



QUÊNIA MARA SILVA

CITOTAXONOMIA DE TRÊS ESPÉCIES DE
Cuphea P. Browne

LAVRAS - MG

2017

QUÊNIA MARA SILVA

CITOTAXONOMIA DE TRÊS ESPÉCIES DE *Cuphea* P. Browne

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica Aplicada, para a obtenção do título de Mestre.

Profa. Dra. Mariana Esteves Mansanares
Orientadora

Profa. Dra. Giovana Augusta Torres
Coorientadora

LAVRAS - MG

2017

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Silva, Quênia Mara.

Citotaxonomia de três espécies de *Cuphea* P. Browne / Quênia
Mara Silva. - 2016.

46 p. : il.

Orientadora: Mariana Esteves Mansanares.

Coorientadora: Giovana Augusta Torres

Dissertação (mestrado acadêmico) - Universidade Federal de
Lavras, 2016.

Bibliografia.

1. Lythraceae. 2. Número cromossômico. 3. Myrtales. I.
Mansanares, Mariana Esteves. II. Torres, Giovana Augusta. III.
Título.

QUÊNIA MARA SILVA

CITOTAXONOMIA DE TRÊS ESPÉCIES DE *Cuphea* P. Browne

CYTOTAXONOMY OF THREE SPECIES OF Cuphea P. Browne

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, área de concentração em Botânica Aplicada, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 15 de dezembro de 2016.

Dra. Caroline Cambraia Furtado Campos UFLA

Dra. Katia Ferreira Marques de Resende UFLA

Profa. Dra. Mariana Esteves Mansanares

Orientadora

Profa. Dra. Giovana Augusta Torres

Coorientadora

LAVRAS - MG

2017

*Aos meu pais, por serem meu apoio e minha
maior torcida.*

Ao Haroldo, pelo apoio constante.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, meu irmão e minha cunhada, por todo o amor, carinho e incentivo.

Ao Haroldo, por todo apoio e companheirismo, durante todos os momentos de alegria e incertezas.

Aos amigos antigos, de longa data, por estarem sempre presentes. E também aos novos, tão importantes nessa etapa, que jamais serão esquecidos.

À Universidade Federal de Lavras e ao Departamento de Biologia, pela estrutura concedida para a realização deste trabalho.

Ao programa de pós-graduação em Botânica Aplicada, pela oportunidade de realizar o curso de mestrado.

À CNPQ, pela concessão da bolsa de estudos.

À Professora Dra. Mariana Esteves Mansanares, por sua contribuição para o meu crescimento profissional.

Aos professores, pelos conhecimentos compartilhados e transmissão de seus valores, que deixaram de ser apenas professores e se tornaram exemplos.

Aos colegas do Programa de Pós-Graduação em Botânica Aplicada, por todos os ensinamentos e contribuições, em especial à Graciele, que sempre está pronta a me ajudar quando preciso.

A todos do Laboratório de Citogenética, pela disponibilidade de ajudar sempre que necessário.

A professora Lília Rosário Ribeiro, pelos ensinamentos partilhados, que foram muito valiosos nessa etapa.

Enfim, agradeço a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

"Existem muitas hipóteses em ciência que estão erradas. Isso é perfeitamente aceitável, eles são a abertura para achar as que estão certas." (Carl Sagan)

RESUMO

O número cromossômico e sua morfologia são parâmetros muito utilizados na citotaxonomia. A análise comparativa desses caracteres em espécies aparentadas auxilia na distinção das espécies, no estudo de relações filogenéticas e mecanismos evolutivos entre os gêneros e com outras famílias. Esses estudos ainda são escassos em muitas regiões e para muitas espécies. A contagem cromossômica de espécies desconhecidas é muito importante, bem como a recontagem de espécies de populações diferentes, em razão da possível ocorrência de variação interpopulacional e também de registros incorretos na literatura. A família Lythraceae constitui uma das nove famílias da ordem Myrtales, e o gênero *Cuphea* P. Browne, com cerca de 260 espécies, é considerado o gênero mais rico em espécies da família. Também é bem diversificado quanto ao número cromossômico, sendo o número mais comum no Brasil $n = 8$, e também considerado como o número cromossômico básico para o gênero. Embora várias contagens cromossômicas para *Cuphea* tenham sido feitas, ainda são consideradas poucas, necessitando de mais relatos para elucidar suas relações filogenéticas e evolutivas. Diante disso, neste trabalho, visou-se a ampliar o conhecimento dos números cromossômicos de *Cuphea* (Lythraceae) no Brasil, bem como utilizá-los como ferramenta taxonômica. As espécies estudadas apresentaram números cromossômicos diferentes: *C. carthagenensis* possui $2n=24$, *C. sperguloides* possui $2n=18$ e *C. thymoides* possui $2n=36$, auxiliando na diferenciação das espécies.

Palavras-chave: Lythraceae. Número cromossômico. Myrtales. Número cromossômico básico.

ABSTRACT

The chromosomal number and its morphology are parameters commonly used in cytotaxonomy. The comparative analysis of these characters in related species aids in species distinction, in the study of phylogenetic relations and evolutionary mechanisms between the genera and with other families. These studies are still scarce in many regions and for many species. The chromosomal count of unknown species is very important, as is the recounting of species from distinct populations, due to the possible occurrence of interpopulation variation and the improper registration in literature. The Lythraceae family constituted one of the nine families of the Myrtales order, and the *Cuphea* P. Browne genus, with near to 260 species, is considered the richest in species of the family. It is also diversified regarding the chromosomal number, with the most common number in Brazil being $n = 8$, being considered as base chromosomal number for the genus. Despite many chromosomal counts for *Cuphea* having been done, they are still considered few, requiring more reports to elucidate its phylogenetic and evolutionary relations. Thus, this work aimed at expanding the knowledge of the chromosomal numbers of *Cuphea* (Lythraceae) in Brazil, as well as use them as taxonomic tools. The studied species presented different chromosomal numbers: *C. carthagenensis* presents $2n = 24$, *C. sperguloides* presents $2n = 18$ and *C. thymoides* presents $2n = 36$, aiding for differentiating the species.

Keywords: Lythraceae. Chromosomal number. Myrtales. Base chromosomal number.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Números cromossômicos n (haploides) e $2n$ (diploides) de espécies de <i>Cuphea</i> do Brasil.....	31
---	----

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Distribuição das espécies do gênero *Cuphea* P. Browne.17
- Figura 2 – Possíveis vias de derivação dos números cromossômicos diploides e poliplóides em *Cuphea*, excluindo poliploides com números de 40 ou superior. Linhas indicam a direção mais provável da mudança com base em relações de espécies implícitas a partir de semelhanças fenéticas.....23
- Figura 3 – Localização geográfica das Serras da Bocaina e de Carrancas. Imagens geradas do satélite Nasa-SRTM com resolução de 90 m.....28
- Figura 4 – Cromossomos em metáfase mitótica e ilustrações botânicas das espécies de *Cuphea* estudadas.....37

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIAL TEÓRICO	15
2.1	Aspectos de Lythraceae J. St.-Hil.....	15
2.2	Características de <i>Cuphea</i> P. Browne.....	16
2.3	Citotaxonomia.....	18
3	OBJETIVOS	25
3.1	Geral	25
3.2	Específicos	25
4	MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1	Área de estudo.....	27
4.2	Material botânico.....	28
4.3	Preparo das lâminas	28
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	31
6	CONCLUSÃO.....	40
	REFERÊNCIAS	42

1 INTRODUÇÃO

Os dados citogenéticos mais utilizados na citotaxonomia são o número cromossômico e sua morfologia. A análise comparativa dessas características em espécies aparentadas auxilia na distinção entre caracteres que são exclusivos de cada espécie ou a maioria delas (GUERRA, 2008).

O número de cromossomos é importante nas hipóteses de relações filogenéticas e mecanismos evolutivos entre os gêneros e com outras famílias. Esses números são geralmente estáveis dentro de um organismo, e se ocorrerem variações, estas se tornam parte dos processos evolutivos que levam à especiação (GRAHAM; CAVALCANTI, 2001).

Quando os números de cromossomos das espécies dentro de um grupo taxonômico são conhecidos, padrões e tendências nos números podem sugerir que mecanismos específicos foram influentes no desenvolvimento do grupo, a partir de seu ancestral (GRAHAM; CAVALCANTI, 2001).

A maioria dos táxons exibe uma extensa variação no número de cromossomos e outras características do cariótipo. Para estes, uma investigação cuidadosa da variação do número de cromossomos, aliado com uma árvore filogenética bem estabelecida, pode ser uma poderosa ferramenta para a compreensão dos mecanismos evolutivos do cariótipo e as implicações para a taxonomia do grupo (GUERRA, 2008).

A análise de caracteres citotaxonômicos pode auxiliar no estudo de diversas espécies, famílias ou grupos vegetais, auxiliando na compreensão da maneira que divergiram uma da outra (GUERRA, 2008; PEDROSA et al., 1999).

Esses estudos são escassos nas regiões tropicais, comparados às regiões temperadas. Além da contagem cromossômica de espécies desconhecidas nesse quesito, a recontagem de espécies de populações diferentes também é importante em razão da possível ocorrência de variação interpopulacional e também de registros incorretos na literatura (PEDROSA et al., 1999).

Cuphea P. Browne possui cerca de 260 espécies, sendo considerado o gênero mais rico em espécies da família Lythraceae. É encontrado em toda a América Latina, principalmente no Brasil e no México (BARBER; GHEBRETINSAE; GRAHAM, 2010; CAVALCANTI, 1991).

O gênero é bem diversificado quanto ao número cromossômico. O número mais comum no Brasil é $n = 8$, sendo considerado como o número cromossômico básico para o gênero (GRAHAM, 1989).

Existem várias contagens cromossômicas para o gênero *Cuphea*, e, embora mais de 400 contagens já tenham sido publicadas, ainda são consideradas poucas, necessitando de mais relatos para elucidar suas relações filogenéticas e evolutivas (GRAHAM; CAVALCANTI, 2001).

Diante disso, este trabalho visa a ampliar o conhecimento dos números cromossômico de *Cuphea* (Lythraceae), no Brasil, bem como utilizá-los como ferramenta taxonômica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Aspectos de Lythraceae J. St.-Hil.

A família Lythraceae possui 28 gêneros e, aproximadamente, 600 espécies. Constitui uma das nove famílias da ordem Myrtales, e, juntamente com as famílias Combretaceae e Onagraceae, formam uma grande linhagem da ordem (GRAHAM, 2013).

Compreende arbustos, pequenas e grandes árvores, e também herbáceas perenes e anuais, encontradas isoladas ou em grandes colônias, ocorrendo mais raramente como planta de hábito herbáceo. São adaptadas a uma ampla variedade de habitats, incluindo manguezais, dunas costeiras, florestas tropicais úmidas, savanas sazonalmente secas, cerrados, campos áridos e pedregosos, pântanos de água doce e águas rasas de lagos e rios (HUANG; SHI, 2002).

Os representantes de Lythraceae são encontrados em todos os continentes, exceto na Antártida. Possuem distribuição pantropical e algumas espécies são de regiões temperadas. A família encontra-se geograficamente dividida entre o Velho Mundo, com 18 gêneros, e no Novo Mundo com 13 gêneros, sendo a maior concentração dos gêneros na América tropical e África, com baixa representatividade de espécies nas latitudes norte (GRÍMSSON; ZETTER; HOFMANN, 2011).

A família possui quatro gêneros mais diversos *Cuphea*, *Diplusodon* Pohl, *Lagerstroemia* L. e *Nesaea* Comm. Ex Kunth, que são responsáveis por três quartos de todas as espécies. Possui também espécies de importância econômica, como *Lagerstroemia* o crepe de murta cultivado; *Lawsonia* L., fonte de corante henna; e *Cuphea* fonte de óleo de sementes e plantas de jardim (GRAHAM et al., 2005).

No Brasil, são encontrados nove gêneros nativos, *Cuphea*, *Diplusodon*, *Ammannia* L., *Crenea* Aubl., *Lafoensia* Vand., *Heimia* Link, *Physocalymma* Pohl,

Pleurophora D. Don e *Rotala* L., sendo *Cuphea*, considerado o mais bem representado destes, com cerca de 260 espécies. O segundo é *Diplusodon*, com cerca de 57 espécies (BARBER; GHEBRETINSAE; GRAHAM, 2010; CAVALCANTI, 2007).

A família é reconhecida por um conjunto de caracteres como folhas simples e opostas ou verticiladas; flores solitárias ou inflorescências racemosas, monóclinas, actinomorfas ou zigomorfas, diclamídeas, perigínicas, 4-16 meras, tubo floral com pétalas enrugadas inseridos na borda; duas espirais de estames inseridos no fundo do tubo; ovário superior, livre no tubo; fruto seco, capsular, membranáceo, fechado pelo tubo floral persistente; sementes geralmente aladas, endosperma escasso ou ausente, muito pequenas. São polinizadas por insetos (GRAHAM et al., 2005; JUDD; SINGER; SINGER, 2009).

Possui também, recursos especializados, compartilhados com o restante dos membros da ordem das Myrtales, como floema intraxilar, elementos de vaso guarnecidos sulcados, processos estipulares axilares divididos, venação da folha brochidródoma, tecidos ricos em ácido elágico (HUANG; SHI, 2002).

A diversificação da família Lythraceae de outros grupos de Myrtales ocorreu, principalmente, durante dois principais períodos em que a temperatura global se alterou, durante o Paleoceno-Eoceno e do meio Mioceno para frente, quando as temperaturas diminuiram acentuadamente e a adaptação da vegetação ao clima seco tornou-se mais proeminente, o que resultou na produção de várias linhagens dentro de um período relativamente curto de tempo. Acredita-se que a diversificação do gênero *Cuphea* ocorreu no período Quaternário (GRAHAM, 2013).

2.2 Características de *Cuphea* P. Browne

O gênero *Cuphea* P. Browne possui cerca de 260 espécies, sendo considerado o mais rico em espécies da família Lythraceae, mais de cinco vezes

maior que o segundo maior gênero, *Diplusodon*, com 57 espécies (BARBER; GHEBRETINSAE; GRAHAM, 2010).

Cuphea é encontrada em toda a América Latina, principalmente nos cerrados do leste do Brasil e em montanhas do oeste e sul do México (Figura 1). Embora esses centros de diversificação sejam amplos, eles compartilham poucas espécies (GRAHAM; FREUDENSTEIN; LUKER, 2006).

No Brasil, o maior número de espécies é encontrado nos estados de Minas Gerais, Goiás e Bahia. O gênero é bem representado em termos de variação morfológica e número de espécies na Região da Serra do Cipó, onde ocorrem 11 espécies de seis das 14 seções do gênero *Cuphea* (CAVALCANTI, 1991).

Figura 1 – Distribuição das espécies do gênero *Cuphea* P. Browne.



Fonte: Adaptado de Trópicos (2016)

O número de espécies endêmicas é alto, em comparação com os outros gêneros da família. Estão muitas vezes em habitats especializados, como savanas de areia branca, afloramentos rochosos de calcário, campos sazonalmente queimados ou pântanos (GRAHAM; FREUDENSTEIN; LUKER, 2006).

Acredita-se que o centro primário de especiação para *Cuphea* seja encontrado nas regiões montanhosas do leste do Brasil, com um grande centro secundário no México (CAVALCANTI, 1991).

Cuphea é distinto de outros membros da família Lythraceae, por características morfológicas únicas como:; flores interpeciolares, tubulares, zigomorfas, tubo floral formado por um cálice deltado, com 6 lobos que terminam em nervuras onde está inserida a corola; apresentam 11 estames; órgão nectarífero unilateral livre, na base do ovário; paredes septais reduzidas a dois fios finos; dispersão das sementes, por meio da ereção da placenta e sementes ligadas, por meio de fendas coordenadas, na cápsula e tubo floral, mecanismo de dispersão único desse gênero, ao contrário de outros membros de Lythraceae, que retém as sementes dentro de um fruto rodeado por um tubo floral persistente. As sementes contêm tricomas invertidos, espirais, mucilaginosos nas células exotestais. Esse recurso é compartilhado com outros gêneros de Lythraceae, mas desconhecido em outras angiospermas (BARBER; GHEBRETINSAE; GRAHAM, 2010; GRAHAM; FREUDENSTEIN; LUKER, 2006).

2.3 Citotaxonomia

A utilização de informações cariológicas na taxonomia é referida como citotaxonomia ou cariosistemática (GUERRA, 2008).

O número cromossômico é a característica cariotípica mais comumente utilizada em análises citotaxonômicas, e, aliado a outras características citológicas e diferenças morfológicas, auxiliam no entendimento de variações citogenéticas envolvidas na evolução de um grupo e na delimitação taxonômica de espécies. Outras informações cariológicas que podem ser adicionados a esta descrição inicial do cariótipo, e que auxiliam nos estudos citotaxonômicos, são o tamanho e morfologia cromossômica, padrões de bandas, posição cromossômica de DNAs satélites, variação no número de cromossomos, quantidade heterocromatina,

dentre outros (BIONDO; MIOTTO; SCHIFINO-WITTMANN, 2005; GUERRA, 2008).

A contagem cromossômica é uma tarefa relativamente fácil que produz dados de confiança e altamente reprodutíveis. E mesmo sendo considerado um parâmetro mais simples, o número de cromossomos oferece algumas atrações especiais. É uma maneira rápida, barata e fácil de obter qualquer informação substancial sobre o genoma de uma espécie. Uma desvantagem da contagem de números cromossômicos para citotaxonomia é a necessidade de material vivo, com os tecidos em crescimento ativo. Além disso, muitas vezes, os gêneros exibem baixa variabilidade, no número de cromossomos (GUERRA, 2008).

O conceito de número cromossômico básico foi definido como um dos números haploides observados no táxon que explica a variabilidade cromossômica desse grupo e mostra relação com o número cromossômico básico dos grupos próximos relacionados. A identificação de um número cromossômico básico é feita depois de analisar todos os números de cromossomos relatados para o grupo. Também pode ter um número cromossômico básico diferente da sua tribo ou de um de seus subgrupos. O número cromossômico básico é importante nas hipóteses das relações filogenéticas e dos mecanismos evolutivos entre os gêneros e com outras famílias (GRAHAM; CAVALCANTI, 2001; GUERRA, 2008).

O conhecimento do número de cromossomos é escasso para diversos grupos e limitado a um pequeno número de espécie, geralmente obtido a partir de uma pequena amostragem de indivíduos por espécie e muitas ainda não tiveram seus números cromossômicos determinados (BIONDO; MIOTTO; SCHIFINO-WITTMANN, 2005; JUDD; SINGER; SINGER, 2009).

O número cromossômico pode auxiliar nos estudos citotaxonômicos de diversas famílias e grupos vegetais, sendo uma ferramenta muito útil em sistemática e evolução de plantas, complementando estudos por métodos morfológicos e moleculares. A contagem cromossômica em espécies

desconhecidas cariotipicamente é tão importante quanto a recontagem de populações diferentes, em razão da possível ocorrência de variações interpopulacionais e de registros incorretos na literatura. Na literatura antiga, é comum encontrar dados menos confiáveis, antes da introdução de antimetabólitos e de métodos de esmagamento. Também podem ser encontrados em artigos recentes, em decorrência de problemas com a correta identificação botânica, a ocorrência de satélites e ou cromossomos B, dentre outros (GUERRA, 2008; PEDROSA et al., 1999).

A publicação de listas de números cromossômicos fornece informações de determinada flora que auxilia em análises citotaxonômicas de diversos táxons, além de fornecer uma visão da variabilidade citogenética da flora da área de estudo, auxiliando na elucidação de problemas taxonômicos e de evolução destes (CARVALHEIRA et al., 1991).

Nas angiospermas, o número de cromossomos varia de $2n = 4$ (*Haplopappus gracilis* (Nutt.) A. Gray, (Asteraceae) a $2n = 250$ (*Kalanchoe* Adans., Crassulaceae), sendo mais comum a maioria das espécies possuírem entre $n = 7$ e 20 (GUERRA, 2008; JUDD; SINGER; SINGER, 2009).

Trabalhos citológicos demonstraram que o número básico de cromossomos da família Lythraceae é $x = 8$. Esse número é observado em *Cuphea*, *Decodon* J. F. Gmel., *Heimia* Link, *Rotala* L. e *Woodfordia* Salisb., e ocorre com maior frequência em *Adenaria* Kunth, *Capuronia* Lourteig, *Crenea* Aubl., *Didiplis* Raf., *Galpinia* N. E. Br.; *Lafoensia* Vand., *Pehria* Sprague e *Physocalymma* Pohl (TOBE; RAVEN; GRAHAM, 1986).

Quatro gêneros possuem $x = 5$ (*Diplusodon*, *Lythrum*, *Nesaeaeae Peplis*), e acredita-se que estes são derivados de um ancestral $x = 8$. Cinco gêneros (*Decodon* J. F. Gmel. $n = 16$, *Duabanga* Buch.-Ham. $n = 24$, *Lagerstroemia* L. $n = 24, 25$, *Pemphis* J. R. Forst. & G. Forst. $n = 16$, e *Punica* L. $n = 14, 16$) são

aparentemente poliplóides antigos (GRAHAN; CRISCI; HOCH, 1993; HUANG; SHI, 2002).

O gênero *Cuphea* é bem diversificado quanto ao número cromossômico. Os primeiros números de cromossomos relatados para o gênero foram de plantas cultivadas, em 1936. Na América do Sul, principalmente no Brasil, os números mais comuns são $n = 7$ e $n = 8$, e $x = 8$ é considerado como o número básico para o gênero. Vinte e dois números cromossômicos diferentes são conhecidos para o gênero, que vão desde $n = 6$ até $n = 54$. No México, dois números são mais comuns, $n = 10$ e $n = 12$. O número cromossômico $n = 12$ é encontrado em uma única espécie aneuploide, *C. ericoides*. Espécies com $n = 14$ ou superior são considerados de origem poliploide (GRAHAM, 1989; GRAHAM; CAVALCANTI, 2001).

Acredita-se que, no Brasil, a irradiação de *Cuphea* foi de espécies com $n = 8$ e deles derivados espécies com $n = 7$, e que a duplicação do complemento cromossômico também foi comum. Até que ponto a autopoliploidia, em oposição à aloploidia foi responsável por um grande número de espécies tetraplóides é desconhecido (GRAHAM; CAVALCANTI, 2001).

Estudos verificando a análise cladística do espaçador nuclear ribossômico interno transcrito (ITS) e a análise filogenética de espécies de *Cuphea* sugerem que o número básico ancestral pode ter sido maior, talvez $x = 11$ ou 12 , pois $x = 11$ ocorre nas três espécies que ocupam as posições mais basais nas análises cladísticas moleculares (GRAHAM; CAVALCANTI, 2001).

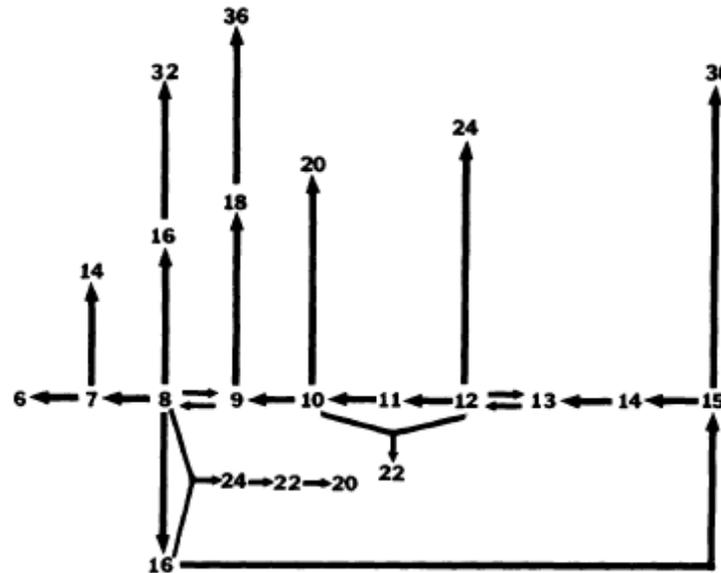
Grahan (1989) elaborou um esquema representando um caminho hipotético simplificado da evolução cromossômica do gênero, com base nas relações percebidas nas espécies (Figura 2). Reconhece-se que os aumentos podem não ter sido eventos de hibridização diretas, por meio de eventos de hibridação entre taxa do mesmo ou diferentes níveis de ploidia. Os números

cromossômicos diferentes presentes em *Cuphea* indicam que sua citoevolução é extremamente complexa (GRAHAN, 1989).

Numerosas alterações cromossômicas podem ter ocorrido na evolução de *Cuphea*, a partir de um número de base de 8 cromossomos. Poliploidia intraespecífica e interespecífica, descendente poliploidia, e, possivelmente ascendente aneuploidia, parecem ser fenômenos recorrentes no gênero que promovem o isolamento reprodutivo, levando à especiação (GRAHAN, 1989).

Especiação ativa envolveu repetidas mudanças no número de cromossomos, tanto por meio de poliploidia e disploidia (GRAHAM; CAVALCANTI, 2001).

Figura 2 – Possíveis vias de derivação dos números cromossômicos dispolóides e poliplóides em *Cuphea*, excluindo poliplóides com números de 40 ou superior. Linhas indicam a direção mais provável da mudança com base em relações de espécies implícitas a partir de semelhanças fenéticas.



Fonte: Grahan (1989).

A importância de hibridação na formação de espécies de *Cuphea* não é conhecida. Grahan (1989) relata que híbridos raramente são vistos no campo, mesmo com a coocorrência de até 5 espécies em uma única localidade (GRAHAN, 1989).

A citoevolução de *Cuphea* é complexa. Eventos aparentemente significativos estão envolvidos na especiação do gênero. A especiação em *Cuphea* é frequentemente acompanhada pelo resultado de poliploidia intraespecífica e interespecífica, decrescente aneuploidia, e possivelmente também por uma crescente aneuploidia (GRAHAM, 1989).

O conhecimento dos números de cromossomos em *Cuphea* é uma ajuda para interpretar filogenias morfológicas e moleculares e influenciará o futuro taxonomia do gênero (GRAHAM; CAVALCANTI, 2001).

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Ampliar o conhecimento dos números cromossômico de *Cuphea* (Lythraceae), no Brasil, assim como utilizá-los como ferramenta taxonômica.

3.2 Específicos

- a) Determinar o número cromossômico das três espécies de *Cuphea* (Lythraceae); *C. carthagenensis* (Jacq.) J. Macbr.; *C. sperguloides* A. St. Hill. e *C. Thymoides* Cham. & S chltd. coletadas em Carrancas e Lavras, Minas Gerais;
- b) Caracterizar, mesmo que parcialmente, a diversidade cariotípica dessas três espécies de *Cuphea*, por técnicas de coloração convencional;
- c) Verificar se há variabilidade de número cromossômico entre essas espécies de *Cuphea*;
- d) Comparar o complemento cromossômico dessas espécies de *Cuphea* para fins taxonômicos;
- e) Auxiliar a taxonomia do gênero com comparações dos resultados aos resultados taxonômicos, a fim de elucidar a delimitação dessas espécies.

4 MATERIAL E MÉTODOS

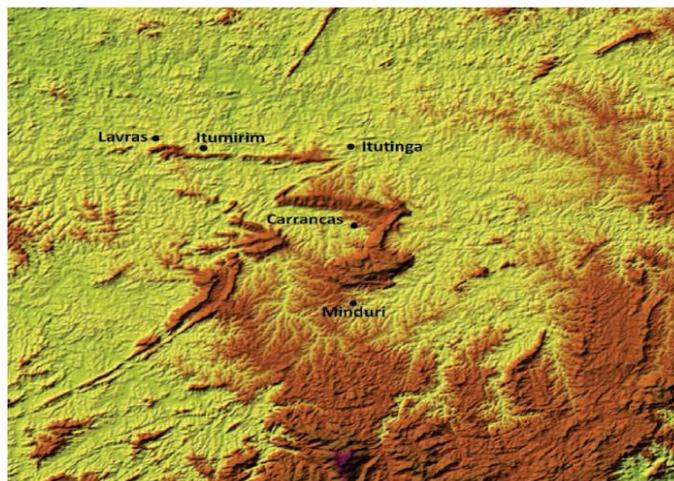
4.1 Área de estudo

As espécies estudadas foram coletadas nas Serras da Bocaina e de Carrancas. As serras estão localizadas no Planalto do Alto Rio Grande, na Mesorregião do Campo das Vertentes, no sul de Minas Gerais. Elas atravessam os municípios de Lavras, Carrancas, Itumirim, Ingaí, Itutinga e Minduri. As dobras se tipificam na forma da letra “Z” interligando as serras do Pombeiro, das Bicas, da Chapada das Perdizes, do Carrapato, do Farias, do Campestre e da Estância, formando, assim, o Complexo de Serras da Bocaina e de Carrancas (Figura 3) (REIS et al., 2015).

As altitudes variam de 800 a 1200 metros, com elevações de até cerca de 1600 m no alto das serras. Os locais mais baixos variam de 500-800 metros. A pluviosidade média anual é de 1400 mm, concentrando-se nos meses de novembro a fevereiro (REIS et al., 2015).

O clima da região é temperado mesotérmico, caracterizado por verões amenos e úmidos, e invernos secos. A temperatura média anual é de 20°C, sendo que as médias mensais variam de 25°C em janeiro e 10°C em julho (REIS et al., 2015).

Figura 3 – Localização geográfica das Serras da Bocaina e de Carrancas. Imagens geradas do satélite Nasa-SRTM com resolução de 90 m.



Fonte: Reis (2013).

O geoambiente é individualizado nas cristas quartzíticas, onde se forma uma paisagem litólica, revestida por Campos Rupestres. A flora altamente adaptada às fendas presentes nos afloramentos rochosos e à escassez hídrica que se confina nesses compartimentos geomorfológicos (REIS et al., 2015).

4.2 Material botânico

Foram coletados frutos de três espécies de *Cuphea* (Lythraceae): *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) J. Macbr.; *Cuphea sperguloides* A. St. Hill. e *Cuphea thymoides* Cham. & Schltdl.. Foram coletados e herborizados ramos florais e vegetativos, seguindo técnicas usuais. Materiais-testemunho das espécies foram depositados no Herbário ESAL, do Departamento de Biologia, da Universidade Federal de Lavras.

4.3 Preparo das lâminas

Para o estudo mitótico, as sementes foram retiradas dos frutos e colocadas para germinar em placas de petri, sobre papel de filtro embebido em água

destilada, e mantidas em BOD (Demanda Bioquímica de Oxigênio) à 24 °C, com fotoperíodo de 12 horas. As raízes recém-germinadas foram coletadas e tratadas com bloqueador de divisão celular 8-hidroxiquinoleína 3mM, por 3 h, a temperatura ambiente. Após esse período, as raízes foram lavadas em água destilada gelada, por 30 minutos em água gelada, em seguida foram fixadas em solução fixadora Carnoy 3:1 (etanol:ácido acético) por, no mínimo, 24 horas e mantidas sob refrigeração até o uso.

Para o preparo das lâminas, raízes fixadas foram lavadas em água destilada por 10 minutos, 3 vezes. As raízes foram hidrolisadas com HCl 1N durante 20 min a 60° (Banho-Maria) e expostas ao Reativo de Schiff, no escuro, por 2 h. As lâminas foram confeccionadas com 1 ponta de raiz e uma gota de ácido acético 45%, onde o meristema foi separado. O ácido acético foi removido e foi colocada uma gota de corante carmim acético 2% e o meristema foi picotado. A lâmina foi coberta com uma lamínula e pressionada para separar bem o material. Em seguida, foram congeladas em nitrogênio líquido por 1 minuto, e a lamínula foi retirada. Após secarem, foram preparadas lâminas permanentes, adicionando Entellan® sobre a preparação microscópica, cobrindo com uma nova lamínula.

As lâminas foram avaliadas em Microscópio de campo claro (Carl Zeiss, AxioLab A1), na objetiva de 100X, e imagens das c-metáfases foram capturadas com a microcâmara (Axio Cam ERc 5s) acoplada ao microscópio, por meio do programa AxioVision. Foram analisadas, em média, 20 células de cada espécie. Cariogramas representativos de cada uma das espécies foram construídos, usando o programa Adobe Photoshop CS6 (Adobe Systems Incorporated).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No presente estudo, foram observados três números cromossômicos distintos: $2n = 18$, $2n = 24$ e $2n = 36$ (Tabela 1).

Tabela 1 – Números cromossômicos n (haploides) e $2n$ (diploides) de espécies de *Cuphea* do Brasil.

(Continua)

Espécie	n	$2n$	Referência
Sessão <i>Archocuphea</i>			
<i>C. mimuloides</i> Schltld. & Cham.	11		Grahan, 1989.
<i>C. pascuorum</i> Koehne	11		Grahan; Cavalcanti, 2001.
Sessão <i>Amazoniana</i>			
<i>C. odonellii</i> Lourteig	8	20+ 2B	Grahan; Cavalcanti, 2001.
Sessão <i>Brachyandra</i>			
<i>C. calophylla</i> Cham. & Schltld.	8		Grahan, 1989;
		16	Molero et al., 2002.
<i>C. carthagenensis</i> (Jacq.) J. F. Macbr.	8		Grahan, 1982;
	8		Grahan, 1987;
	8		Grahan, 1989;
	8		Grahan, 1992;
		16	Molero et al, 2002.
		24	Presente trabalho.
<i>C. circaeoides</i> Sm. Ex Sims	11		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. micranta</i> Kunth	8		Grahan; Cavalcanti, 2001.
Sessão <i>Cuphea</i>			
<i>C. racemosa</i> (L. f.) Spreng.	24		Grahan, 1982,
	20, 22		Grahan, 1989,
	20		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. ramosíssima</i> Pohl	10		Grahan; Cavalcanti, 2001.

Tabela 1 – Números cromossômicos n (haploides) e 2n (diploides) de espécies de *Cuphea* do Brasil.

(Continuação)

Espécie	n	2n	Referência
<i>C. varia</i> Koehne ex Bacig.	16		Grahan, 1989.
Sessão <i>Euandra</i>			
<i>C. acicularis</i> Koehne	18		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. acinifolia</i> A. St.-Hil.	7		Grahan, 1989.
<i>C. acinos</i> A. St.-Hil.	7		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. brachypoda</i> T. B. Cavalc.		18	Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. campestris</i> Mart. Ex Koehne	8		Grahan, 1989.
<i>C. campylocentra</i> Griseb.		16	Molero et al, 2002.
<i>C. confertiflora</i> A. St.-Hil.	18		Grahan, 1987;
	9, 18		Grahan, 1989.
<i>C. diosmifolia</i> A. St.-Hil.	7		Grahan, 1987;
			Grahan, 1989.
<i>C. disperma</i> A. St.-Hil.	7		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. ferrugínea</i> Pohl ex Koehne	9		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. glareosa</i> T. B. Cavalc.	18		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. glutinosa</i> Cham. & Schltld.		32	Grahan; Cavalcanti, 2001.
		+1	
		-3B	
<i>C. hyssopoides</i> A. St. Hill.	9		Grahan; Cavalcanti, 2009.
<i>C. ingrata</i> Cham. & Schltld.	14		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. linifolia</i> (A. St.-Hil.) Koehne	16		Grahan, 1987;
			Grahan, 1989.
<i>C. polymorpha</i> A. St.-Hil.	8		Grahan, 1987;
		16	Molero et al, 2002.
<i>C. pseudovaccinium</i> A. St.-Hil.	7		Grahan, 1987;
	7		Grahan; Cavalcanti, 2001.

Tabela 1 – Números cromossômicos n (haploides) e 2n (diploides) de espécies de *Cuphea* do Brasil.

(Continuação)

Espécie	n	2n	Referência
<i>C. pterosperma</i> Koehne		32	Molero et al, 2002.
<i>C. sclerophylla</i> Koehne	36		Grahan, 1989.
<i>C. sincorana</i> T. B. Cavalc.	14		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. sperguloides</i> A. St.-Hil.		18	Presente trabalho.
<i>C. spermacoce</i> A. St.-Hil.	9		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. strigulosa</i> Kunth	8		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. thymoides</i> Cham. & Schldl.	18		Grahan, 1989.
		36	Presente trabalho.
Sessão Melvilla			
<i>C. cuiabensis</i> Koehne	16		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. cylindracea</i> S. A. Graham	24		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. eglér</i> iLourteig	7		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. gardneri</i> Koehne	14		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. grandiflora</i> Pohl ex Koehne	16		Grahan, 1982.
<i>C. melvilla</i> Lindl.	16		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. pulchra</i> Moric.	8	16	Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. teleandra</i> Lourteig	7		Grahan; Cavalcanti, 2001.
Sessão Pseudocircaea			
<i>C. costata</i> Koehne	14		Grahan, 1987.
<i>C. fuchsiifolia</i> A. St.-Hil.	7		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. impatientifolia</i> A. St.-Hil.	7		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. lutescens</i> Pohl ex Koehne	7		Grahan, 1987;
	7		Grahan, 1989;
	7		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. sessiliflora</i> A. St.-Hil.	7		Grahan; Cavalcanti, 2001.

Tabela 1 – Números cromossômicos n (haploides) e 2n (diploides) de espécies de *Cuphea* do Brasil.

(Conclusão)

Espécie	n	2n	Referência
Sessão <i>Trispermum</i>			
<i>C. antisiphilitica</i> Kunth	14, 16		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. brachiata</i> Koehne	16		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. ericoides</i> Cham. & Schtdl.	12		Grahan, 1987;
	14, c.24		Grahan, 1989.
<i>C. radula</i> Koehne	24		Grahan; Cavalcanti, 2001.
<i>C. reflexifolia</i> Koehne	8		Grahan, 1987.
<i>C. sessilifolia</i> Mart.	8		Grahan, 1989;
	8, 14-16, 24		Grahan; Cavalcanti, 2001.

Fonte: Adaptado de Trópicos (2016)

Para a espécie *Cuphea carthagenensis*, foi observado $2n = 24$ (Figura 4 A e B). Na comparação dos dados aqui obtidos com os da literatura, eles diferem do presente estudo. Grahan (1989), relata $n = 8$ em seu estudo com meiose. Esse mesmo valor é relatado em outro trabalho de Grahan (1982). Molero et al. (2002), citam em seu trabalho $2n = 16$.

Uma possível explicação para esse resultado, pode ser de que essa diferença se dá, em razão de uma variação numérica dos cromossomos, cromossomos acessórios, raça cromossômica ou mesmo citótipos.

Grande parte da divergência de valores cromossômicos encontrados em um mesmo taxón, é decorrente, segundo muitas evidencias, da existência de raças cromossômicas ou citótipos serem comuns nos vegetais e, com isso, ocorrendo

números cromossômicos diferentes para a mesma espécie. Contagens cromossômicas para outras populações podem ajudar na determinação da real distribuição geográfica do citótipo e sua relação com a morfologia das espécies. A análise taxonômica nas grandes famílias e gêneros são, na maioria das vezes, realizadas por trabalhos independentes, sendo necessária uma análise crítica dos dados obtidos (MANSANARES et al., 2000).

Outra hipótese para essa divergência encontrada nos números cromossômicos seria a identificação incorreta das espécies.

Um dos principais problemas para a citotaxonomia são as contagens cromossômicas errôneas encontradas na literatura. Quando as espécies não são corretamente identificadas podem ocorrer sérios problemas para a interpretação dos dados nos estudos citotaxonomicos (MANSANARES et al., 2000).

Com base nesse valor encontrado em comparação com os previamente citados na literatura, há também a possibilidade de ser um citótipo alotriploide, onde não houve disjunção correta dos gametas.

Muitos citótipos autoploides podem ser relativamente restritos geograficamente ou ecologicamente, e a falta de reconhecimento taxonômico confunde pesquisas sobre a evolução da diversidade vegetal (BARKER et al., 2016).

Cuphea carthagenensis pertence à seção *Brachyandra*. A seção distribui-se, principalmente, no Brasil e no Caribe e contém a maioria das espécies autofertilizantes no gênero. Cromossomicamente, a seção é considerada a mais uniforme do gênero, com todas as espécies que tiveram seus cromossomos contados, sendo diploides com $n = 8$ ou tetraploides com $n = 16$. A exceção na seção é *Cuphea circaeoides* ($n = 11$) (Tabela 1). De acordo com Graham (1989), essa espécie está taxonomicamente mal colocada e deve ser transferida para a seção *Archocuphea*, suportada pela morfologia, hábito e número de cromossomos (GRAHAM, 1989; GRAHAM; CAVALCANTI, 2001).

Os tetraplóides, desta seção, possivelmente evoluíram de eventos autoplóides independentes, a partir de *Cuphea carthagenensis* (GRAHAN; CAVALCANTI, 2001).

Grahan (2003) sugere que a autoploidia de *Cuphea carthagenensis* ($n = 8$), pode ter sido o mecanismo que conduziu à origem de *C. parsonsia* ($n = 16$), ou também pode ter sido de um parente diploide semelhante, porém extinto. A autora também comenta que a mudança do cruzamento para um sistema de reprodução autógama, presente nessa espécie, pode possibilitar um aumento na taxa de especiação.

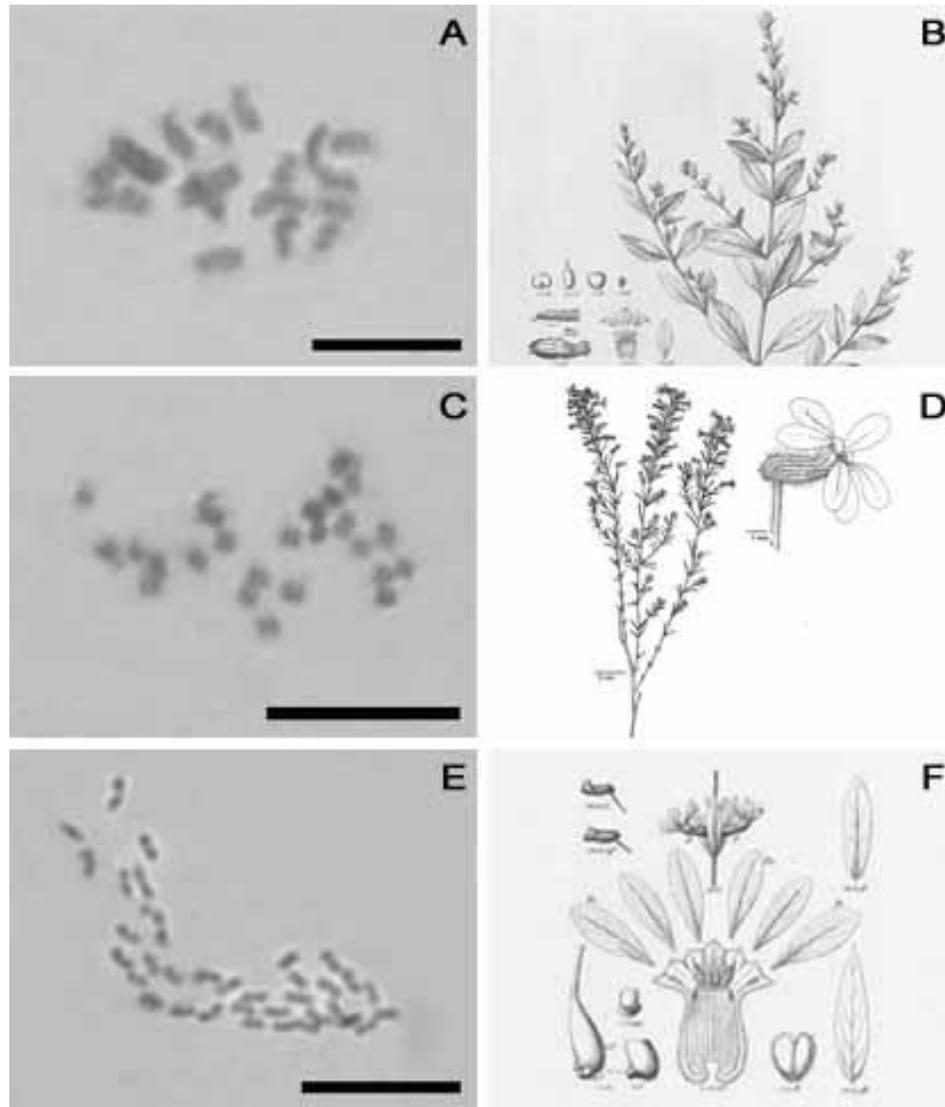
Para *Cuphea sperguloides* foi observado $2n = 18$ (Figura 4 – C e D). Grahan e Cavalcanti (2007), relatam $n = 9$ em seu trabalho, corroborando os nossos resultados.

Foi observado $2n = 36$ na espécie *Cuphea thymoides* (Figura 4 – E e F). Esse resultado é corroborado por Graham (1989), que, em seu trabalho, fez contagens cromossômicas na meiose, onde obtiveram o valor de $n=18$ para essa espécie.

Cuphea sperguloides e *Cuphea thymoides* pertencem a seção *Euandra*. Essa é uma das seções consideradas mais diversificada cromossomicamente em *Cuphea*. Espécies poliplóides e aneuplóides são encontradas em todas suas subseções (GRAHAN, 1989).

Em espécies com base $x = 9$, como em *C. thymoides* com $n = 18$, *C. sperguloides* com $n = 9$, *C. hyssopoides* A. St. Hill com $n = 9$, *C. sclerophylla* Koehne, com $n = 36$; *C. confertiflora* Koehne, $n = 9, 18$, um aumento aneuplóide a partir de $n = 8$ para $n = 9$ deve ter ocorrido de forma independente, pelo menos, três vezes na seção. A ascendente aneuploidia de $n = 8$ é inferida com base na ausência de espécies no Brasil conhecidos com $n = 10$, a partir do qual $n = 9$ pode ter ocorrido por perda cromossômica (GRAHAN, 1989).

Figura 4 – Cromossomos em metáfase mitótica e ilustrações botânicas das espécies de *Cuphea* estudadas.



Legenda: A e B: *C. carthagenensis*. C e D: *C. sperguloides*. E e F: *C. thymoides*. Imagem capturada em microscópio de campo claro com a objetiva de 100X. Barras: 10 µm.

Fonte: A, C e E: Do autor (2016). B, D e F: Adaptado de Plantillustrations (2016)

Sendo assim, *Cuphea thymoides* pode ser interpretado como um poliploide onde houve acréscimo de um cromossomo, ficando assim com $n = 9$ e

depois uma duplicação para $n = 18$, tornando-se assim um tetraplóide. Já, para *Cuphea sperguloides*, podemos sugerir que houve somente o acréscimo de um cromossomo, ficando com $n = 9$.

6 CONCLUSÃO

As espécies estudadas apresentaram números cromossômicos diferentes, auxiliando na diferenciação das espécies.

Os números cromossômicos são caracteres citotaxonômicos importantes no grupo.

REFERÊNCIAS

- BARBER, J. C.; GHEBRETINSAE, A.; GRAHAM, S. A. An expanded phylogeny of *Cuphea* (Lythraceae) and a North American monophyly. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 289, n. 1, p. 35-44, Oct. 2010.
- BARKER, M. S. et al. On the relative abundance of autopolyploids and allopolyploids. **New Phytologist**, Cambridge, v. 210, n. 2, p. 391-398, Apr. 2016.
- BIONDO, E.; MIOTTO, S. T. S.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. Números cromossômicos e implicações sistemáticas em espécies da subfamília Caesalpinioideae (Leguminosae) ocorrentes na região sul do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 28, n. 4, p. 797-808, out./dez. 2005.
- CARVALHEIRA, G. M. G. et al. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco-IV. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 5, n. 2, p. 37-51, 1991.
- CAVALCANTI, T. B. Diversidade e distribuição em *Diplusodon* Pohl (Lythraceae). **Fontqueria**, Madrid, v. 55, n. 49, p. 397-404, 2007.
- CAVALCANTI, T. B. New species of *Cuphea* (Lythraceae) from Brazil. **Kew Bulletin**, London, v. 46, n. 2, p. 253-268, 1991.
- CAVALCANTI, T. B. New species of *Diplusodon* (Lythraceae) from Brazil. **Novon**, Saint Louis, v. 8, n. 4, p. 337-351, 1998.
- CAVALCANTI, T. B. Novas espécies de *Diplusodon* Pohl (Lythraceae) do Planalto Central e Estado de Minas Gerais, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 21, n. 4, p. 807-812, 2007.
- CAVALCANTI, T. B. Novos táxons, novos status, novo sinônimo e lectotipificações em *Diplusodon* Pohl (Lythraceae). **Boletim de Botânica**, São Paulo, v. 22, n. 1, p. 1-13, 2004.
- COLEMAN, J. R. Chromosome numbers of Angiosperms collected in the state of São Paulo. **Revista Brasileira de Genética**, Ribeirão Preto, v. 5, n. 3, p. 533-549, 1982.
- GRAHAM, S. A. Biogeographic patterns of Antillean Lythraceae. **Systematic Botany**, Kent, v. 28, n. 2, p. 410-420, Apr./June 2003.

GRAHAM, S. A. Chromosome number reports 94. **Taxon**, Utrecht, v. 36, p. 282–283, 1987.

GRAHAM, S. A. Chromosome numbers in *Cuphea* (Lythraceae): new counts and a summary. **American Journal of Botany**, Lancaster, v. 76, n. 10, p. 1530–1540, Oct. 1989.

GRAHAM, S. A. Fossil records in the Lythraceae. **The Botanical Review**, Amsterdam, v. 79, n. 1, p. 48–145, Mar. 2013.

GRAHAM, S. A. IOPB chromosome number reports LXXIV. **Taxon**, Utrecht, v. 31, n. 1, p. 119, Feb. 1982.

GRAHAM, S. A. Revision of *Cuphea* sect. *Leptocalyx* (Lythraceae). **Systematic Botany**, Kent, v. 14, n. 1, p. 43–76, Jan./Mar. 1989.

GRAHAM, S. A.; CAVALCANTI, T. B. IAPT/IOPB chromosome data 3. **Taxon**, Utrecht, v. 56, n. 1, p. 209, Feb. 2007.

GRAHAM, S. A.; CAVALCANTI, T. B. Lythraceae. In: WANDERLEY, M. das G. L. et al. (Ed.). **Flora fanerogâmica do Estado de São Paulo**. São Paulo: FAPESP, 2002. p. 163–391.

GRAHAM, S. A.; CAVALCANTI, T. B. New chromosome counts in the Lythraceae and a review of chromosome numbers in the family. **Systematic Botany**, Kent, v. 26, n. 3, p. 445–458, July/Sept. 2001.

GRAHAM, S. A.; CRISCI, J. V.; HOCH, P. C. Cladistic analysis of the Lythraceae sensu lato based on morphological characters. **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 113, n. 1, p. 1–33, Sept. 1993.

GRAHAM, S. A.; FREUDENSTEIN, J. V.; LUKER, M. A phylogenetic study of *Cuphea* (Lythraceae) based on morphology and nuclear rDNA ITS sequences. **Systematic Botany**, Kent, v. 31, n. 4, p. 764–778, Oct./Dec. 2006.

GRAHAM, S. A. et al. Phylogenetic analysis of the lythraceae based on four gene regions and morphology. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 166, n. 6, p. 995–1017, 2005.

GRÍMSSON, F.; ZETTER, R.; HOFMANN, C. C. *Lythrum* and *peplis* from the late cretaceous and cenozoic of North America and Eurasia: new evidence

suggesting early diversification within the Lythraceae. **American Journal of Botany**, Baltimore, v. 98, n. 11, p. 1801-1815, Nov. 2011.

GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, Basel, v. 120, n. 3-4, p. 339-350, 2008.

HUANG, Y.; SHI, S. Phylogenetics of Lythraceaesensulato: a preliminary analysis based on chloroplast rbcL gene, psaA-ycf3 spacer, and nuclear rDNA internal transcribed spacer (ITS) sequences. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 163, n. 2, p. 215-225, Mar. 2002.

JUDD, W.; SINGER, R.; SINGER, R. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 632 p.

MANSANARES, M. E. et al. **Estudo citotaxonomico de especies do genero Lychnophora Mart. (Asteraceae: Vernoniae) em Minas Gerais**. 2000. 80 p. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

MANSANARES, M. E.; FORNI-MARTINS, E. R.; SEMIR, J. Cytotaxonomy of Lychnophoriopsis Sch. Bip. And Paralychnophora MacLeish species (Asteraceae: Vernoniae: Lychnophorinae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, London, v. 154, n. 1, p. 109-114, 2007.

MOLERO, J. et al. IOPBchromosome data 18. Newslett. Int. Organ. Pl. Biosyst. (Pruhonice). **Tropicos**, Oxford, v. 34, p. 22-24. 2002.

PEDROSA, A. et al. Citogenética de angiospermas coletadas em Pernambuco – V. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 13, n. 1, p. 49-60, jan./abr. 1999.

PLANTILLUSTRATIONS. Disponível em: <<http://plantillustrations.org/>>. Acesso em: 15 set. 2016.

REIS, G. H. **Avaliação de diversidade de Asteraceae dos campos e cerrados rupestres das serras da Bocaina e de Carrancas, Minas Gerais, Brasil**. 2013. 96 p. Dissertação (Mestrado em Ecologia Aplicada) - Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2013.

REIS, G. H. et al. Asteraceae dos Campos Rupestres das Serras da Bocaina e de Carrancas, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 66, n. 3, p. 829-845, jul./set. 2015.

TOBE, H.; RAVEN, P. H.; GRAHAM, S. A. Chromosome counts for some Lythraceaesens. str. (Myrtales), and the base number of the family. **Taxon**, Utrecht, v. 35, n. 1, p. 13-20, Feb. 1986.

TROPICOS. Disponível em: < <http://www.tropicos.org>>. Acesso em: 15 set. 2016.