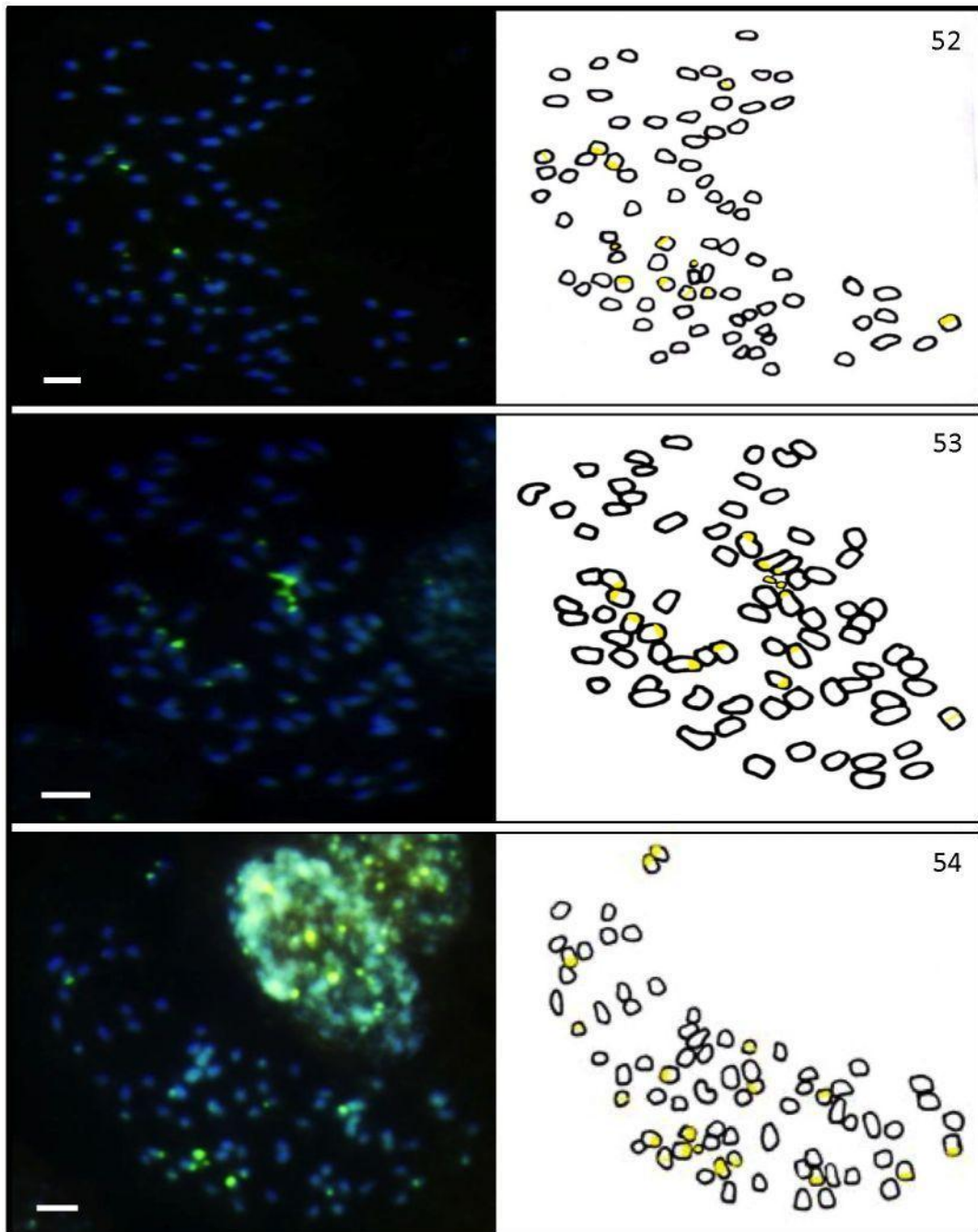




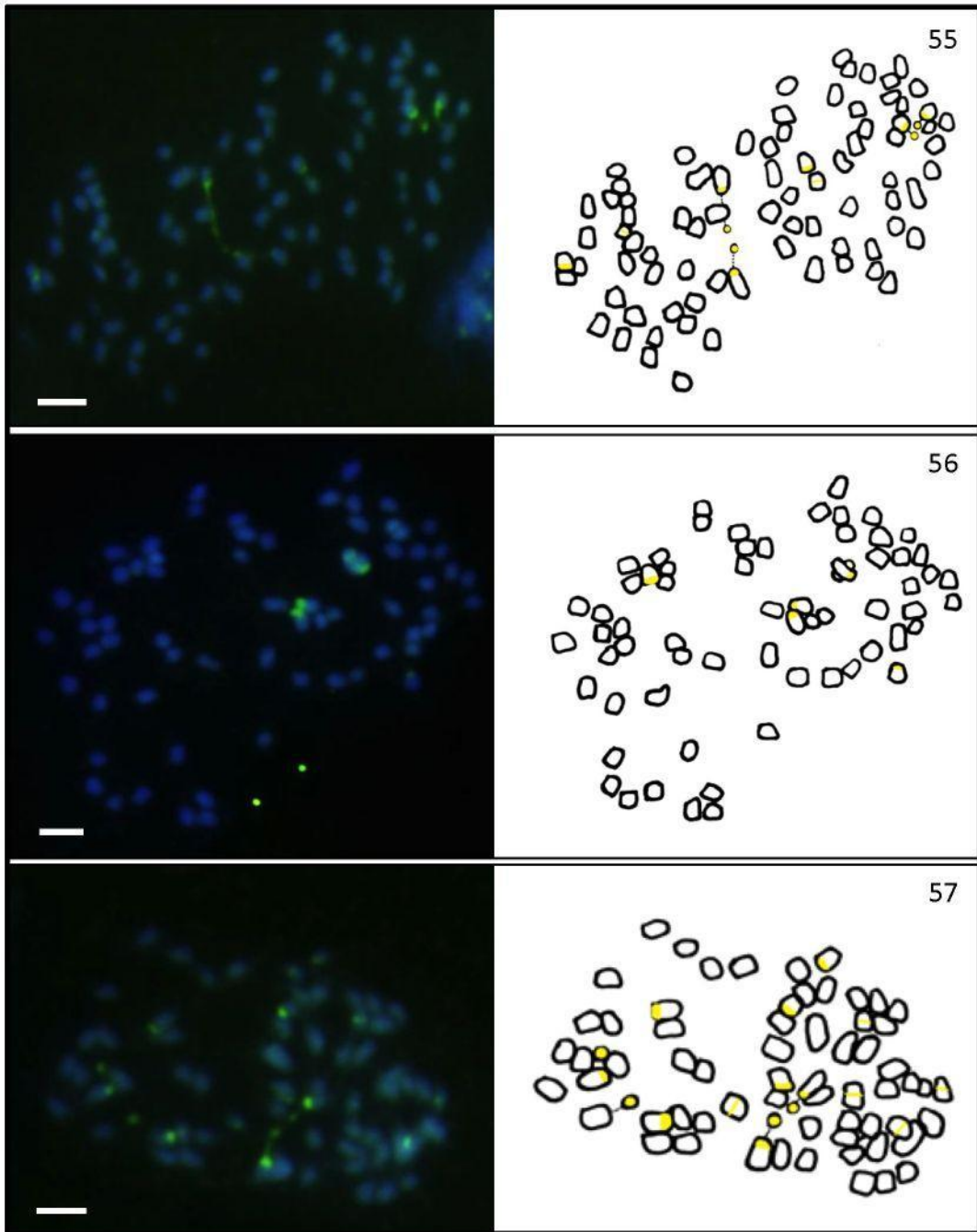
**Figura 46-48.** Metáfases mitóticas de *H. chrysotrichus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 46** - Itatiaia - Indivíduo 1. Padrão 70A + 10B (2n=80). **Fig. 47 e 48.** Itatiaia - Indivíduo 2. **Fig. 47** - Padrão 71A + 7B + 2C (2n=80). **Fig. 48** - Padrão 65A + 8B + 2C + 1E (2n=76). Barra = 5µm.



**Figura 49-51.** Metáfases mitóticas de *H. chrysotrichus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 49 e 50. Itatiaia - Indivíduo 3.** **Fig. 49** - Padrão 72A + 6B + 2F (2n=80). **Fig. 50** - Padrão 67A + 6B + 2C + 1F (2n=76). **Fig. 51. Itatiaia - Indivíduo 4.** Padrão 69A + 8B + 2C (2n=78). Barra = 5µm.

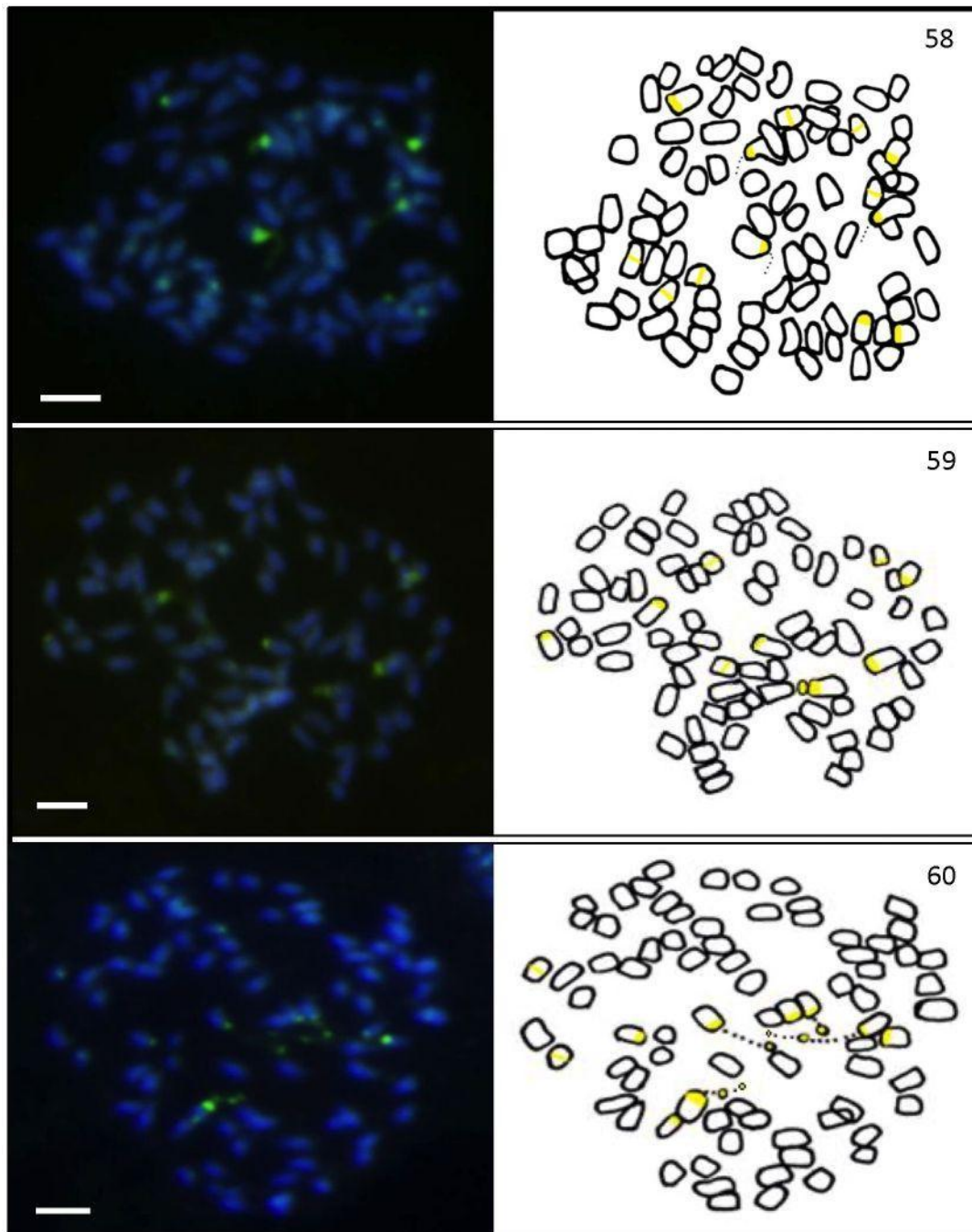


**Figura 52-54. Uberlândia - Indivíduo 1.** Metáfases mitóticas de *H. chrysotrichus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 52** - Padrão 69A + 6B + 4C + 2E (2n=81). **Fig. 53** - Padrão 67A + 10B + 1C + 2F (2n=80). **Fig. 54**- Padrão 60A + 13B + 4C + 1F (2n=78). Barra = 5µm.

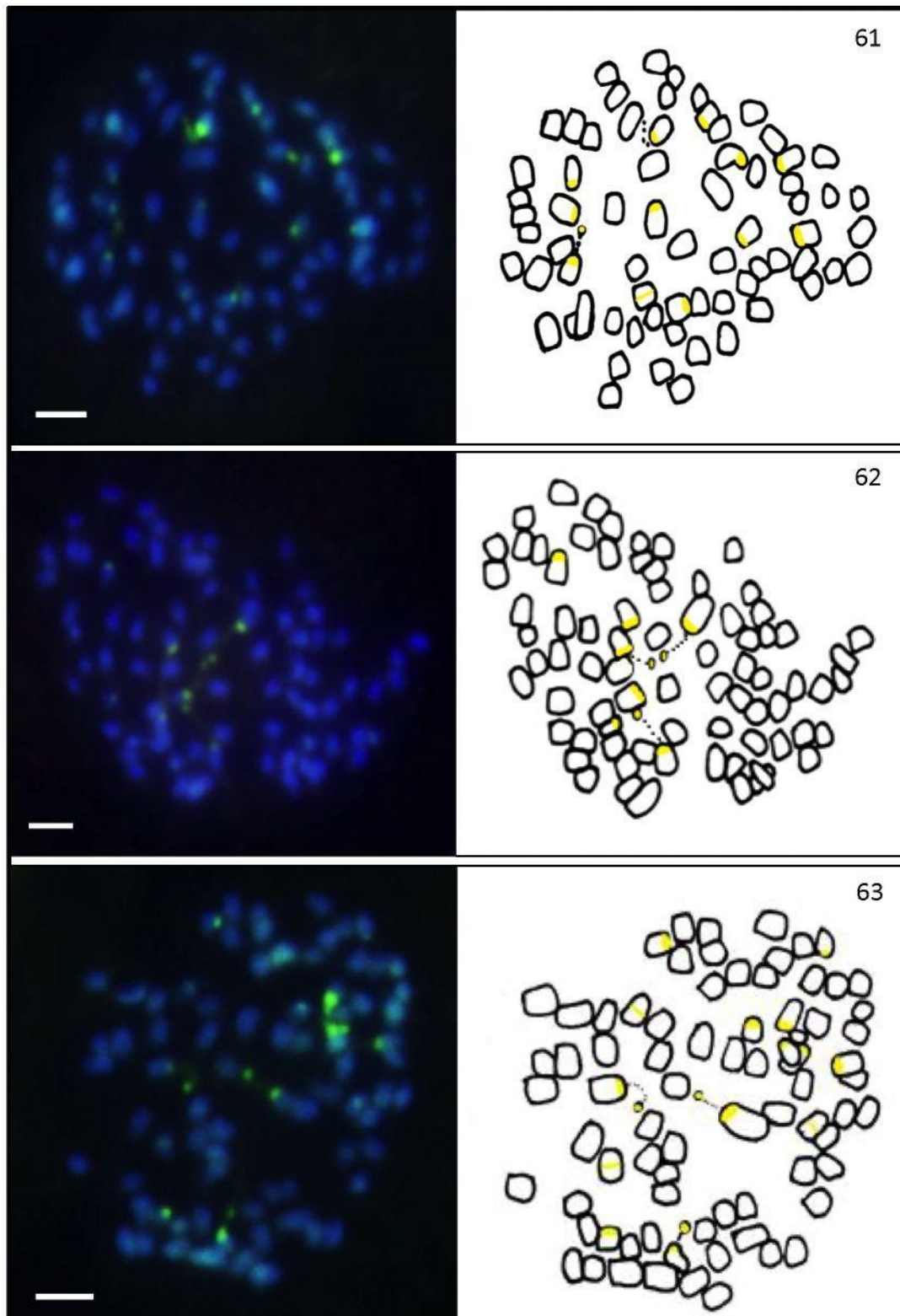


**Figura 55-57. Uberlândia - Indivíduo 2.** Metáfases mitóticas de *H. chrysotrichus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 55** - Padrão 70A + 2B + 2C + 4F (2n=80). **Fig. 56** - Padrão 61A + 5B (2n=66). **Fig. 57** - Padrão 48A + 6B + 4C + 2E + 2F (2n=63). Barra = 5µm.





**Figura 58-60.** Metáfases mitóticas de *H. chrysoirichus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 58 e 59. Uberlândia - Indivíduo 3.** **Fig. 58** - Padrão 67A + 4B + 6C + 3D (2n=80). **Fig. 59** - Padrão 67A + 6B + 2C + 1F (2n=76). **Fig. 60. Uberlândia - Indivíduo 4.** Padrão 58A + 4B + 2C + 2F + 2G (2n=68). Barra = 5µm.



**Figura 61-63.** Metáfases mitóticas de *H. chrysotrichus* coradas com CMA3/DAPI sobrepostas (primeira coluna) e desenho esquemático evidenciando a localização das bandas CMA3+ (segunda coluna). **Fig. 61 Uberlândia - Indivíduo 4.** Padrão 56A + 9B + 1C + 2F (2n=68). **Fig. 62 e 63. Uberlândia - Indivíduo 5.** **Fig. 62 -** Padrão 69A + 4B + 3F (2n=76). **Fig. 63 -** Padrão 63A + 8B + 3C + 3F (2n=77). Barra = 5µm.