



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Centro de Ciências Biológicas
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal



FILOGENIA E EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA DO GÊNERO *Philodendron*
(ARACEAE), COM ÊNFASE PARA ESPÉCIES DA AMAZÔNIA
BRASILEIRA

SANTELMO SELMO DE VASCONCELOS JÚNIOR

RECIFE
2015

SANTELMO SELMO DE VASCONCELOS JÚNIOR

FILOGENIA E EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA DO GÊNERO *Philodendron* (ARACEAE),
COM ÊNFASE PARA ESPÉCIES DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Departamento de Botânica do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Biologia Vegetal (área de concentração: Florística e Sistemática; linha de pesquisa: genética e citogenética vegetal).

Orientadora: Dr.^a Ana Maria Benko Iseppon
(Departamento de Genética – CCB/UFPE)

RECIFE
2015

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Vasconcelos Júnior, Santelmo Selmo de
Filogenia e evolução cariotípica do gênero *Philodendron* (Araceae),
com ênfase para espécies da Amazônia brasileira/ Santelmo Selmo de
Vasconcelos Júnior. – Recife: O Autor, 2015

117 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Ana Maria Benko Iseppon

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.

Centro de Ciências Biológicas. Biologia Vegetal, 2015

Inclui bibliografia e anexos

1. Genética vegetal 2. Filogenia 3. Araceae I. Iseppon, Ana
Maria Benko (orientadora) II. Título

581.35

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2015-123

SANTELMO SELMO DE VASCONCELOS JÚNIOR

“FILOGENIA E EVOLUÇÃO CAROTÍPICA DO
GÊNERO *Philodendron* (ARACEAE), COM ÊNFASE PARA
ESPÉCIES DA AMAZÔNIA BRASILEIRA”

APROVADO EM 13/02/2015

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Ana Maria Benko Iseppon (Orientadora) - UFPE

Dr. André Olmos Simões - UNICAMP

Dr. Reginaldo de Carvalho - UFRPE

Dra. Andrea Pedrosa Harand - UFPE

Dr. Rafael Batista Louzada - UFPE

Recife- PE

2015

AGRADECIMENTOS

À minha mãe, **Conceição Oliveira**, e aos meus irmãos, **Selma Vasconcelos** e **Santhiágo Vasconcelos**, por me incentivar e apoiar durante toda a minha formação acadêmica, sem os quais eu não teria conseguido chegar até aqui.

À Prof.^a Dr.^a **Ana Maria Benko Iseppon**, por propiciar que uma infinidade de coisas boas acontecessem comigo durante esses quatro anos de doutorado ao ter me apoiado na idealização e realização deste projeto, o qual tanto me empolgou e me permitiu conhecer um mundo de lugares e pessoas incríveis. Também não posso deixar de mencionar o quanto cresci pessoalmente e profissionalmente ao trabalhar com uma pessoa tão competente e dedicada.

À Prof.^a Dr.^a **Ana Christina Brasileiro Vidal**, a quem devo grande parte da minha formação profissional, tendo me ensinado a ser cuidadoso e paciente com meu trabalho. Agradeço também pela amizade e confiança depositada em mim ao longo de todos esses anos.

À Dr.^a **Maria de Lourdes Soares**, por toda a ajuda durante minha estadia em Manaus e por tudo que aprendi na Amazônia e sobre os *Philodendron*, sendo de extrema importância para a realização deste trabalho. Também gostaria de agradecer a todo o pessoal do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e do Parque Nacional do Viruá, em especial ao Dr. **Mike Hopkins**, **Marta Pereira**, **Gleison Viana** e **Beatriz Lisboa**.

À Dr.^a **Ilia J. Leitch**, por tudo que aprendi durante minha estadia em Londres e por ter me recebido em seu laboratório da melhor forma possível, sendo sempre uma pessoa amável e divertida. Também agradeço a todo o pessoal do Royal Botanic Gardens, Kew, principalmente à Dr.^a **Oriane Hidalgo** pela importantíssima ajuda e estar sempre disponível durante todo o meu trabalho, à **Edith Kapinos**, por todo o suporte no laboratório de biologia molecular, e ao Dr. **Simon J. Mayo** pelo grande incentivo e pelas prazerosas conversas que tanto me ensinaram sobre o mundo das aráceas.

A todo o pessoal do Missouri Botanical Garden, especialmente ao Dr. **Thomas B. Croat**, por ter me aceitado em sua fantástica coleção e por todo o suporte durante minha estadia em Saint Louis, à Dr.^a **Mónica M. Carlsen** pela valiosa ajuda durante a obtenção das amostras e à Dr.^a **Elizabeth Kellogg** por ter permitido que eu utilizasse seu laboratório.

À prof.^a Dr.^a **Cássia M. Sakuragui**, **Luana S. B. Calazans** e Dr. **Marcos A. Nadruz Coelho** por ceder várias das amostras aqui utilizadas, as quais foram essenciais para a realização deste trabalho e por todo o suporte na Universidade Federal do Rio de Janeiro e no Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

Ao prof. Dr. **José Marcello S. Campos** e à equipe do Prof. **Lyderson F. Viccini** na Universidade Federal de Juiz de Fora, por todo o suporte com a realização das análises de citometria de fluxo, as quais foram extremamente importantes para a realização deste trabalho.

Ao pro. Dr. **Luiz Gustavo R. Souza** pelo suporte durante a utilização do citômetro de fluxo do Laboratório de Citogenética e Biologia Molecular Vegetal do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco.

Ao prof. Dr. **Eduardo G. Gonçalves** e **Inês Ribeiro** pelo acesso à coleção viva de aráceas da Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte.

A todos os membros do Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, em especial aos coordenadores prof. Dr. **Mauro Guida** e **Andrea Pedrosa-Harand** e aos secretários **Hildebrando Silva** e **Adriano Andrade**.

A **Heidi Cruz**, por toda a prestatividade e suporte durante a realização do sequenciamento das amostras na Plataforma de Sequenciamento LABCEN/CCB da UFPE.

A **Vanessa Souza** e a todos os técnicos que passaram pelo Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, por todo o empenho, prontidão e dedicação, além de facilitarem imensamente nossa rotina de trabalho.

Aos amigos que fiz no LGBV ao longo desses quase 10 anos, em especial a **Analice Souza** (Nalice), **Ebenézer Bernardes** (Bené), **Kyria Bortoleti** (Kyka), **Hayana Arruda** (Millena), **Amaro Castro**, **Diego Pontes**, **Alberto Onofre**, **Mario Correia**, **Emanuelle Vasconcelos** (Manu), **Rodrigo Oliveira** (05), **Karla Santana**, **Pollyana Silva** (Polly), **Giovani Cavalcanti** (Jova), **Brunno Leite** (Bulaxa), **João Pacífico**, **Silvany Araújo**, **Lidiane Amorim** (Lindinalva), **Rômulo Santos**, **Neto Ferreira**, **Kênia Lucena**, **Mitalle Matos**, **Flávia Araújo**,

Stephani Soares, e **Luciene Silva**, pela alegria, contribuição e por tornarem a rotina laboratorial ainda mais agradável.

A **Viviane Almeida** (Vivi), por todo o carinho, amizade, alegria, paciência e sempre se fazer presente, mesmo com toda a distância.

Aos grandes amigos e irmãos **Artur Wanderley**, **Diego Sotero**, **Geyner Alves**, **Marx Lima** e **Rafael Louzada**, pelos incontáveis momentos de alegria e agonia que tenho tido a honra de compartilhar com vocês, com a certeza de que serão muitos mais.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior** (CAPES) pela concessão da bolsa durante todo o doutorado, incluindo o período de Doutorado Sanduíche no Exterior (PDSE) no Reino Unido, à **Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco** (FACEPE) pela concessão da bolsa de AMD, e ao **Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico** (CNPq) pelo financiamento do projeto.

Enfim, a todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Distribuição geográfica dos cinco gêneros membros do clado <i>Homalomena</i> sensu Cusimano et al. (2011), baseado em Mayo et al. (1997).	19
Figura 2. Representantes dos três subgêneros de <i>Philodendron</i> em seus respectivos habitats. <i>Philodendron</i> subg. <i>Meconostigma</i> : <i>P. corcovadense</i> Kunth (A), <i>P. goeldii</i> (B) e <i>P. solimoesense</i> (C); <i>P. subg. Philodendron</i> : <i>P. bipennifolium</i> Schott (D), <i>P. callosum</i> K.Krause (E), <i>P. distantilobum</i> K.Krause (F), <i>P. linnaei</i> Kunth (G) e <i>P. megalophyllum</i> Schott (H); e <i>P. subg. Pteromischum</i> : <i>P. rudgeanum</i> Schott (I).	20
 CAPÍTULO II	
Figura 1. Árvore filogenética baseada nas análises de máxima verossimilhança (MV) utilizando a combinação das regiões de cpDNA <i>rpl32-trnL</i> , <i>trnV-ndhC</i> e <i>trnQ-5'-rps16</i> para as relações entre espécies do gênero <i>Philodendron</i> e os grupos irmãos. O dendrograma foi dividido em quatro principais clados e três subclados: em cinza as espécies de <i>Philodendron</i> subgênero <i>Philodendron</i> , as quais foram subdivididas em três principais grupos – A, B e C, em azul o subgênero <i>Pteromischum</i> , em verde as espécies de <i>Meconostigma</i> e em roxo as espécies de <i>Homalomena</i> seção <i>Curmeria</i> .	62
 CAPÍTULO III	
Figura 1. Histogramas representativos das análises de citometria de fluxo apresentando as fluorescências relativas obtidas de núcleos interfásicos isolados de <i>Philodendron sonderianum</i> (A; 2C = 2,75 pg), <i>P. eximium</i> (B; 2C = 4,34 pg), <i>P. solimoesense</i> (C; 2C = 4,44 pg) e <i>P. xanadu</i> (D; 2C = 7,58 pg), utilizando ervilha (<i>Pisum sativum</i> ; 2C = 9,09 pg) como padrão de calibração. O eixo X representa a fluorescência por canal e o eixo Y representa o número de núcleos contados.	96
Figura 2. Reconstrução de estado ancestral dos conteúdos de DNA das espécies de <i>Philodendron</i> e grupos irmãos, utilizando uma árvore filogenética baseada no método da máxima verossimilhança, de acordo com Vasconcelos <i>et al.</i> (<i>in prep.</i>). O dendrograma foi dividido em três grupos principais: <i>P. subg. Philodendron</i> (clados A, B e C), <i>P. subg. Pteromischum</i> (clado D) e <i>P. subg. Meconostigma</i> (clado E), tendo uma variação no gênero entre 2,48-7,52 pg.	99
Figura 3. Reconstrução de estado ancestral dos números cromossômicos de <i>Philodendron</i> , com <i>Cercestis mirabilis</i> (2n = 42) como grupo externo, utilizando uma árvore filogenética baseada no método da máxima verossimilhança, de acordo com Vasconcelos <i>et al.</i> (<i>in prep.</i>). O dendrograma foi dividido em três grupos principais: <i>P. subg. Philodendron</i> (clados A, B e C), <i>P. subg. Pteromischum</i> (clado D) e <i>P. subg. Meconostigma</i> (clado E). Os gráficos circulares posicionados nos nós representam as probabilidades de ancestralidade dos números cromossômicos em questão.	100

LISTA DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO II	
Tabela 1. Lista de acessos utilizados nas análises filogenéticas entre espécies de <i>Philodendron</i> e grupos relacionados baseadas em regiões de DNA plastidial (<i>rpl32-trnL</i> , <i>trnQ-5'-rps16</i> e <i>trnV-ndhC</i>) e DNA nuclear (ITS1-DNAr 5,8S-ITS2).	51
Tabela 2. Informações sobre o alinhamento das sequências das quatro regiões analisadas.	57
CAPÍTULO III	
Tabela 1. Conteúdo de DNA de espécies de <i>Philodendron</i> , <i>Homalomena</i> , <i>Cercestis</i> , <i>Culcasia</i> e <i>Schismatoglottis</i> analisadas por meio de citometria de fluxo, com os respectivos números cromossômicos, quando disponíveis.	88

RESUMO

O gênero *Philodendron*, um dos principais componentes da flora Neotropical, é o segundo maior da família Araceae, contando com aproximadamente 500 espécies e uma enorme diversidade ecológica. Assim como vários outros grupos vegetais da América tropical, ainda há uma grande defasagem de estudos para o gênero, principalmente no que concerne à sistemática filogenética e à evolução cariotípica das espécies de *Philodendron*. Desta forma, foram realizadas análises de filogenia molecular baseadas em marcadores plastidiais (*rpl32-trnL*, *trnQ-5'-rps16* e *trnV-ndhC*) e nucleares (ITS), bem como contagens cromossômicas e estimativas do conteúdo de DNA, levando em consideração espécies das principais subdivisões do gênero e dos grupos irmãos. Ao todo, foram realizadas contagens cromossômicas para 48 espécies, sendo 38 novas, assim como uma revisão de todos os números diploides disponíveis, totalizando 69 espécies, onde a maioria (32 spp.) apresentou $2n = 32$, seguido de $2n = 34$ (20 spp.). Nas análises filogenéticas foi confirmada a hipótese de parentesco dos subgêneros de *Philodendron*, onde *P. subg. Philodendron* e *P. subg. Pteromischum* apareceram como grupos irmãos e *P. subg. Meconostigma* como a primeira linhagem a divergir, com os três formando um grupo monofilético. Adicionalmente, foram realizadas estimativas de conteúdo de DNA para 163 acessos, incluindo 108 espécies de *Philodendron*, bem como 17 espécies de grupos relacionados, onde foi observada uma grande diversidade no tamanho genômico no gênero, variando entre 2,48 e 7,58 pg, indicando uma maior importância da amplificação/eliminação de DNA repetitivo para a evolução cariotípica do grupo, em vez das alterações drásticas nos números cromossômicos, como poliploidizações.

Palavras-chave: citotaxonomia, clado *Homalomena*, filogenia molecular, conteúdo de DNA

ABSTRACT

Philodendron, one of the most important components of the Neotropical flora, is the second largest genus within Araceae, which presents approximately 500 species and a huge ecologic diversity. As well as it is observed for other plant groups from tropical America, one can still note a remarkable lack of studies on the evolution of the genus, mainly regarding to phylogenetic systematics and karyotype evolution analyses among *Philodendron* species. Thus, a molecular phylogeny based on chloroplast (*rpl32-trnL*, *trnQ-5'-rps16* e *trnV-ndhC*) and nuclear (ITS) markers, as well as chromosome counts and DNA C-value estimations were performed, with species from the main subdivisions within the genus and sister groups. Forty-eight chromosome numbers were described herein, from which 38 were new. Besides, all the available diploid numbers were revised, totalizing 69 species with known chromosome numbers, from which the major part (32 spp.) presented $2n = 32$, followed by $2n = 34$ (20 spp.). In the phylogenetic analyses, the morphological hypothesis of relationship among the subgenera was confirmed, in which *P. subg. Philodendron* and *P. subg. Pteromischum* were recovered as sister groups and *P. subg. Meconostigma* as the first diverging lineage of the monophyletic group. In addition, DNA content estimations were performed for 163 accessions, including 108 species from *Philodendron* and 17 from related groups, in which a wide variation of genome sizes were observed, ranging from 2.48 to 7.58 pg. Therefore, it was indicated that the mechanisms of amplification/elimination of repetitive DNA might be more important for the karyotype evolution within the group, in comparison to drastic numeric changes in chromosome numbers such as polyploidization.

Keywords: cytotaxonomy, genome size, *Homalomena* clade, molecular phylogeny.

SUMÁRIO

	Página
1. INTRODUÇÃO	11
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
2.1. Diversidade biológica nas florestas úmidas brasileiras	12
2.2 O emprego de dados moleculares na sistemática filogenética	13
2.3 O uso da citogenética na sistemática vegetal	15
2.4 Estimativas do conteúdo de DNA de células vegetais	16
2.5 A família Araceae Juss.	17
2.6 O gênero <i>Philodendron</i> Schott	19
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
4. CAPÍTULO I	
Chromosomal diversity in <i>Philodendron</i> (Araceae): taxonomic significance and a critical review	30
5. CAPÍTULO II	
Novas percepções a respeito das relações filogenéticas em <i>Philodendron</i> (Araceae) com base em marcadores plastidiais e nucleares	43
6. CAPÍTULO III	
Evolução do tamanho genômico e número diploide no gênero neotropical <i>Philodendron</i> (Araceae)	81
7. CONCLUSÕES	111
8. ANEXOS	
Outros trabalhos publicados durante a realização do doutorado	112

1. INTRODUÇÃO

O gênero *Philodendron* Schott apresenta expressiva diversidade ecológica (MAYO, 1986; MAYO et al., 1997) e figura como o segundo maior gênero da família Araceae, com aproximadamente 500 espécies conhecidas (BOYCE e CROAT, 2011), tratando-se de um dos principais componentes da flora de epífitas da Amazônia e da Floresta Atlântica (MAYO, 1986; SAKURAGI et al., 2011; IRUME et al., 2013). As espécies que compõem o gênero possuem alto potencial econômico, tendo em vista sua utilização tradicional na alimentação (e.g. *P. bipinnatifidum* Schott ex Endl.), fibras para artesanato (e.g. *P. goeldii* G.M.Barroso, *P. solimoesense* A.C.Sm. e *P. venezuelense* G.S.Bunting), óleos essenciais (*P. fragrantissimum* (Hook.) G.Don) e principalmente no âmbito ornamental, por apresentarem folhas conspícuas e de morfologia variada (OLIVEIRA, 2011; CASTELLAR et al., 2013). Atualmente são reconhecidos três subgêneros distintos em *Philodendron*: subg. *Philodendron* Engler (ca. 400 spp.), subg. *Pteromischum* (Schott) Mayo (78 spp.) e subg. *Meconostigma* (Schott) Engler (21 spp.).

Em adição aos relativamente poucos tratamentos taxonômicos realizados para o gênero (e.g. MAYO, 1986; GRAYUM, 1996; CROAT, 1997; SAKURAGUI et al., 2005), tendo em vista o grande número de espécies, algumas análises de sistemática molecular vêm sendo realizadas na tentativa de entender as relações filogenéticas entre os membros de *Philodendron* e os grupos irmãos (GAUTHIER et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2014). No entanto, ainda pouco é conhecido a respeito da organização e evolução genômica em *Philodendron*, havendo ainda uma grande carência de dados relacionados à diversidade genética das espécies do grupo.

Os dados relacionados a análises citogenéticas e de citometria de fluxo ainda são relativamente escassos e/ou confusos, principalmente levando em consideração os números diploides disponíveis para o gênero. Contagens cromossômicas foram realizadas apenas em aproximadamente 6% das espécies de *Philodendron* (PETERSEN, 1989; COTIAS-DE-OLIVEIRA et al., 1999), havendo uma escassez ainda maior com relação às estimativas de tamanho genômico, as quais somam apenas seis medições de valores-C de DNA publicadas até o momento (BENNET e LEITCH, 2012).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo fornecer subsídios para compreensão de padrões evolutivos e das relações filogenéticas entre espécies de *Philodendron*, por meio de análises baseadas em sequências de DNA plastidial e nuclear. Adicionalmente, contagens cromossômicas e estimativas de tamanho genômico foram realizadas com o intuito

de entender os padrões de evolução cariotípica no gênero, incluindo uma revisão crítica dos dados citogenéticos previamente publicados para o grupo.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. Diversidade biológica nas florestas úmidas brasileiras

A Floresta Atlântica e a bacia amazônica são duas das principais fontes de biodiversidade do planeta e, juntas, são consideradas as florestas tropicais mais abundantes em elementos da fauna e da flora (ver COSTA, 2003). Apesar destes dois biomas basicamente úmidos e sombreados estarem separados por uma extensa faixa de campos abertos de clima mais seco (cerrado e caatinga), há vários indícios de conexões pretéritas entre Amazônia e Floresta Atlântica, os quais se mostram em um padrão muito mais complexo do que se pensava anteriormente (COSTA, 2003; BATALHA-FILHO et al., 2012; FILGUEIRAS et al., 2012; TURCHETTO-ZOLET et al., 2012). Os padrões evolutivos entre os grupos que ocorrem nos dois biomas distintos ainda não estão muito claros, principalmente no que concerne à estruturação e à ocupação dos ambientes pelas comunidades vegetais.

A diversidade vegetal encontrada na bacia amazônica, a qual ocupa uma área equivalente ao território do continente europeu, é considerada a maior do planeta, apresentando mais de 80 mil espécies de plantas vasculares descritas (ver COLINVAUX e OLIVEIRA, 2001). Sendo composta por um contínuo de formações vegetais distintas, tal riqueza é atribuída principalmente à ocorrência de eventos de vicariância devido à variação nos processos hidrológicos durante a existência da floresta (COLINVAUX, 1987). Diversos autores reconhecem a existência de oito centros de endemismo nesta região (ver FIGUEIREDO et al., 2006), que além de cobrir grande parte do território brasileiro, está presente em outros oito países situados ao norte da América do Sul (Bolívia, Colômbia, Equador, Guiana, Guiana Francesa, Peru, Suriname e Venezuela).

Já a Floresta Atlântica, mesmo com a grande degradação sofrida desde a chegada dos colonizadores europeus ao Brasil, ainda é considerada um dos principais *hotspots* de diversidade biológica, abrigando mais de 8.000 espécies endêmicas de plantas vasculares e vertebrados terrestres (MYERS et al., 2000; TABARELLI et al., 2005). Com uma grande variabilidade de zonas climáticas e formações vegetacionais, com uma tendência de aumento da sazonalidade nos gradientes Leste-Oeste e Norte-Sul, diversos centros de endemismo vêm sendo identificados em toda a sua extensão, sendo cinco os mais comumente reconhecidos –

Brejos Nordestinos, Pernambuco, Bahia Central, Costa da Bahia e Serra do Mar (OLIVEIRA-FILHO e FONTES, 2000; SILVA et al., 2004).

Apesar da grande importância da mensuração dos recursos genéticos da flora de biomas extremamente diversos como a Amazônia e a Floresta Atlântica, principalmente para fins de conservação, uma quantidade relativamente pequena de estudos foi realizada envolvendo análises de diversidade genética por meio de técnicas de biologia molecular (MIYAKI e ALVES, 2006; PENNINGTON e DICK, 2010). Nem mesmo aspectos mais básicos para a caracterização da diversidade genética das populações vegetais, tais como simples contagens cromossômicas, são conhecidos para a grande maioria das espécies.

Desta forma, para fins práticos de conservação, se faz necessário o entendimento dos processos evolutivos que levaram à enorme diversidade biológica encontrada hoje na América tropical, principalmente no que concerne ao impacto gerado por mudanças climáticas em curto e longo prazo (MIYAKI et al., 2006; GASTON, 2010; PENNINGTON e DICK, 2010). Tanto as análises populacionais quanto os estudos filogenéticos baseados em marcadores moleculares e direcionados a grupos taxonômicos dos mais variados níveis, como espécies, gêneros e mesmo famílias são de extrema importância para a identificação dos padrões de geração e distribuição da diversidade genética ao longo do tempo em um determinado gradiente geográfico (ver DONOGHUE, 2008). No entanto, não apenas os dados gerados por marcadores de sequência e *fingerprinting* de DNA são considerados úteis para a caracterização da diversidade genética. Mesmo aspectos mais amplos como descrições cariotípicas e de tamanho genômico são de extrema importância, tendo em vista que tais caracteres apresentam um considerável potencial de variabilidade entre níveis taxonômicos mais baixos, principalmente com relação à variação no conteúdo de DNA entre espécies relacionadas (LEVIN, 2002; GUERRA, 2008; LOUREIRO et al., 2010).

2.2 O emprego de dados moleculares na sistemática filogenética

A sistemática é uma das mais importantes áreas das ciências biológicas, sendo responsável por estudar a diversidade biológica a partir da descoberta, descrição, interpretação e organização dos organismos por meio de sistemas de classificação, para possibilitar o entendimento da história da vida no planeta (JUDD et al., 2009). Além disso, inferências a respeito das relações evolutivas entre os organismos, bem como sobre quais foram os processos que levaram à diversificação da vida ao longo do tempo, podem ser realizadas a partir dos métodos da sistemática filogenética. Dentre estes, a cladística, a qual foi inicialmente descrita

pelo entomologista alemão Willi Hennig, é o método mais aceito para as análises filogenéticas e vem sendo amplamente empregado desde sua descrição em meados da década de 1960. Descrevendo de forma bastante simplificada, a cladística é baseada na premissa de que organismos proximamente relacionados compartilham um conjunto de características a partir de um ancestral em comum, as quais são chamadas de sinapomorfias e não estão presentes em parentes mais distantes (AMORIM, 2002; JUDD et al., 2009).

Anteriormente ao emprego de técnicas de biologia molecular para análises filogenéticas, métodos comparativos de caracteres morfológicos e fisiológicos foram amplamente empregados na reconstrução da história evolutiva dos organismos. Contudo, a evolução de tais caracteres é, em geral, muito complexa, dificultando a interpretação das informações e gerando árvores filogenéticas controversas (NEI e KUMAR, 2000). Desta forma, a associação de dados moleculares às matrizes de reconstrução filogenética é de fundamental importância para um melhor entendimento das relações entre os organismos de diferentes níveis taxonômicos (JUDD et al., 2009; CUSIMANO et al., 2011).

Diversas sequências de DNA nuclear e plastidial têm sido extensivamente empregadas para a reconstrução da filogenia de grupos vegetais. A combinação das sequências de dois ou mais loci tem se revelado uma importante estratégia para estimar filogenias, proporcionando uma melhor resolução e suporte dos ramos internos em comparação com as análises utilizando uma única sequência (SAVOLAINEN et al., 2000; CUSIMANO et al., 2011; CARLSEN e CROAT, 2013). Por outro lado, dependendo do tipo de sequência e do grupo escolhido, nem sempre são obtidas taxas satisfatórias de variabilidade para a investigação de relações entre níveis hierárquicos mais baixos, como gêneros e espécies intimamente relacionados (ver WILSON et al., 1990; RONCAL et al., 2005; GAUTHIER et al., 2008). Desta forma, se fazem necessários tanto o desenvolvimento quanto a aplicação de novas regiões nucleares e plastidiais na sistemática molecular, aumentando a gama de marcadores informativos disponíveis para a elucidação das relações filogenéticas de diversos grupos vegetais (SHAW et al., 2005, 2007).

Os marcadores de *fingerprinting* de DNA constituem uma fonte potencial de caracteres evolutivamente informativos ao nível de populações, espécies e até mesmo para avaliação das relações entre gêneros próximos (WEISING et al., 2005; NYBOM et al., 2014). Para o gênero *Macaranga* Thou. (Euphorbiaceae), por exemplo, análises envolvendo diferentes sistemas de marcadores, como sequências de ITS (*Internal Transcribed Spacer* – espaçador transcrito interno) (BLATTNER et al., 2001), AFLP (BANFER et al., 2004) e SSR (*Simple Sequence Repeats* – repetições de sequências simples) (GUICKING et al., 2006), forneceram valiosas informações para ajudar no entendimento de relações evolutivas entre populações ou mesmo

entre espécies próximas. Adicionalmente, os marcadores do tipo AFLP são considerados como os melhores para as análises envolvendo táxons mais intimamente relacionados, apresentando taxas mais altas de polimorfismos do que aquelas observadas com as sequências nucleares e plastidiais comumente utilizadas (WEISING et al., 2005; KUMAR et al., 2009). No caso de *Dyckia* Schult.f. (Bromeliaceae), marcadores AFLP resultaram em níveis muito mais altos de resolução e confiabilidade das topologias geradas nas relações entre os vários grupos geográficos do gênero (PINANGÉ, 2013), em comparação com outra análise utilizando sequências de regiões nucleares e plastidiais (KRAPP et al., 2014).

Com o desenvolvimento das novas plataformas de pirosequenciamento, bem como o barateamento dos custos, a filogenômica, a qual consiste de análises filogenéticas baseadas em porções cada vez maiores dos genomas nucleares, ou mesmo com a utilização de sequências completas dos genomas organelares, vem ganhando força ao longo dos últimos anos. No entanto, a capacidade computacional e o desenvolvimento de novos algoritmos para as análises de homologia de caracteres em um volume de dados desta magnitude ainda não são satisfatórios para a obtenção de topologias confiáveis, tendo em vista que a amostragem de espécies tende a ser consideravelmente menor (ver JEFFROY et al., 2008; YANG et al., 2013; HENRIQUEZ et al., 2014)

2.3 O uso da citogenética na sistemática vegetal

A citogenética é a ciência responsável pelo estudo dos cromossomos em um sentido amplo, envolvendo desde análises de microscopia (óptica e eletrônica) até a caracterização molecular da cromatina. O comportamento cromossômico durante todo o ciclo celular, a sua correta segregação durante a formação de células somáticas e gaméticas bem como a função e variação de suas características são aspectos importantes nos estudos citogenéticos (SYBENGA, 1992; SUMNER, 2003).

Entende-se por cariótipo o conjunto das características apresentadas pelos cromossomos de uma espécie, como número do complemento diploide ($2n$), morfologia cromossômica, organização longitudinal das diferentes classes de cromatina, localização de sequências (sejam elas repetitivas ou de cópias únicas), entre outras (SYBENGA, 1992; GUERRA, 2008). Além disso, apesar de ser mais uma característica fenotípica de um organismo, o cariótipo é o próprio material genético mostrando a organização global do genoma (GUERRA, 2008). Apesar da grande valia dos estudos citogenéticos para a elucidação de diversos problemas na biologia

evolutiva, no melhoramento genético e na sistemática, muitos grupos vegetais sequer possuem número diploide conhecido (GUERRA, 2008, 2012).

A forma mais simples, rápida e barata para a visualização dos cromossomos é a análise baseada em coloração convencional, sendo bastante atrativa para muitos citotaxonomistas (GUERRA, 2012). Tal metodologia fornece os parâmetros cariotípicos mais básicos (número diploide, tamanho, morfologia e padrão de condensação cromossômica, localização das constrições primária e secundária e tipo de núcleo interfásico), os quais são suficientes para resolver muitas das questões sobre as relações evolutivas dentro de diversos grupos taxonômicos vegetais (BENKO-ISEPPON e MORAWETZ, 2000; GUERRA, 2008; PERUZZI e EROGLU, 2013). Informações geradas acerca dos números cromossômicos a partir das pesquisas em espécies vegetais encontram-se compiladas em diferentes índices cromossômicos (e.g. FEDOROV, 1969; GOLDBLATT e JOHNSON, 1979-2014).

O número básico (representado pela letra 'x'), um dos parâmetros cariológicos mais relevantes para o entendimento de mecanismos evolutivos, é o número haploide presente na população inicial de um táxon monofilético (GUERRA, 2008). Possivelmente, o número básico do ancestral comum das angiospermas é $x = 7$, ocorrendo este com certa frequência não só nos clados mais basais, mas também nos mais derivados (RAVEN, 1975; GRANT, 1982). Desvios no número básico são atribuídos principalmente a disploidias, as quais consistem de alterações no número de cromossomos sem haver perda ou ganho de material genético (GUERRA, 2008).

2.4 Estimativas do conteúdo de DNA de células vegetais

Além do número cromossômico, outra característica de um cariótipo tão informativa quanto importante evolutivamente pode ser facilmente acessada por metodologias muito bem estabelecidas, como estimativas do tamanho do genoma, ou do conteúdo de DNA presente no núcleo (LEVIN, 2002; DOLEZEL et al., 2007; BENNETT e LEITCH, 2011). Atualmente, a citometria de fluxo vem sendo amplamente empregada nas análises de estimativas do conteúdo de DNA nos núcleos diploides (representado pelo valor 2C), principalmente com os mais diversos grupos de plantas vasculares (DOLEZEL et al., 2007; LEITCH e BENNETT, 2007; BENNETT e LEITCH, 2011; GARCIA et al., 2014). Levando em consideração os mais de 15.000 eucariotos com tamanho do genoma conhecido, pode-se notar a importância das análises em plantas, tendo em vista que quase 60% desse total (ca. 9.000 spp.) corresponde aos valores disponibilizados nas bases de dados do conteúdo de DNA das espécies vegetais (<http://data.kew.org/cvalues> e <http://www.asteraceagenomesize.com>) (GARCIA et al., 2014).

Apesar das angiospermas serem, de longe, o grupo de eucariotos mais bem estudado (GARCIA et al., 2014), a proporção de espécies com conteúdo de DNA descrito está longe do ideal para conhecermos a real variabilidade existente (BENNETT e LEITCH, 2011), havendo apenas aproximadamente 2% das 352.000 espécies reconhecidas atualmente (PATON et al., 2008). O cenário é ainda pior com relação às plantas endêmicas das regiões tropicais megadiversas, como América do Sul e sudeste da Ásia, bem como das grandes ilhas como Austrália, Bornéu e Madagascar (BENNETT e LEITCH, 2011).

Há uma diversidade enorme no tamanho dos genomas das angiospermas, com os valores de 2C variando entre 0,13 pg em *Genlisea margaretae* Hutch. (Lentibulariaceae) e 304,46 pg em *Paris japonica* (Franch. & Sav.) Franch. (Melanthiaceae) (GREILHUBER et al., 2006; PELLICER et al., 2010), embora a ocorrência de genomas maiores que 10 pg seja relativamente incomum (LEVIN, 2012). A diferença nos conteúdos de DNA pode ser grande, mesmo entre espécies de um mesmo gênero, principalmente associada à ocorrência de séries poliploides, como no caso de *Nymphaea* L. com uma variação chegando a mais de 5× entre espécies diploides e 16-ploides (PELLICER et al., 2013). No entanto, a importância das análises comparativas de conteúdo de DNA é ainda maior quando se leva em consideração a diversidade entre espécies homoploides, ou seja, com o mesmo nível de ploidia (LOUREIRO et al., 2010), uma vez que vários mecanismos de amplificação e a eliminação de DNA repetitivo atuam durante a evolução dos cariótipos (HESLOP-HARRISON, 2012). Adicionalmente, ao contrário do que se pensava anteriormente, várias evidências vêm apontando uma maior importância das alterações nos cariótipos que não envolvem duplicações (totais ou parciais) do genoma, principalmente após observações de reduções nas taxas de diversificação em táxons com maior ocorrência de poliploidia (MADLUNG, 2013; ESCUDERO et al., 2014).

2.5 A família Araceae Juss.

Araceae é um dos grupos de monocotiledôneas mais bem representados nas florestas úmidas da América tropical (CROAT, 1998), sendo considerada a família mais basal da ordem Alismatales (APGIII, 2009; STEVENS, 2012). A família consiste em mais de 3.300 espécies distribuídas em 118 gêneros, tendo os trópicos úmidos a maior diversidade de formas de vida (BOYCE e CROAT, 2013). Após a inclusão dos membros da antiga família Lemnaceae como uma subfamília de Araceae (Lemnoideae), a distribuição geográfica do grupo, que já se estendia por todas as regiões tropicais e subtropicais do planeta, passou a ser cosmopolita, estando

ausente basicamente nas regiões desérticas e no continente antártico (ver MAYO et al., 1997; CABRERA et al., 2008; NAUHEIMER et al., 2012).

Os membros deste grupo são facilmente reconhecidos principalmente pela inflorescência bastante conspícua em espádice protegida por uma bráctea, a espata, muitas vezes de coloração forte. Na família há uma grande diversidade de hábitos, com espécies variando desde o porte arbustivo (e.g. várias espécies do gênero *Philodendron*), até as minúsculas ervas flutuantes da subfamília Lemnoideae (MAYO et al., 1997; CABRERA et al., 2008; CUSIMANO et al., 2011). Várias espécies são de grande valor econômico, mais notadamente para fins de ornamentação (ver LORENZI e SOUZA, 2001; SANTOS, 2011). No entanto, também há espécies importantes utilizadas na alimentação humana como o inhame dos Açores (*Colocasia esculenta* Schott), além de espécies de *Alocasia* (Schott) G.Don, *Amorphophallus* Blume ex Decne., *Arisaema* Mart., *Monstera* Adans., entre outras (MAYO et al., 1997).

A sistemática de Araceae nos níveis taxonômicos mais altos está bem definida, onde a família pode ser dividida em oito subfamílias monofiléticas e muito bem suportadas por vários caracteres morfológicos e moleculares (FRENCH et al., 1995; CUSIMANO et al., 2011): as proto-Araceae Gymnostachyoideae e Orontioideae; as aquáticas Lemnoideae; as subfamílias com flores bissexuadas Pothoideae, Monsteroideae e Lasioideae; e as plantas com flores unissexuadas Zamioculcadoideae e Aroideae. Mais recentemente, na primeira abordagem filogenômica entre os principais grupos de Araceae, Henriquez et al. (2014) observaram agrupamentos bastante congruentes com a classificação de Cusimano et al. (2011), utilizando o transcriptoma plastidial completo de amostras de 39 gêneros, embora as análises com as sequências mitocondriais tenham gerado topologias divergentes e com baixo suporte estatístico. A maior parte da diversidade ecológica e numérica está em Aroideae, a subfamília mais derivada, a qual abrange a maior parte dos gêneros com maior número de espécies da família, como *Alocasia* (ca. 80 spp.), *Arisaema* (ca. 210 spp.), *Homalomena* Schott (ca. 80 spp.) e *Philodendron* (ca. 500 spp.), embora *Anthurium* Schott (ca. 900 spp.; Pothoideae) seja o grupo mais numeroso de Araceae (BOYCE e CROAT, 2011).

Com relação aos dados cariológicos básicos, os membros de Araceae vêm sendo relativamente bem estudados, principalmente levando em consideração que a maior parte do grupo está distribuída pelas regiões tropicais, havendo números diploides disponíveis para todos os gêneros e contando com aproximadamente 26% das espécies da família, variando entre $2n = 10$ e 168 cromossomos (BOGNER e PETERSEN, 2007; CUSIMANO et al., 2012). No entanto, a proporção de espécies com valores de conteúdo de DNA disponíveis é

consideravelmente mais baixa (3,9%), havendo ainda uma completa ausência de dados para 69,5% dos gêneros. Apesar disso, onde os valores 2C disponíveis apresentam uma ampla variação (mais de 160×), estando entre 0,30-48,10 pg (ver BENNET e LEITCH, 2012).

2.6 O gênero *Philodendron* Schott

Philodendron é o segundo gênero mais representativo da família, contando com aproximadamente 500 espécies descritas, sendo de grande importância nos ecossistemas das florestas úmidas americanas (MAYO et al., 1997; BOYCE e CROAT, 2011; SAKURAGUI et al., 2011; IRUME et al., 2013). O grupo é membro da subfamília Aroideae e, atualmente, é um dos cinco gêneros que fazem parte do clado *Homalomena* (*sensu* CUSIMANO et al., 2011), juntamente com *Homalomena* (com aproximadamente 69 espécies asiáticas e 13 sul-americanas), *Furtadoa* M.Hotta (com apenas duas espécies asiáticas), e os dois gêneros africanos *Cercestis* Schott (10 spp.) e *Culcasia* P.Beauv. (28 spp.) (Figura 1).

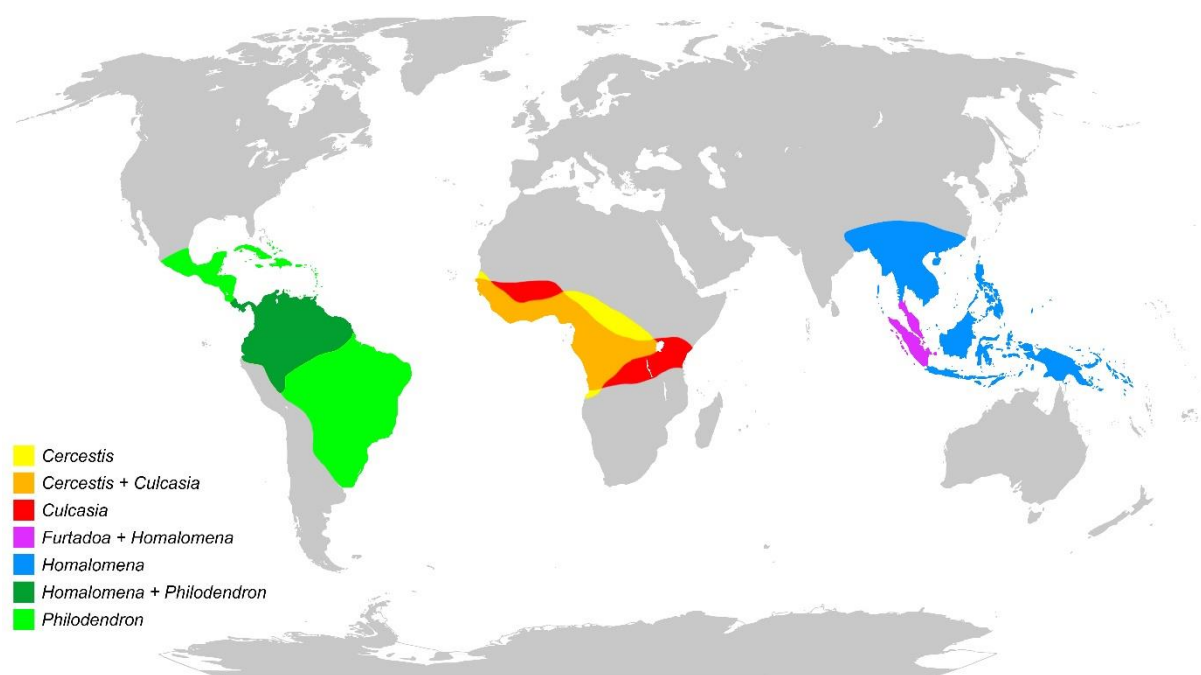


Figura 1. Distribuição geográfica dos cinco gêneros membros do clado *Homalomena sensu* Cusimano et al. (2011), baseado em Mayo et al. (1997).

A maior parte do gênero é lianescente, apesar de haver uma grande diversidade de hábitos nas espécies de *Philodendron* (MAYO, 1991; GRAYUM, 1996; CROAT, 1997; MAYO et al., 1997). As espécies que compõem o gênero possuem grande potencial econômico, tendo em vista sua utilização tradicional como alimento (e.g. *P. bipinnatifidum* Schott ex Endl.),

fibras para artesanato (e.g. *P. goeldii* G.M.Barroso, *P. solimoesense* A.C.Sm. e *P. venezuelense* G.S.Bunting), óleos essenciais (*P. fragrantissimum* (Hook.) G.Don) e principalmente no âmbito ornamental, por apresentarem folhas conspícuas e de morfologia variada (OLIVEIRA, 2011; CASTELLAR et al., 2013). Atualmente são reconhecidos três subgêneros distintos para o grupo: *Meconostigma* (21 spp.), *Pteromischum* (78 spp.) e *Philodendron* (ca. 400 spp.), sendo este último subdividido em 10 seções (CROAT, 1997; SAKURAGUI et al. 2005; KÖSTER e CROAT, 2011) (Figura 2).

Contudo, há indicativos de que a divisão do subgênero *Philodendron* em seções, as quais são delimitadas a partir de alguns poucos caracteres morfológicos (ver CROAT, 1997; SAKURAGUI et al., 2005), não seja suportada filogeneticamente (GAUTHIER et al., 2008), o que pode ocorrer devido à homoplasia de tais caracteres, similarmente ao observado para outros grupos de Araceae, como *Arum* L., por exemplo (ver BOYCE, 2006; ESPÍNDOLA et al., 2010; LINZ et al., 2010). As primeiras análises envolvendo metodologias cladísticas de agrupamento com espécies de *Philodendron* foram realizadas por Mayo (1986), onde caracteres morfológicos e anatômicos das inflorescências foram empregados. No entanto, por utilizar uma amostragem consideravelmente limitada, principalmente com relação ao subg. *Pteromischum* (uma espécie apenas), várias incongruências foram observadas. Posteriormente, Calazans et al. (2014) apresentaram uma análise completa dos caracteres florais das espécies do subg. *Meconostigma*, ainda observando inconsistências topológicas entre os cladogramas gerados.

Gauthier et al. (2008) sugeriram que o gênero *Homalomena* fosse adicionado a *Philodendron*, levando-se em consideração uma filogenia preliminar baseada em sequências de duas regiões nucleares (ITS e ETS) e uma plastidial (*rpl16*). Os citados autores constataram que as espécies americanas de *Homalomena* agrupavam com o subgênero *Pteromischum*, formando um grupo irmão em relação aos outros dois subgêneros de *Philodendron*, *Meconostigma* e *Philodendron*, embora sem obter suporte estatístico relevante dos agrupamentos. Adicionalmente, Gauthier et al. (2008) sugeriram a incorporação de uma matriz de caracteres morfológicos em análises futuras com *Philodendron* e *Homalomena*, juntamente com outras abordagens que venham a melhorar a resolução da árvore filogenética, bem como a ampliação do número de espécies amostradas, visto que apenas duas espécies de *Pteromischum* foram utilizadas nas análises. No entanto, mais de duas décadas antes, Mayo (1986) já indicava problemas na escolha e utilização de dados morfológicos nas reconstruções filogenéticas com *Philodendron* devido aos altos índices de homoplasia e à enorme plasticidade dos caracteres reprodutivos e vegetativos, respectivamente.



Figura 2. Representantes dos três subgêneros de *Philodendron* em seus respectivos habitats. *Philodendron* subg. *Meconostigma*: *P. corcovadense* Kunth (A), *P. goeldii* (B) e *P. solimoesense* (C); *P.* subg. *Philodendron*: *P. bipennifolium* Schott (D), *P. callosum* K.Krause (E), *P. distantilobum* K.Krause (F), *P. linnaei* Kunth (G) e *P. megalophyllum* Schott (H); e *P.* subg. *Pteromischum*: *P. rudgeanum* Schott (I).

Philodendron é um grupo relativamente mal estudado cariotipicamente, apesar da facilidade de obtenção de preparações cromossômicas para a grande maioria das espécies do gênero, assim como para tantos outros grupos de Araceae (ver MARCHANT, 1971; PETERSEN, 1989). Do total de espécies do gênero, são conhecidos números diploides para apenas 6% (variando entre $2n = 26$ e 54 cromossomos), uma proporção muito abaixo da média observada para a família de 26% (PETERSEN, 1989; BOGNER e PETERSEN, 2007). Adicionalmente, há um indicativo de grande variabilidade no DNA repetitivo em *Philodendron*,

visto que as 12 espécies analisadas por Correia-da-Silva (2007) puderam ser diferenciadas pelos padrões de distribuição e constituição de bandas heterocromáticas visualizadas por meio de fluorocromos base-específicos CMA e DAPI (cromomicina A₃ para regiões ricas em G-C e 4'-6-diamidino-2-fenilindol para regiões ricas em A-T), além da grande diferença observada no tamanho dos genomas das cinco espécies disponíveis nas bases de dados de conteúdo de DNA (2C = 2,4-10,56 pg; BENNETT e LEITCH, 2012).

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMORIM, D. S. **Fundamentos de sistemática filogenética**. Ribeirão Preto: Editora Holos, 2002. 156 p.
- APG III – Angiosperm Phylogeny Group III. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society**, p. 161, v. 105-121, 2009.
- BANFER, G.; FIALA, B.; WEISING, K. AFLP analysis of phylogenetic relationships among myrmecophytic species of *Macaranga* (Euphorbiaceae) and their allies. **Plant Systematics and Evolution**, v. 249, p. 213-231, 2004.
- BATALHA-FILHO, H.; FJELDSA, J.; FABRE, PH.; MIYAKI, C. Y. Connections between the Atlantic and the Amazonian forest avifaunas represent distinct historical events. **Journal of Ornithology**, v. 154, p. 41-50, 2012.
- BENNETT, M. D.; LEITCH, I. J. Nuclear DNA amounts in angiosperms: targets, trends and tomorrow. **Annals of Botany**, v. 107, p. 467-590, 2011.
- BENNETT M. D.; LEITCH, I. J. **Plant DNA C-values database** (Release 6.0, Dec. 2012). Disponível em: <http://data.kew.org/cvalues/>. Acesso em 24 de junho de 2014.
- BENKO-ISEPPON, A. M.; MORAWETZ, W. Viburnales: cytological features and a new circumscription. **Taxon**, v. 49, p. 5-16, 2000.
- BLATTNER, F. R.; WEISING, K.; BANFER, G.; MASCHWITZ, U.; FIALA, B. Molecular analysis of phylogenetic relationships among myrmecophytic *Macaranga* species (Euphorbiaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 19, p. 331-344, 2001.
- BOGNER, J.; PETERSEN, G. The chromosome numbers of the aroid genera. **Aroideana**, v. 30, p. 82-90, 2007.
- BOYCE P. C. *Arum* – a decade of change. **Aroideana**, v. 29, p. 132-139, 2006.

- BOYCE, P. B.; CROAT, T. B. **The Überlist of Araceae**. Totals for published and estimated numbers of species in aroid genera. Disponível em: <http://www.aroid.org/genera/130307uberlist.pdf>. Acesso em 26 de junho de 2014.
- CALAZANS, L. S. B.; SAKURAGUI, C. M.; MAYO, S. J. From open areas to forests? The evolutionary history of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae) using morphological data. **Flora**, v. 209, p. 117-121, 2014.
- CARLSEN, M. M.; CROAT, T. B. A molecular phylogeny of the species-rich Neotropical genus *Anthurium* (Araceae) based on combined chloroplast and nuclear DNA. **Systematic Botany**, v. 38, p. 576-588, 2013.
- CASTELAR, A.; OLIVEIRA, D.; LEITÃO, S. G.; BIZZO, H. R.; SOARES, M. L.; KINUPP, V. F.; VEIGA-JUNIOR, V. F. Essential oil from *Philodendron fragrantissimum*, an aromatic Araceae from Amazonia, Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v. 25, p. 194-197, 2013.
- COLINVAUX, P. Amazon diversity in light of the paleoecological record. **Quaternary Science Reviews**, v. 6, p. 93-114, 1987.
- COLINVAUX, P.; OLIVEIRA, P. E. Amazon plant diversity and climate through the Cenozoic. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology**, v. 166, p. 51-63, 2001.
- CORREIA-DA-SILVA, M. **Estudos Genéticos e Moleculares em espécies de Araceae com ênfase em espécies da Amazônia Brasileira**. 2007. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife. 195 p.
- COSTA, L. P. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. **Journal of Biogeography**, v. 30, p. 71-86, 2003.
- COTIAS-DE-OLIVEIRA, A. L. P.; GUEDES, M. L. S.; BARRETO, E. C. Chromosome numbers for *Anthurium* and *Philodendron* spp. (Araceae) occurring in Bahia, Brazil. **Genetics and Molecular Biology**, v. 22, p. 237-242, 1999.
- CROAT, T. A revision of *Philodendron* subgenus *Philodendron* (Araceae) for Mexico and Central America. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 84, p. 311-704, 1997.
- CROAT, T. B. History and current status of systematic research with Araceae. **Aroideana**, v. 21, p. 26-145, 1998.
- CUSIMANO, N.; BOGNER, J.; MAYO, S. J.; BOYCE, P. C.; WONG, S. Y.; HESSE, M.; HETTERSCHEID, W. L. A.; KEATING, R. C.; FRENCH, J. C. Relationships within

- the Araceae: comparison of morphological patterns with molecular phylogenies. **American Journal of Botany**, v. 98, p. 654-668, 2011.
- CUSIMANO, N.; SOUSA, A.; RENNER, S. S. Maximum likelihood inference implies a high, not a low, ancestral haploid chromosome number in Araceae, with a critique of the bias introduced by 'x'. **Annals of Botany**, v. 109, p. 681-692, 2012.
- DOLEZEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. Flow cytometry with plants: an overview, In: DOLEZEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. (Eds.). **Flow cytometry with plant cells**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007. p. 41-65.
- DONOGHUE, M. J. A phylogenetic perspective on the distribution of plant diversity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 105, p. 11549-11555, 2008.
- ESCUADERO, M.; MARTÍN-BRAVO, S.; MAYROSE, I.; FERNÁNDEZ-MAZUECOS, M.; FIZ- PALACIOS, O.; HIPPEL, A. L.; PIMENTEL, M.; JIMÉNEZ-MEJÍAS, P.; VALCÁRCEL, V.; VARGAS, P.; LUCEÑO, M. Karyotypic changes through dysploidy persist longer over evolutionary time than polyploid changes. **PLoS ONE**, v. 9, p. e85266, 2014.
- ESPÍNDOLA, A.; BUERKI, S.; BEDALOV, M.; KUPFER, P.; ALVAREZ, N. New insights into the phylogenetics and biogeography of *Arum* (Araceae): unravelling its evolutionary history. **Botanical Journal of the Linnean Society**, 163, p. 14-32, 2010.
- FEDOROV, A. A. **Chromosome number of flowering plants**. Leningrad: Komarov Botanical Institute, 1969. 928 p.
- FIGUEIREDO, W. M. B.; SILVA, J. M. C.; SOUZA, M. A. Biogeografia e conservação da biodiversidade, In: ROCHA, C. F. D.; BERGALLO, H. G.; VAN SLUYS, M.; ALVES, M. A. S. (Org.) **Biologia da conservação: Essências**. São Carlos: RiMa, 2006. p. 135-156.
- FILGUEIRAS, B. K. C.; IANNUZZI, L.; VAZ-DE-MELLO, F. Z. First report of *Oxysternon silenus* Castelnau (Scarabaeidae, Scarabaeinae, Phanaeini) in the Brazilian Atlantic Forest. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 55, p. 283-284, 2011.
- FRENCH, J. C.; CHUNG, M. G. HUR, Y. K. Chloroplast DNA phylogeny of the Ariflorae, In: RUDALL, P. J.; CRIBB, P.; CUTLER, D. F.; HUMPHRIES, C. J. (Eds.). **Monocotyledons: systematics and evolution**. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew, 1995. p. 255-275.
- GARCIA, S.; LEITCH, I. J.; ANADON-ROSELL, A.; CANELA, M. Á.; GÁLVEZ, F.; GARNATJE, T.; GRAS, A.; HIDALGO, O.; JOHNSTON, E.; MAS DE XAXARS, G.;

- PELLICER, J.; SILJAK-YAKOVLEV, S.; VALLÈS, J.; VITALES, D.; BENNETT, M. D. Recent updates and developments to plant genome size databases. **Nucleic Acids Research**, v. 42, p. D1159-D1166, 2014.
- GASTON, K. J. Global patterns in biodiversity. **Nature**, v. 405, p. 220-227, 2000.
- GAUTHIER, M. P. L.; BARABE, D.; BRUNEAU, A. Molecular phylogeny of the genus *Philodendron* (Araceae): delimitation and infrageneric classification. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 156, p. 13-27, 2008.
- GOLDBLATT, P.; JOHNSON, D. E. (Ed.). Index to plant chromosome numbers. St. Louis: Missouri Botanical Garden, 1979-2014. Disponível em: <http://www.tropicos.org/Project/PCN>. Acesso em 22 de setembro de 2014.
- GRANT, V. Periodicities in the chromosome numbers of the angiosperms. **Botanical Gazette**, v. 143, p. 379-389, 1982.
- GRAYUM, M. H. Revision of *Philodendron* subgenus *Pteromischum* (Araceae) for Pacific and Caribbean Tropical America. **Systematic Botany Monographs**, v. 47, p. 1-233, 1996.
- GREILHUBER, J.; BORSCH, T.; MÜLLER, K.; WORBERG, A.; POREMBSKI, S.; BARTHLOTT, W. Smallest angiosperm genomes found in Lentibulariaceae, with chromosomes of bacterial size. **Plant Biology**, v. 8, p. 770-777, 2006.
- GUERRA, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenetic and Genome Research**, v. 120, p. 339-350, 2008.
- GUERRA, M. Cytotaxonomy: the end of childhood. **Plant Biosystems**, v. 146, p. 703-710, 2012.
- GUICKING, D.; RANA, T. S.; BLATTNER, F. R.; WEISING, K. Microsatellite markers for the palaeotropic pioneer tree genus *Macaranga* (Euphorbiaceae) and their cross-species transferability. **Molecular Ecology Notes**, v. 6, p. 245-248, 2006.
- HENRIQUEZ, C. L.; ARIAS, T.; PIRES, J. C.; CROAT, T. B.; SCHAAL, B. A. Phylogenomics of the plant family Araceae. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 75, p. 91-102, 2014.
- HESLOP-HARRISON, J. S. Genome evolution: extinction, continuation or explosion? **Current Opinion in Plant Biology**, v. 15, p. 115-121, 2012.
- IRUME, M. V.; MORAIS, M. L. C. S.; ZARTMAN, C. E.; AMARAL, I. L. Floristic composition and community structure of epiphytic angiosperms in a terra firme forest in central Amazonia. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, p. 378-393, 2013.
- JEFFROY, O.; BRINKMANN, H.; DELSUC, F.; PHILIPPE, H. Phylogenomics: the beginning of incongruence? **Trends in Genetics**, v. 22, p. 225-231, 2008.

- JUDD, W. S.; CAMPBELL, C. S.; KELLOGG, E. A.; STEVENS, P. F.; DONOGHUE, M. J. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2009. 612 p.
- KÖSTER, N.; CROAT, T. B. A new section and a new species of *Philodendron* (Araceae) from Ecuador. **Willdenowia**, v. 41, p. 119-124, 2011.
- KRAPP, F.; PINANGÉ, D. S. B.; BENKO-ISEPPON, A. M.; LEME, E. M. C.; WEISING, K. Phylogeny and evolution of *Dyckia* (Bromeliaceae) inferred from chloroplast and nuclear sequences. **Plant Systematics and Evolution**, v. 300, p. 1591-1614, 2014.
- LEITCH, I. J.; BENNETT, M. D. Genome size and its uses: the impact of flow cytometry, In: DOLEZEL, J.; GREILHUBER, J.; SUDA, J. (Eds.). **Flow cytometry with plant cells**. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2007. p. 153-176.
- LEVIN, D. A. **The role of chromosomal change in plant evolution**. New York: Oxford University Press, 2002. 230 p.
- LINZ, J.; STOKL, J.; URRU, I.; KRUGEL, T.; STENSMYR, M. C.; HANSSON, B. S. Molecular phylogeny of the genus *Arum* (Araceae) inferred from multi-locus sequence data and AFLPs. **Taxon**, v. 59, p. 405-415, 2010.
- LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil – arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 3ª Edição. São Paulo: Instituto Plantarum, 2001. 1120 p.
- LOUREIRO, J.; TRÁVNÍČEK, P.; RAUCHOVÁ, J.; URFUS, T.; VÍT, P.; ŠTECH, M.; CASTROL, S.; SUDA, J. The use of flow cytometry in the biosystematics, ecology and population biology of homoploid plants. **Preslia**, v. 82, p. 3-21, 2010.
- MADLUNG, A. Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools. **Heredity**, v. 110, p. 99-104, 2013.
- MAYO, S. J. **Systematics of *Philodendron* Schott (Araceae) with special reference to inflorescence characters**. 1986. Tese (Doutorado em Botânica) – Universidade de Reading, Reading, Reino Unido. 972 p.
- MAYO, S. J. A revision of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). **Kew Bulletin**, v. 46, p. 601-681, 1991.
- MAYO, S. J.; BOGNER, J.; BOYCE, P. C. **The genera of Araceae**. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew, 1997. 370 p.
- MIYAKI, C. Y.; ALVES, M. A. S. Técnicas genéticas aplicadas à conservação, In: ROCHA, C. F. D.; BERGALLO, H. G.; VAN SLUYS, M.; ALVES, M. A. S. (Org.) **Biologia da conservação: Essências**. São Carlos: RiMa, 2006. p. 437-458.

- MYERS, N.; MITTERMEIER, R. A.; MITTERMEIER, C. G.; DA FONSECA, G. A. B.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, p. 853-858, 2000.
- NAUHEIMER, L.; METZLER, D.; RENNER, S. S. Global history of the ancient monocot family Araceae inferred with models accounting for past continental positions and previous ranges based on fossils. **New Phytologist**, v. 195, p. 938-950, 2012.
- NEI, M.; KUMAR, S. **Molecular evolution and phylogenetics**. New York: Oxford University Press. 333 p.
- NYBOM, H.; WEISING, K.; ROTTER, B. DNA fingerprinting in botany: past, present, future. **Investigative Genetics**, v. 5, n. 1, 2014.
- OLIVEIRA, L. L.; CALAZANS, L. S. B.; MORAIS, É. B.; MAYO, S. J.; SCHRAGO, C. G.; SAKURAGUI, C. M. Floral evolution of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). **PLoS ONE**, v. 9, n. e89701, 2014.
- OLIVEIRA, R. F. M. **Aspectos etnobotânicos e taxonômicos de Araceae Juss. na comunidade Santa Maria, Baixo Rio Negro – AM**. 2011. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 119 p.
- OLIVEIRA-FILHO, A. T.; FONTES, M. A. L. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, v. 32, p. 793-810, 2000.
- PATON, A. J.; BRUMMITT, N.; GOVAERTS, R.; HARMAN, K.; HINCHCLIFFE, S.; ALLKIN, B.; LUGHADHA, E. N. Towards target 1 of the global strategy for plant conservation: a working list of all known plant species – progress and prospects. **Taxon**, v. 57, p. 602-611, 2008.
- PELLICER, J.; FAY, M. F.; LEITCH, I. J. The largest eukaryotic genome of them all? **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 164, p. 10-15, 2010.
- PELLICER, J.; KELLY, L. J.; MAGDALENA, C.; LEITCH, I. J. Insights into the dynamics of genome size and chromosome evolution in the early diverging angiosperm lineage Nymphaeales (water lilies). **Genome**, v. 56, p. 437-449, 2013.
- PENNINGTON, R. T.; DICK, C. W. Diversification of the Amazonian flora and its relation to key geological and environmental events: a molecular perspective, In: HOORN, C.; WESSELINGH, F. P. (Org.) **Amazonia, landscape and species evolution: a look into the past**. Hoboken: Wiley-Blackwell Publishing Ltd., 2010. p. 373-385.
- PERUZZI, L.; EROGLU, H. Karyotype asymmetry: again, how to measure and what to measure? **Comparative Cytogenetics**, v. 7, p. 1-9, 2013.

- PETERSEN, G. Cytology and systematics of Araceae. **Nordic Journal of Botany**, v. 9, p. 119-166, 1989.
- PINANGÉ, D. S. B. **Filogenia molecular e estudos populacionais no gênero *Dyckia* Schult. & Schult.f. (Bromeliaceae)**. 2013. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, Brasil. 121 p.
- RAVEN, P. H. The bases of angiosperm phylogeny: cytology. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 62, p. 724-764, 1975.
- RONCAL, J.; FRANCISCO-ORTEGA, J.; ASMUSSEN, C. B.; LEWIS, C. E. Molecular phylogenetics of tribe Geonomeae (Arecaceae) using nuclear DNA sequences of Phosphoribulokinase and RNA Polymerase II. **Systematic Botany**, v. 30, p. 275-283, 2005.
- SAKURAGUI, C. M.; MAYO, S. J.; ZAPPI, D. C. Taxonomic revision of Brazilian species of *Philodendron* section *Macrobium*. **Kew Bulletin**, v. 60, p. 465-513, 2005.
- SAKURAGUI, C. M.; CALAZANS, L. S. B.; MORAIS, E. B.; COELHO, M. A. N.; PELLEGRINI M. O. O. Diversity and conservation of *Philodendron* Schott (Araceae) in Atlantic Forest of Rio de Janeiro State, Brazil. **Feddes Repertorium**, v. 122, p. 472-496, 2011.
- SANTOS, A. P. B. A beleza, a popularidade, a toxicidade e a importância econômica de espécies de aráceas. **Revista Virtual de Química**, v. 3, p. 181-195, 2011.
- SAVOLAINEN, V.; CHASE, M. W.; HOOT, S. B.; MORTON, C. M.; SOLTIS, D. E.; BAYER, C.; FAY, M. F.; BRUIJN, A. Y. D.; SULLIVAN, S.; QIU, Y. L. Phylogenetics of flowering plants based upon a combined analysis of plastid *atpB* and *rbcl* gene sequences. **Systematic Biology**, v. 49, p. 306-362, 2000.
- SHAW, J.; LICKY, E. B.; BECK, J. T.; FARMER, S. B.; LIU, W.; MILLER, J.; SIRIPUN, K. C.; WINDER, C. T.; SCHILLING, E. E.; SMALL, R. L. The tortoise and the hare II: relative utility of 21 noncoding chloroplast DNA sequences for phylogenetic analysis. **American Journal of Botany**, v. 92, p. 142-166, 2005.
- SHAW, J.; LICKY, E. B.; SCHILLING, E. E.; SMALL, R. L. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. **American Journal of Botany**, v. 94, p. 275-288, 2007.
- SILVA, J. M. C.; SOUSA, M. C.; CASTELLETTI C. H. M. Areas of endemism for passerine birds in the Atlantic Forest. **Global Ecology and Biogeography**, v. 13, p. 85-92, 2004.

- STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website**. Version 12, July 2012. Disponível em: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Acesso em: 10 de julho de 2014.
- SUMNER, A. T. **Chromosomes: organization and function**. Malden: Blackwell Science Ltd, 2003. 287 p.
- SYBENGA, J. **Cytogenetics in plant breeding**. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag, 1992. 469 p.
- TABARELLI, M.; PINTO, L. P.; SILVA, J. M. C.; HIROTA, M. M.; BEDÊ, L. C. Desafios e oportunidades para a conservação da biodiversidade na Mata Atlântica brasileira. **Megadiversidade**, v. 1, p. 132-138, 2005.
- TURCHETTO-ZOLET, A. C.; CRUZ, F.; VENDRAMIN, G. G.; SIMON, M. F.; SALGUEIRO, F.; MARGIS-PINHEIRO, M.; MARGIS, R. Large-scale phylogeography of the disjunct Neotropical tree species *Schizolobium parahyba* (Fabaceae – Caesalpinioideae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 65, p. 174-182, 2012.
- WEISING, K.; NYBOM, H.; WOLFF, K.; KAHL, G. **DNA Fingerprinting in plants, principles, methods, and applications**. 2ª Edição. Boca Raton: CRC Press, 2005. 444 p.
- WILSON, M.; GAUT, B.; CLEGG, M. Chloroplast DNA evolves slowly in the palm family (Arecaceae). **Molecular Biology and Evolution**, v. 7, p. 303-314, 1990.
- YANG, J. B.; TANG, M.; LI, H. T.; ZHANG, Z. R.; LI, D. Z. Complete chloroplast genome of the genus *Cymbidium*: lights into the species identification, phylogenetic implications and population genetic analyses. **BMC Evolutionary Biology**, v. 13, n. 84, 2013.

4. CAPÍTULO I

Artigo publicado no periódico Plant Systematics and Evolution, v. 300, p 1111-1122, 2014
(ISSN: 0378-2697):

Chromosomal diversity in *Philodendron* (Araceae): taxonomic significance and a critical review

Chromosomal diversity in *Philodendron* (Araceae): taxonomic significance and a critical review

Mario Correia-da-Silva · Santelmo Vasconcelos ·
Maria de Lourdes da Costa Soares ·
Simon Joseph Mayo · Ana Maria Benko-Iseppon

Received: 25 July 2013 / Accepted: 2 November 2013 / Published online: 11 December 2013
© Springer-Verlag Wien 2013

Abstract The genus *Philodendron* is a highly diverse Neotropical group of the monocot family Araceae. Despite chromosome counts being relatively abundant for the family, information on the karyotype evolution within the genus is still scarce and very confusing. Therefore, we report diploid numbers and additional cytological features for 43 species of *Philodendron*, discussing the importance of our results and reviewing previous data. Species were collected in four different Brazilian biomes (Caatinga, Cerrado, Amazon basin and Atlantic Forest) and chromosome counts were based on Giemsa standard staining procedures. First chromosome counts are given for 35 species, while for another eight species counts are reported

for new provenances. The majority of the species (27) presented the diploid number of $2n = 32$, while the number $2n = 34$, the second most frequent, was observed in eight taxa. Uncommon chromosome numbers were observed for seven species: *P. callosum* and *P. uliginosum* with $2n = 28$, *P. hastatum* and *P. melinonii* with $2n = 30$, *P. corcovadense* and *P. saxicola* with $2n = 36$ and *P. brevispathum* with $2n = 40$. On the other hand, two species showed variation in chromosome numbers among analysed cells: *P. insigne* with $2n = 30–32$ and *P. pulchrum* with $2n = 26–28$. Regarding chromosome morphologies, a prevalence of submetacentric and metacentric pairs could be observed in most species, with some taxa having a tendency to asymmetry and a higher number of acrocentric pairs. A list of all available chromosomal data is presented, considering the actual taxonomic circumscription and synonyms. Considering the present analysis and the literature data, we suggest $n = 16$ instead of $n = 18$ as the primary basic number of the genus, from which secondary base numbers $n = 17$, 18 and (less frequently) 15, 14 and 13 have probably been derived. Dysploidy seems to be the prevalent karyoevolutionary trend within the genus.

M. Correia-da-Silva and S. Vasconcelos contributed equally to this work.

M. Correia-da-Silva · S. Vasconcelos ·
A. M. Benko-Iseppon (✉)
Department of Genetics, Universidade Federal de Pernambuco,
Av. da Engenharia s/n, Recife, Pernambuco CEP 50740-600,
Brazil
e-mail: ana.benko.iseppon@cnpq.pq.br

S. Vasconcelos
e-mail: santelmoivasconcelos@gmail.com

S. Vasconcelos
Department of Botany, Universidade Federal de Pernambuco,
Rua Prof. Nelson Chaves s/n, Recife,
Pernambuco CEP 50670-901, Brazil

M. L. C. Soares
Department of Botany, Instituto Nacional de Pesquisas da
Amazônia-INPA, Av. André Araújo 2936, Manaus,
Amazonas CEP 69060-001, Brazil

S. J. Mayo
Herbarium, Royal Botanic Gardens, Kew,
Richmond TW9 3AE, UK

Keywords Aroids · Dysploidy · Chromosome count · Karyoevolution · Caatinga · Cerrado · Amazon Forest · Atlantic Forest

Introduction

The family Araceae (Alismatales) is one of the largest monocot groups, including 117 genera and approximately 3,800 species (Boyce and Croat 2011). The group is widely distributed in temperate regions and in tropical Asia, although the majority of the species occurs in the New

World, where both the genera *Philodendron* (ca. 500 spp.) and *Anthurium* (ca. 1,000 spp.) are endemic (Mayo et al. 1997; Govaerts et al. 2002; The Plant List 2010). The family is well represented in Brazil, where 36 genera and about 473 species occur, from which six and 243, respectively, are endemic, probably being the country with the highest Araceae diversity (Coelho et al. 2013).

Philodendron species are considered very important elements of Neotropical rainforests (Mayo 1991; Grayum 1996; Croat 1997; Mayo et al. 1997). In addition, many species are used in home and interior decoration, thus having high economic and horticultural value. Three monophyletic subgenera can easily be recognised by means of morphological (both vegetative and floral) and molecular characters (see Mayo 1986; Gauthier et al. 2008): *P. subg. Meconostigma* (21 spp.), *P. subg. Pteromischum* (77 spp.) and *P. subg. Philodendron* (ca. 400 spp.).

Chromosome counts for Araceae species are relatively abundant, when compared to other predominantly Neotropical groups, with almost 900 analysed species (Bogner and Petersen 2007), comprising approximately 26 % of the known species. However, in general, there are just a few cytogenetic analyses of species from tropical America. Considering only the genus *Philodendron*, chromosome counts are restricted to approximately 6 % of the ca. 500 accepted taxa (Petersen 1989; Cotias-de-Oliveira et al. 1999). Most of the previously analysed species were studied by Jones (1957), who reported chromosome counts for 22 accepted species and four hybrids, observing a prevalence for the chromosome number of $2n = 34$ (16 spp.), followed by $2n = 36$ (four spp.), $2n = 32$ (two spp.) and $2n = 30$ (one sp.).

Most previous cytogenetic analyses with Araceae taxa are restricted to chromosome counts, with just a few karyomorphological descriptions. Thus, in addition to a critical review of the available information for *Philodendron* species, we present new data regarding karyotype features such as diploid numbers, type of interphase nucleus and chromosome morphology for 43 species of the genus, with emphasis on populations from highly diverse, but previously poorly sampled areas, such as the Caatinga, Cerrado, Amazon basin and Atlantic Forest.

Materials and methods

All plant materials were collected in their respective sites of natural occurrence, which included eight Brazilian states: two from the Northern region, Amazonas (Central Amazonia, Adolpho Ducke Reserve, Manaus; Central Amazonia, Cachoeira de Iracema and Uatumã Reserve, Presidente Figueiredo; and INPA campus, Manaus) and Pará (Eastern Amazon, Caxiuanã National Forest,

Melgaço), three from the Northeastern region, Alagoas (urban fragment of Atlantic Forest, Maceió), Bahia (urban fragment of Atlantic Forest, Ilhéus; *campos rupestres* of Caatinga, Lençóis, Mucugê and Palmeiras) and Pernambuco (Atlantic Forest, Gurjaú Ecological Reserve, Cabo de Santo Agostinho; and Caatinga, moist forest enclave, Taquaritinga do Norte), and three from the Southeastern region, Espírito Santo (Atlantic Forest, Santa Lúcia Biological Station, Santa Teresa; and Atlantic Forest, Mestre Álvaro Reserve, Serra), Minas Gerais (*campos rupestres* of Cerrado, Serra do Cipó, Itambé do Mato Dentro) and Rio de Janeiro (Atlantic Forest, Tijuca National Park, Rio de Janeiro). Table 1 presents a list of collected taxa with respective accession numbers and provenances.

For cytological analysis, vegetative branches of living individuals (rarely entire individuals) were collected in the field and transported to the greenhouse of the Department of Genetics in the Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brazil) for cultivation, using a mixture of three parts of coconut powder and one part of soil as substrate.

Root tips were collected, pre-treated with 8-hydroxyquinoline (2 mM) at 10 °C for 21–23 h, fixated in Carnoy (3:1 ethanol:acetic acid, v/v) at room temperature (ca. 25 °C) for 4–24 h and stored at –20 °C as described by Benko-Iseppon and Morawetz (2000). Fixated root tips were digested for 40 min at 37 °C in an enzymatic solution containing 2 % (w/v) cellulase ('Onozuka R-10', Serva) and 20 % (v/v) pectinase (Sigma-Aldrich), hydrolysed in HCl 5N for 20 min at room temperature and squashed in a drop of 45 % acetic acid. Chromosome preparations were stained with 2 % Giemsa for 10–15 min and then mounted with Entellan (Merck).

Cell images were acquired with a Leica DMLB epifluorescence microscope and a Leica DFC 340FX camera with the Leica CW4000 software. Due to the small chromosome sizes of most analysed karyotypes, at least ten good metaphase and/or prometaphase spreads were examined to avoid miscounts. Chromosome sizes of the five best metaphase cells with homogeneous chromatin condensing pattern were measured with the UTHSCSA ImageTool 3.00 software or manually from enlarged photographs of known magnification. For some species, however, no measurements were taken, since only cells in prometaphase were observed. Classification of interphase nuclei types and chromosome condensing behaviour followed Guerra (1987) and Benko-Iseppon and Morawetz (1993, 2000), respectively.

Results

The present study included chromosome counts of 43 species of *Philodendron* collected in Brazil (Table 1). In

Table 1 Karyotypic features of all species of *Philodendron* analysed to date, including data from previous chromosome counts

Taxon ^a	Accessions and provenances ^b	2n ^c	n ^e	RCS ^d (μm)	PCM ^e	References
<i>Philodendron</i> subg. <i>Meconostigma</i> (Schott) Engler						
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott	–	36	–	–	–	Jones (1957)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott	–	–	18	–	–	Pfitzer (1957)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K. Koch]	–	36	–	–	–	Jones (1957)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K. Koch]	–	(34)	–	–	–	Tsuchiya and Takada (1962)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K. Koch]	–	(32)	–	–	–	Sharma and Bhattacharya (1966)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K. Koch]	–	(32)	–	–	–	Chandhuri and Sharma (1979)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K. Koch]	–	(48)	–	–	–	Subramanian and Munian (1988)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K. Koch]	–	(32)	–	–	–	Mohamed et al. (2006)
<i>P. conovindense</i> Kunth	SV314 (TN)	36	–	–	–	Present work
<i>P. goeldii</i> G.M.Barroso	MC098 (RD)	32	–	–	–	Present work
<i>P. lundii</i> Warm.	–	36	–	–	–	Jones (1957)
<i>P. saxicola</i> K.Krause	AMB11513 (MU)	36	–	–	–	Present work
<i>P. sollmoesense</i> A.C.Smith	MC121 (CX)	32	–	–	–	Present work
<i>P. speciosum</i> Schott	–	36	–	–	–	Jones (1957)
<i>P. uliginosum</i> Mayo	–	28	–	1.5–3.0	7 m, 4 a, 3 sm	Present work
<i>P. undulatum</i> Engl.	AMB1074 (ID)	36	–	–	–	Jones (1957)
<i>P. undulatum</i> Engl.	–	–	18	–	–	Pfitzer (1957)
<i>P.</i> subg. <i>Philodendron</i> Engler						
Sect. <i>Baurista</i> Reichb.						
<i>P. callosum</i> K.Krause	SV022 (PF)	28	–	–	–	Present work
<i>P. crassinervium</i> Lindl.	LSBC176 (FT)	32	–	1.6–3.3	–	Present work
<i>P. insigne</i> Schott	MC086 (RD); MC321 (LE)	30–32	–	1.5–3.5	–	Present work
<i>P. linnaei</i> Kunth	MC078 (RD); MC118 (CX); MC128 (CX); MC322 (CX); MC323 (CX)	32	–	1.8–3.9	m	Present work
<i>P. martianum</i> Engl. [as <i>P. camifolium</i> Mart. ex Kunth] ^f	–	34	–	–	–	Jones (1957)
<i>P. panduriforme</i> (Kunth) Kunth	–	34	–	–	–	Jones (1957)
Sect. <i>Macrobolium</i> (Schott) Sakur.						
<i>P. acutatum</i> Schott	MC138 (CX)	32	–	–	–	Present work
<i>P. acutatum</i> Schott [as <i>P. inibe</i> Schott]	–	(34)	–	–	–	Jones (1957)
<i>P. acutatum</i> Schott [as <i>P. inibe</i> Schott]	–	–	(17)	–	–	Pfitzer (1957)
<i>P. acutatum</i> Schott [as <i>P. inibe</i> Schott]	–	(34)	–	–	–	Tsuchiya and Takada (1962)
<i>P. acutatum</i> Schott [as <i>P. inibe</i> Schott]	–	32	–	–	–	Cotias-de-Oliveira et al. (1999)
<i>P. bernardopazii</i> E.G.Gonç.	–	34	–	–	–	Present work
<i>P. cipoense</i> Sakuragui & Mayo	LSBC186 (SL)	32	–	2.5–3.0	8 sm, 2 m, 6 a	Present work
<i>P. cordatum</i> Kunth ex Schott	AMB1061 (ID)	34	–	–	–	Jones (1957)
<i>P. erubescens</i> K.Koch & Augustin	–	32	–	–	–	Sharma and Mukhopadhyay (1965)

Table 1 continued

Taxon ^a	Accessions and provenances ^b	2n ^c	n ^c	RCS ^d (µm)	PCM ^e	References
<i>P. eximium</i> Schott	SV293 (TN)	32	—	—	—	Present work
<i>P. hastatum</i> K.Koch & Sello	LSBC177 (FT)	30	—	1.2–2.5	—	Present work
<i>P. hastatum</i> K.Koch & Sello	—	(34)	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. hastatum</i> K.Koch & Sello	—	30	—	—	—	Mohamed et al. (2006)
<i>P. hatschbachii</i> Nadruz & Mayo	RV991 (ME)	34	—	—	—	Present work
<i>P. microstictum</i> Standl. & L.O.Williams [as <i>P. pitieri</i> Engl. ^g]	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. pachyphyllum</i> K.Krause	MC153 (PM); MC324 (LE)	34	—	—	sm, m, a	Present work
<i>P. pachyphyllum</i> K.Krause	—	34	—	—	—	Cotias-de-Oliveira et al. (1999)
<i>P. rhizomatosum</i> Sakur. & Mayo	AMB1067 (ID)	32	—	1.6–2.7	m, sm	Present work
<i>P. sphaerum</i> Schott	MC325 (RD); MC161 (DR); MC326 (RD)	32	—	—	sm, m	Present work
<i>P. wendlandii</i> Schott	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. wendlandii</i> Schott	—	(54)	—	—	—	Subramanian and Munian (1988)
<i>P. witium</i> Engl.	MC327 (RD); MC328 (RD); MC329 (RD); MC330 (RD); MC127 (CX)	32	—	1.8–4.3	m, sm	Present work
Sect. <i>Philodendron</i> (Jacq.) Schott						
<i>P. asplundii</i> Croat & M.L.Soures	MC095 (RD)	34	—	1.8–3.8	sm, m	Present work
<i>P. billietiae</i> Croat	MC091 (RD)	32	—	1.8–3.8	sm, a, m	Present work
<i>P. blanchetianum</i> Schott	MC331 (GJ); MC332 (MO)	34	—	—	sm, m, a	Present work
<i>P. blanchetianum</i> Schott	—	34	—	—	—	Cotias-de-Oliveira et al. (1999)
<i>P. brevspathum</i> Schott	MC092 (RD); MC157 (RD)	40	—	1.8–4.6	sm, m	Present work
<i>P. devansayanum</i> L.Linden	—	30	—	—	—	Mohamed et al. (2006)
<i>P. fragrantissimum</i> (Hook.) G.Don	MC082 (RD); MC333 (CX); MC334 (CX); MC117 (CX); MC335 (CX); MC336 (IL)	32	—	1.8–2.8	m	Present work
<i>P. geniculatum</i> Bogner & Croat	—	34–36	—	—	—	Bogner and Croat (2012)
<i>P. giganteum</i> Schott	—	30	—	—	—	Simmonds (1954)
<i>P. giganteum</i> Schott	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. grandifolium</i> (Jacq.) Schott	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	MC337 (LE)	32	—	—	sm, m	Present work
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott [as <i>P. cuspidatum</i> K.Koch & C.D.Bouché]	—	(30)	—	—	—	Sharma and Mukhopadhyay (1965)
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott [as <i>P. cuspidatum</i> K.Koch & C.D.Bouché]	—	(36)	—	—	—	Chaudhuri and Sharma (1979)
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott [as <i>P. micans</i> Klotzsch ex K.Koch]	—	32	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott [as <i>P. oxycardium</i> Schott]	—	(30)	—	—	—	Chen et al. (2003)
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott [as <i>P. scandens</i> C.Coch & Sello]	—	32	—	—	—	Marchant (1971)
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott [as <i>P. scandens</i> C.Coch & Sello]	—	(30)	—	—	—	Subramanian and Munian (1988)
<i>P. hopkinsianum</i> M.L.Soures & Mayo	MC338 (RD)	32	—	1.5–3.6	sm, m	Present work

Table 1 continued

Taxon ^a	Accessions and provenances ^b	2n ^c	n ^c	RCS ^d (μm)	PCM ^e	References
<i>P. megaphyllum</i> Schott	MC094 (RD); MC159 (RD); MC156 (RD)	34	—	1.3–2.8	sm, m	Present work
<i>P. melanochrysium</i> Linden & André [as <i>P. andreaeanum</i> Devansaye]	—	34	—	—	—	Matsura and Suto (1935)
<i>P. melanochrysium</i> Linden & André [as <i>P. andreaeanum</i> Devansaye]	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. melanochrysium</i> Linden & André [as <i>P. andreaeanum</i> Devansaye]	—	32	—	—	—	Sharma (1970)
<i>P. melinonii</i> Brongn. ex Regel	MC085 (RD); MC139 (CX); MC339 (CX); MC114 (CX)	30	—	1.8–3.3	sm, m	Present work
<i>P. melinonii</i> Brongn. ex Regel	—	30	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. ornatum</i> Schott	MC178 (RD); MC340 (RD)	34	—	1.8–3.3	sm, m	Present work
<i>P. toshibai</i> M.L. Soares & Mayo	MC341 (RD); MC169 (RD)	34	—	1.3–3.0	m	Present work
<i>P. verrucosum</i> L. Mathieu ex Schott	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. verrucosum</i> L. Mathieu ex Schott	—	—	17	—	—	Pfitzer (1957)
Sect. <i>Philipsianus</i> G.S. Bunting	—	—	—	—	—	—
<i>P. pulchrum</i> G.M. Barroso	MC342 (RD)	26–28	—	1.2–3.5	sm, m	Present work
Sect. <i>Polytonium</i> (Schott) Engler	—	—	—	—	—	—
<i>P. distantilobum</i> K. Krause	SV318 (UT)	32	—	—	—	Present work
<i>P. houlletianum</i> Engl.	—	32	—	—	—	Malvesin-Fabre (1945)
<i>P. lacerum</i> (Jacq.) Schott	—	36	—	—	—	Sharma and Mukhopadhyay (1965)
<i>P. radiatum</i> Schott	—	32	—	—	—	Mookerjee (1955)
<i>P. radiatum</i> Schott	—	(32 + 1B) ^b	—	—	—	Sharma (1956)
<i>P. tortum</i> M.L. Soares & Mayo	MC176 (RD); MC343 (RD); MC344 (RD)	32	—	—	sm	Present work
<i>P. warszewiczii</i> K. Koch & C.D. Bouché	—	34	—	—	—	Jones (1957)
Sect. <i>Schizophyllum</i> (Schott) Engler	—	—	—	—	—	—
<i>P. bipennifolium</i> Schott	SV307 (IP)	32	—	—	—	Present work
<i>P. nadruzianum</i> Sakur.	LSBC175 (FT)	32	—	1.5–3.0	—	Present work
<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	MC081 (RD); MC345 (RD); MC141 (CX); MC346 (MO); MC347 (LE)	32	—	1.5–2.6	sm, m	Present work
<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	—	32	—	—	—	Cotias-de-Oliveira et al. (1999)
<i>P. pedatum</i> (W. J. Hooker) Kunth [as <i>P. laciniosum</i> Schott]	—	32	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. pedatum</i> (W. J. Hooker) Kunth [as <i>P. quercifolium</i> Engl.]	—	(34)	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. quinquelobum</i> K. Krause	MC080 (RD); MC171 (RD)	32	—	1.5–3.5	m, a	Present work
<i>P. squamiferum</i> Poepp.	MC348 (CX); MC349 (CX)	32	—	—	sm, m	Present work
<i>P. squamiferum</i> Poepp.	—	(34)	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. squamiferum</i> Poepp.	—	32	—	—	—	Sharma and Mukhopadhyay (1965)
<i>P. squamiferum</i> Poepp.	—	(26)	—	—	—	Catalano and Landi (1966)
Sect. <i>Tritomophyllum</i> Schott	—	—	—	—	—	—

Table 1 continued

Taxon ^a	Accessions and provenances ^b	2n ^c	n ^c	RCS ^d (µm)	PCM ^e	References
<i>P. burrossianum</i> G.S.Bunting	MC107 (RD); MC170 (RD); MC167 (RD)	32	—	2.9–4.6	sm, m, a	Present work
<i>P. hylaeae</i> G.S.Bunting	MC350 (RD); MC166 (RD); MC174 (RD)	32	—	1.8–3.2	sm, m	Present work
Unplaced						
<i>P. elaphoglossoides</i> Schott	MC175 (RD); MC351 (RD); MC172 (RD)	32	—	—	—	Present work
<i>P. gloriosum</i> André	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P. gloriosum</i> André	—	33	—	—	—	Sharma and Mukhopadhyay (1965)
<i>P. rugosum</i> Bogner & G.S.Bunting	—	36	—	—	—	Bogner and Bunting (1983)
<i>P. rugosum</i> Bogner & G.S.Bunting	—	36	—	—	—	Petersen (1989)
<i>P. sodiroi</i> Hort.	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P.</i> subg. <i>Pteromischum</i> (Schott) Mayo						
Sect. <i>Fruticosa</i> Grayum						
<i>P. rudgeanum</i> Schott	MC352 (CX); MC353 (CX); MC354 (CX); MC355 (LE)	32	—	—	sm	Present work
<i>P. surinamense</i> (Miq.) Engl.	MC356 (RD); MC357 (RD); MC358 (CX); MC359 (CX); MC360 (CX)	32	—	—	sm, m	Present work
Cultivated hybrids						
<i>P.</i> × <i>fosterianum</i>	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P.</i> × <i>macneilianum</i>	—	36	—	—	—	Jones (1957)
<i>P.</i> × <i>mandanianum</i> × <i>P. wendlandii</i>	—	34	—	—	—	Jones (1957)
<i>P.</i> × <i>partenopaeum</i> (<i>P. erubescens</i> × <i>P. eximium</i>)	—	33	—	—	—	Catalano et al. (1964)
<i>P.</i> × <i>pausilypum</i> (<i>P. eximium</i> × <i>P. squamiferum</i>)	—	30	—	—	—	Catalano and Landi (1966)
<i>P.</i> × <i>wendimbe</i>	—	34	—	—	—	Jones (1957)

^a Taxonomic affiliations were based on Mayo (1986), Grayum (1996), Croat (1997) and Sakuragai et al. (2005)^b Collection site of the Brazilian samples: (CX) Caxiuanã National Forest, Melgaço, Pará; (FT) Tijuca National Park, Atlantic Forest, Rio de Janeiro; (GJ) Gurjaú Ecological Reserve, Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco; (ID) Atlantic Forest fragment, Iambé do Mato Dentro, Minas Gerais; (IL) Atlantic Forest fragment, Ilhéus, Bahia; (IP) INPA campus, Manaus, Amazonas; (LE) *campos rupestres* of Caatinga, Lençóis, Bahia; (ME) Mestre Alvaro Reserve, Serra, Espírito Santo; (MO) Atlantic Forest fragment, Maceió, Alagoas; (MU) *campos rupestres* of Caatinga, Mucugê, Bahia; (PF) Cachoeira de Iracema, Presidente Figueiredo, Amazonas; (PM) *campos rupestres* of Caatinga, Palmeiras, Bahia; (RD) Adolpho Ducke Reserve, Manaus, Amazonas; (SL) Santa Lúcia Biological Station, Santa Teresa, Espírito Santo; (TN) moist forest enclave of Caatinga, Taquaritinga do Norte, Pernambuco; (UT) Uatumbá Reserve, Presidente Figueiredo, Amazonas^c Confirmed chromosome numbers are in boldface; numbers between brackets may be associated either to miscounts or misidentification of specimens^d Range of chromosome sizes (RCS)^e Prevalent chromosome morphology (PCM): metacentric (m), submetacentric (sm) and acrocentric (a)^f According to Grayum (1996)^g According to Croat (1997)^h According to Marchant (1971), the occurrence of B chromosomes in karyotypes of *Philodendron* species seems to be very unlikely

most cases, individuals of a given species were sampled from a single population, whereas, individuals of some species were collected from distantly located populations, as indicated in Table 1. Thus, although polymorphisms were sought among geographically distant populations, no cytological variants were observed within these selected species.

The interphase nuclei of all species were characterised as semi-reticulated (Fig. 1a, b, e, i), with slight differences regarding size, number, morphology and distribution of the chromocenters. These were mostly grouped in cloud-like formations, which were irregularly distributed in the nucleus of some karyotypes and polarised in other species, occupying up to 1/3 of the nuclear area (e.g. Fig. 1e). Chromosome condensing behaviour was mainly proximal (e.g. Fig. 1b, h), although some species presented a single chromosome pair with early condensing terminal blocks (e.g. *P. blanchetianum*, Fig. 1h). The diploid number $2n = 32$ was observed for 27 species: *P. acutatum*, *P. barrosoanum*, *P. billietiae* (Fig. 1b), *P. bipennifolium*, *P. cipoense*, *P. crassinervium*, *P. distantilobum*, *P. elaphoglossoides*, *P. eximium*, *P. fragrantissimum* (Fig. 1c), *P. goeldii*, *P. hederaceum* (Fig. 1d), *P. hopkinsianum*, *P. hylaeae* (Fig. 1e), *P. linnaei*, *P. nadruzianum*, *P. pedatum* (Fig. 2a), *P. quinquelobum*, *P. rhizomatosum*, *P. rudgeanum*, *P. solimoense* (Fig. 1f), *P. sphalerum*, *P. squamiferum* (Fig. 1g), *P. surinamense*, *P. tortum* and *P. wittianum*. The second most frequent chromosome number was $2n = 34$, which was observed in eight species: *P. asplundii*, *P. bernardopazii*, *P. blanchetianum* (Fig. 1h), *P. hatschbachii*, *P. megalophyllum*, *P. ornatum*, *P. pachyphyllum* and *P. toshibai* (Fig. 1i). Only seven species presented uncommon diploid numbers: *P. callosum* (Fig. 2b) and *P. uliginosum* with $2n = 28$, *P. hastatum* (Fig. 1j) and *P. melinonii* (Figs. 1k, 2c) with $2n = 30$, *P. corcovadense* (Fig. 1l) and *P. saxicola* with $2n = 36$ and *P. brevispatum* (Fig. 2d) with $2n = 40$. In addition, it was difficult to establish a precise number for *P. insigne* ($2n = 30\text{--}32$) and *P. pulchrum* ($2n = 26\text{--}28$), even with more than 30 cells analysed for both species.

A prevalence of submetacentric chromosomes was observed in almost all analysed species, even though meta- and acrocentric chromosomes were also noticed, being sometimes prevalent as in *P. uliginosum* (Table 1). In general, karyotypes were symmetric and presented a gradual decrease in chromosome size (Figs. 1, 2). On the other hand, the chromosomes of *P. melinonii* ($2n = 30$; Figs. 1k, 2c) showed a distinct morphological pattern, with a single large metacentric pair, similar to that observed for *P. pulchrum* ($2n = 26\text{--}28$), which showed a bimodal karyotype with half of karyotype being composed of comparatively large chromosomes. As regards chromosome measurements, *P. barrosoanum* ($2n = 32$) had the

largest chromosomes, ranging from 2.9 to 4.6 μm , while *P. pedatum* ($2n = 32$) had the smallest chromosome pairs, ranging from 1.5 to 2.6 μm (Table 1).

Discussion

Despite the great number and importance of *Philodendron* species for almost all Neotropical biomes, very little is known about the karyotype evolution of the genus. Taking into account the relative ease in obtaining good cytogenetic preparations (with minor changes in well-established protocols), it is astonishing that only 30 out of ca. 500 species (ca. 6 %) have previous chromosome counts available, far below the average percentage for the family (26 %; see Cusimano et al. 2012 and references within). The last paper to present new diploid numbers for *Philodendron* species was published almost 15 years ago (Cotias-de-Oliveira et al. 1999), 16 years after its predecessor, the classic work of Bogner and Bunting (1983). However, Mohamed et al. (2006) published three chromosome counts, although the only new one was for the poorly known *P. devansayanum*, and with no karyotype description or pictures (Table 1). Also, many of the previous evaluations were carried out with materials from ex situ glasshouse collections, conditions that may favour hybridization.

In the present analysis, the diploid number $2n = 32$ was the new prevalent one (30 spp.), which greatly exceeds the $2n = 34$ (18 spp.), taking into account only non-dubious counts. Jones (1957) presented chromosome counts for 21 *Philodendron* natural accessions and four cultivated hybrids (Table 1) in her PhD thesis, in which the number $2n = 34$ appeared 19 times. However, part of the material analysed by the cited author consisted of either misidentified or synonymized taxa (see Table 1). In addition, another part of these counts were not confirmed by later analyses, as in the case of *P. hastatum*, for which we (as well as Mohamed et al. 2006) have observed $2n = 30$ chromosomes, instead of the $2n = 34$ previously reported by Jones (1957) (Table 1). In fact, only ten of the accepted names associated with previous counts of $2n = 34$ have not yet been disagreed: *P. blanchetianum*, *P. cordatum*, *P. gloriosum*, *P. grandifolium*, *P. martianum* (as *P. cannifolium*), *P. microstictum* (as *P. pittieri*), *P. pachyphyllum*, *P. panduriforme*, *P. sodiroi* and *P. warszewiczii* (Table 1). Therefore, the idea that the number $2n = 34$ is of major evolutionary importance within the genus should be viewed with caution, since it seems that other diploid numbers may be present in a higher proportion of species.

One obvious concern in the misidentification of specimens is the likelihood of confusion generated in later studies. Grayum (1996) avoided a misinterpretation of *P. cannifolium* ($2n = 34$), a name that was wrongly used by

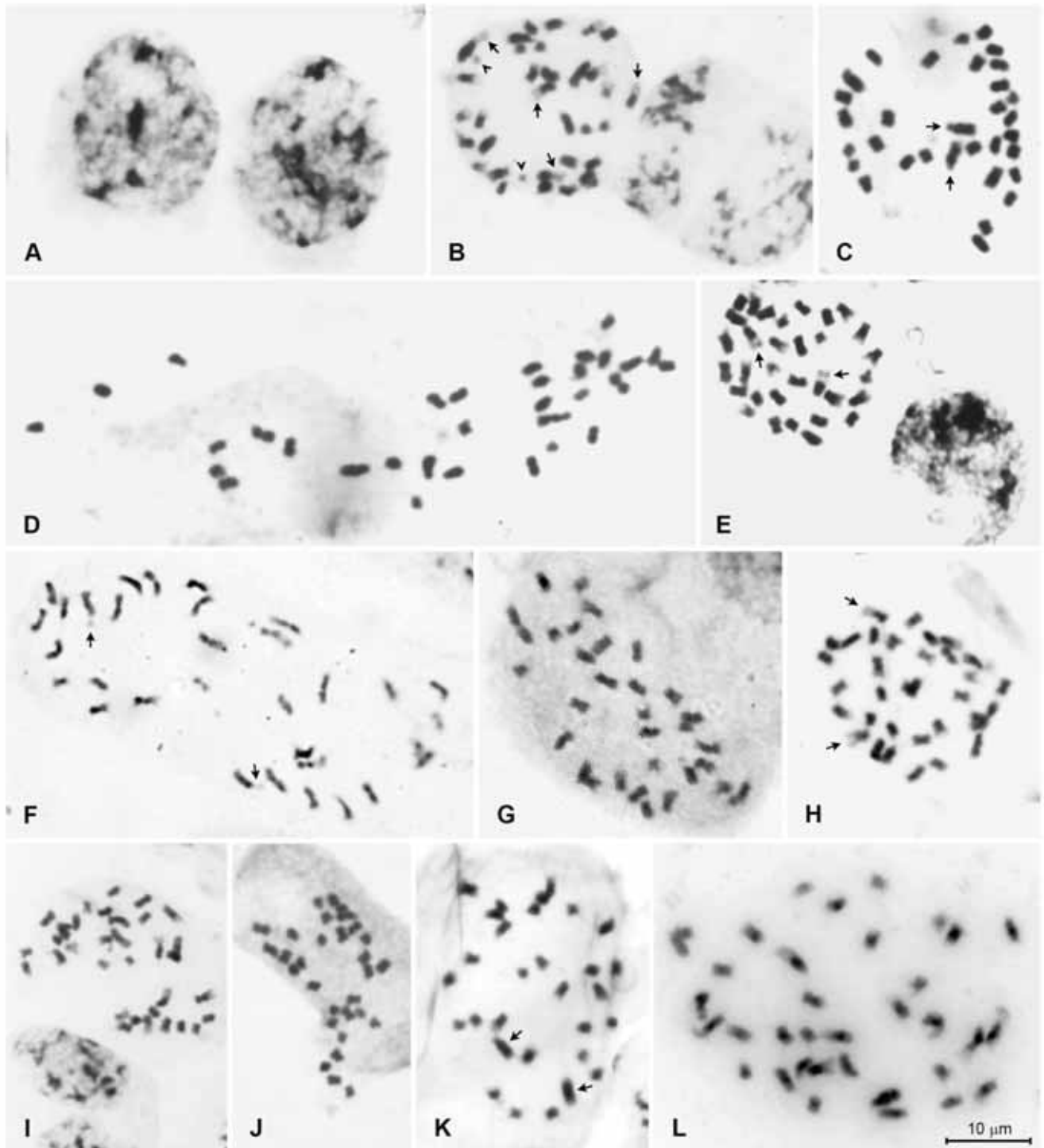


Fig. 1 Standard staining of interphase nuclei and mitotic chromosomes of *Philodendron* species. *Philodendron insigne* (a); *P. billietiae* (2n = 32; b); *P. fragrantissimum* (2n = 32; c); *P. hederaceum* (2n = 32; d); *P. hylaeae* (2n = 32; e); *P. solimoesense* (2n = 32; f); *P. squamiferum* (2n = 32; g); *P. blanchetianum*

(2n = 34; h); *P. toshibai* (2n = 34; i); *P. hastatum* (2n = 30; j); *P. melinonii* (2n = 30; k); and *P. corcovadense* (2n = 36; l). Arrows in b, c, e, f and h indicate satellited chromosomes. Arrowheads in b indicate detached satellites

Jones (1957), when revising published chromosome counts for species of *P.* subg. *Pteromischum*. According to Grayum (1996), the descriptions of the material analysed by

Jones (1957) indicated a correct identification of *P. martianum* (a species of *P.* subg. *Philodendron* sect. *Baursia*), previously known, especially in horticulture, as *P.*

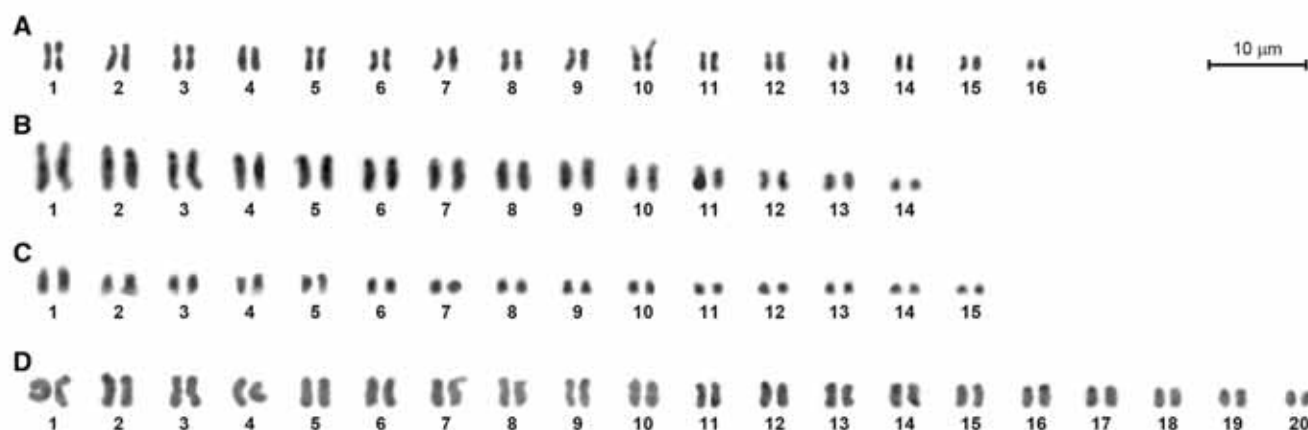


Fig. 2 Caryograms of *Philodendron* species based on mitotic metaphase cells. *Philodendron pedatum* ($2n = 32$; a); *P. callosum* ($2n = 28$; b); *P. melinonii* ($2n = 30$; c); *P. brevispathum* ($2n = 40$; d)

cannifolium Mart. ex Kunth (Moore 1974); the name *P. cannifolium* Engl. is a synonym of *P. rudgeanum* Engl. ($2n = 32$; *P.* subg. *Pteromischum* sect. *Fruticosa*).

Mayo and Sakuragui (2011) recommended avoiding the use of the name *P. imbe*, since this species seems to be very rare and endemic to the state of Rio de Janeiro (Brazil). Indeed, after its second collection in the mid XIX century, there has been no later collection of *P. imbe*. The name has been widely used for *P. appendiculatum* and, more frequently, *P. acutatum* (Mayo and Sakuragui 2011). Due to the more limited occurrence of *P. appendiculatum* (a relatively recently described species), besides its unique floral characteristics, we believe that all chromosome counts attributed to *P. imbe* were probably of *P. acutatum* specimens. However, the results obtained for *P. acutatum* in the present analysis ($2n = 32$) confirm only the diploid number described by Cotias-de-Oliveira et al. (1999), which was also different from other previous counts (Table 1). This difference may be attributed either to miscounts or, more probably in this case, to wrongly identified materials in the three older analyses (see Table 1).

Philodendron hederaceum is another problematic species due to the existence of several different names that were attributed either to morphological variants or misinterpreted herbarium materials (see Croat 1997). Therefore, the available diploid numbers for *P. cuspidatum* ($2n = 30$), *P. micans* ($2n = 32$), *P. oxycardium* ($2n = 30$) and *P. scandens* ($2n = 32$) should be regarded as chromosome counts for *P. hederaceum*. When comparing our results with the previous reports for the species, only Jones (1957) and Marchant (1971) obtained the same $2n = 32$, in contrast to the $2n = 30$ obtained by Sharma and Mukhopadhyay (1965), Subramanian and Muníán (1988) and Chen et al. (2003) (Table 1). However, in this case, it is difficult to associate the differences among chromosome counts either to polymorphisms among morphological variants,

wrong sample identifications in previous analyses, or miscounts. Although there is a third different chromosome number for *P. pittieri* (another synonym for *P. hederaceum*), Croat (1997) attributed this count of $2n = 34$ (Jones 1957) to *P. microstictum* (Table 1).

In the case of *P. pedatum*, we can undoubtedly affirm that there was no chromosome number variation among the four analysed populations, even considering the two different biomes in which the species occurs (the Amazon basin and Atlantic Forest). Our results showed the same diploid number ($2n = 32$) for all sampled individuals from geographically distant locations, such as the states of Amazonas, Pará (both from northern Brazil), Alagoas and Bahia (both from northeastern Brazil). Similarly, Cotias-de-Oliveira et al. (1999) observed the number $2n = 32$ for an individual of *P. pedatum* from another location in the state of Bahia. On the other hand, it is noteworthy that Jones (1957) obtained different counts for two taxa which are synonymies of this species, being $2n = 32$ for *P. laciniatum* and $2n = 34$ for *P. quercifolium* (Table 1). Thus, as suggested for other results from this author, it is very likely that a miscount occurred with those specimens identified as *P. quercifolium*, taking into account that the species of *P.* subg. *Philodendron* sect. *Schizophyllum* have so far been found to have the same diploid number ($2n = 32$; Table 1).

Very uncommon chromosome numbers obtained for long-term cultivated specimens, as seems to be the case for the $2n = 54$ reported for *P. wendlandii* by Subramanian and Muníán (1988), should not be taken into account. Due to the possibility of hybridization during cultivation, these counts may differ significantly from the natural diploid number of the species. It is more likely that $2n = 34$, previously observed by Jones (1957), is the correct number for *P. wendlandii*. *Philodendron squamiferum* is another species for which an unusual chromosome count was

reported ($2n = 26$; Catalano and Landi 1966). However, we found a very common number for this species ($2n = 32$), confirming the results obtained by Sharma and Mukhopadhyay (1965), which also disagreed with the first chromosome count for the species ($2n = 34$; Jones 1957). In the case of species with a single available count, we have confirmed the chromosome numbers only for *P. hastatum* ($2n = 30$; Mohamed et al. 2006), *P. melinonii* ($2n = 30$; Jones 1957), *P. blanchetianum* and *P. pachyphyllum* (both with $2n = 34$; Cotias-de-Oliveira et al. 1999). As previously commented, the simple determination of diploid numbers for *Philodendron* species requires special attention during the analysis of the chromosome preparations. It is widely known that counts based on just a few cells may lead to misinterpretation of the real chromosome numbers, since chromosomes of some species become sticky after the mitotic arrest with drugs such as 8-HQ and colchicine. Besides, there may be cases when chromosome satellites form highly distended secondary constrictions, which tend to detach during the preparation of slides. Therefore, for two species—*P. insigne* ($2n = 30$ – 32) and *P. pulchrum* ($2n = 26$ – 28)—we prefer to report the two most frequently observed counts.

Among the species here analysed, *P. pulchrum* deserves a special attention due to both the very uncommon number $2n = 26$ – 28 (most frequently $2n = 26$) and the bimodal karyotype. The occurrence of a bimodal karyotype in this species may be evidence of the occurrence of dysploidy by means of chromosome rearrangements, such as tandem fusions, fissions and translocations, in the genesis of both lower and higher chromosome numbers in *Philodendron*, other than the two most frequent, $2n = 32$ and 34 . Dysploidy has been widely accepted as a very important phenomenon during the karyotype evolution of flowering plants (and especially within monocot groups) regarding changes in chromosome number, as well as whole genome duplications (or polyploidization) (see Guerra 2000, 2008, 2012). In the case of *P. pulchrum*, additional cytogenetic analyses employing differential chromatin staining may be very helpful in understanding the evolutionary processes behind the formation of such an unusual karyotype.

Another unusual diploid number ($2n = 40$) was also observed in *P. brevispathum*. Despite $2n = 40$ being reported for the first time for the genus, this number seems to be very important in the *Philodendron* clade (sensu Cusimano et al. 2011) as a whole, which includes the closely related genera *Homalomena* and *Furtadoa* (see Petersen 1989; Bogner and Petersen 2007; Cusimano et al. 2012). However, because of all the morphological features indicating the inclusion of *P. brevispathum* within *P. subg. Philodendron* sect. *Philodendron* (according to Croat 1997), it is very unlikely that this species has a primitive karyotype. This seems rather to be more evidence of

evolution in chromosome number by means of dysploidy from a karyotype with a lower number.

Several authors have discussed the importance of polyploidy for karyotype evolution within *Philodendron* and also about what would be the ancestral basic chromosome number (represented by the letter '*p*') for this genus, as well as for the rest of the family. In a recent analysis of character evolution by maximum likelihood and Bayesian approaches, Cusimano et al. (2012) have discarded the hypothesis of predominant occurrence of low *p* values ($p = 6, 7, 8$ and 9 , for instance) within Araceae, which had been previously suggested by other authors (e.g. Marchant 1971; Petersen 1989; Bogner and Petersen 2007). Instead, due to the high values obtained for the most likely ancestral chromosome numbers ($p = 16$ and 18), it is more likely that a primary polyploidization event occurred before the major diversification of lineages of the family (Cusimano et al. 2012). A high base number for ancestral *Philodendron* might therefore be expected, as predicted by Cusimano et al. (2012), although we do not believe that the group of species chosen by these authors to represent the whole genus (*P. subg. Meconostigma*, with $x = 18$) is the earliest diverging lineage within *Philodendron*. Actually, the first molecular phylogenetic analysis of the main *Philodendron* clades and sister genus *Homalomena* by Gauthier et al. (2008) showed that *P. subg. Pteromischum* was sister to the other two subgenera and thus basal to other *Philodendron* subclades. However, the relationships among *Homalomena* and the three subgenera of *Philodendron* remain unclear, and sampling of *P. subg. Pteromischum* was low (only two out of 77 species were included in each phylogenetic analysis). We therefore suggest that the number $2n = 32$ (and thus $p = 16$), observed for the sampled species of *P. subg. Pteromischum* (*P. rudgeanum* and *P. surinamense*), and the most frequent number recorded for the genus in this study, may be regarded as the most primitive within *Philodendron*.

In addition, it is noteworthy that our results for *P. goeldii* ($2n = 32$), *P. solimoesense* ($2n = 32$) and *P. uliginosum* ($2n = 28$) differ from the number usually reported for species of *P. subg. Meconostigma* ($2n = 36$; Table 1). As commented above, the number $2n = 36$ may have had an important role in karyotype evolution within *P. subg. Meconostigma*, since it was reported only for typical species of the group, which are usually arborescent geophytes adapted to open environments with higher light intensity, naturally occurring in eastern South America (Mayo 1991). On the other hand, *P. goeldii*, *P. solimoesense* and *P. uliginosum* feature uncommon habitat specialization: the first two are exclusive to the Amazon basin, being highly adapted to shade, and the last one is an emergent aquatic or swamp plant from central Brazil (Mayo 1988; Sakuragui et al. 2013). Therefore, the lower diploid numbers observed

for these three species may represent derived karyotypes within the subgenus, especially in the case of *P. uliginosum* with $2n = 28$ chromosomes.

The present analysis represents the largest cytological evaluation of the genus so far, although we acknowledge that there are still only a few species with known chromosome numbers (ca. 13 %; 66 out of ca. 500). Nevertheless, some trends can already be predicted, such as the relatively high stability of chromosome numbers in *Philodendron*, a characteristic generally observed within aroid groups. Some genera of the subfamily Aroideae, which also includes *Philodendron*, have a higher degree of karyotypic variation among species, as in the case of *Arisaema*, *Biarum*, *Typhonium* and, the extremely variable aquatic genus *Cryptocoryne* (with diploid numbers ranging from $2n = 20$ to 132) (revised by Bogner and Petersen 2007). Our results demonstrate that karyotype evaluations may help in the understanding of evolutionary pathways among *Philodendron* species, and indicate the great potential of additional cytogenetic approaches (such as chromosome banding and fluorescent in situ hybridization) in revealing valuable chromosome markers.

Acknowledgments We thank the Brazilian Ministry of Science and Technology, Museu Paraense Emílio Goeldi and Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) for both technical and financial support during field trips; to Luana S. B. Calazans for valuable help with the species from Espírito Santo and Rio de Janeiro; and also to Dr. Reginaldo Carvalho and Dr. Ana C. Brasileiro-Vidal for interesting suggestions and discussions. This work was supported by CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior).

References

- Benko-Iseppon AM, Morawetz W (1993) Cold-induced chromosome regions and karyosystematics in *Sambucus* and *Viburnum*. *Bot Acta* 2:183–192
- Benko-Iseppon AM, Morawetz W (2000) Viburnales: cytological features and a new circumscription. *Taxon* 49:5–16
- Bogner J, Bunting GS (1983) A new *Philodendron* species (Araceae) from Ecuador. *Willdenowia* 13:183–185
- Bogner J, Croat TB (2012) A new species of *Philodendron* (Araceae). *Willdenowia* 42:269–272
- Bogner J, Petersen G (2007) The chromosome numbers of the aroid genera. *Aroideana* 30:82–90
- Boyce PC, Croat TB (2011–onwards) The Überlist of Araceae, totals for published and estimated number of species in aroid genera. <http://www.aroid.org/genera/111109uberlist.pdf>. Accessed 4 May 2013
- Catalano M, Landi A (1966) Dati citotassonomici su *Philodendron squamiferum* Poepp. et Endl., *Philodendron eximium* Schott e sul loro ibrido *Philodendron ×pausilypum* Landi. *Delpinoa* 6/7:139–147
- Catalano M, Landi A, Virzo A (1964) Osservazioni cariologiche su *Philodendron eximium* Schott, *Ph. erubescens* C. Koch. et Augustin e sul loro ibrido *Ph. ×parthenopaeum* Landi. *Delpinoa* 5:129–137
- Chaudhuri JB, Sharma A (1979) Chromosome studies in certain members of Araceae. *Genet Iber* 30(31):161–187
- Chen RY, Song WQ, Li XI, Li MX, Liang GI, Chen CB (2003) Chromosome atlas of major economic plants genome in China, volume 3, chromosome atlas of garden flowering plants in China. Science Press, Beijing
- Coelho MAN, Sakuragui CM, Mayo SJ, Soares ML, Temponi LG, Calazans LSB, Gonçalves EG, Andrade IM (2013) Araceae in lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000051>. Accessed 5 May 2013
- Cotias-de-Oliveira ALP, Guedes MLS, Barreto EC (1999) Chromosome numbers for *Anthurium* and *Philodendron* spp. (Araceae) occurring in Bahia, Brazil. *Genet Mol Biol* 22:237–242
- Croat TB (1997) A revision of *Philodendron* subgenus *Philodendron* (Araceae) for Mexico and Central America. *Ann Mo Bot Gard* 84:311–704
- Cusimano N, Bogner J, Mayo SJ, Boyce PC, Wong SY, Hesse M, Hetterscheid WLA, Keating RC, French JC (2011) Relationships within the Araceae: comparison of morphological patterns with molecular phylogenies. *Am J Bot* 98:654–668
- Cusimano N, Sousa A, Renner SS (2012) Maximum likelihood inference implies a high, not a low, ancestral haploid chromosome number in Araceae, with a critique of the bias introduced by 'x'. *Ann Bot* 109:681–692
- Gauthier MPL, Barabé D, Bruneau A (2008) Molecular phylogeny of the genus *Philodendron* (Araceae): delimitation and infrageneric classification. *Bot J Linn Soc* 156:13–27
- Govaerts R, Frodin DG, Bogner J, Boyce P, Cosgriff B, Croat TB, Gonçalves EG, Gayum M, Hay A, Hetterscheid W, Landolt E, Mayo SJ, Murata J, Nguyen VD, Sakuragui CM, Singh Y, Thompson S, Zhu G (2002) World checklist and bibliography of Araceae (and Acoraceae). Kew Publishing, Richmond
- Grayum MH (1996) Revision of *Philodendron* subgenus *Pteromischum* (Araceae) for Pacific and Caribbean tropical America. *Syst Bot Monogr* 47:1–233
- Guerra M (1987) Cytogenetics of Rutaceae IV: structure and systematic significance of interphase nuclei. *Cytologia* 52:213–222
- Guerra M (2000) Chromosome number variation and evolution in monocots. In: Wilson KL, Morrison DA (eds) *Monocots: systematics and evolution*. CSIRO, Melbourne, pp 127–136
- Guerra M (2008) Chromosome numbers in plant cytogenetics: concepts and implications. *Cytogenet Genome Res* 120:339–350
- Guerra M (2012) Cytotaxonomy: the end of childhood. *Plant Biosyst* 146:703–710
- Jones GE (1957) Chromosome numbers and phylogenetic relationships in the Araceae. Thesis, University of Virginia, USA
- Malvesin-Fabre G (1945) Contribution à la caryologie des aracées. Thesis, University of Bordeaux, France
- Marchant CJ (1971) Chromosome variation in Araceae III. *Philodendreae* to *Pythoneae*. *Kew Bull* 25:323–329
- Matsuura H, Suto T (1935) Contribution to the idiogram study in phanerogamous plants. I. *J Fac Sci Hokkaido Univ* 5:33–75
- Mayo SJ (1986) Systematics of *Philodendron* Schott (Araceae) with special reference to inflorescence characters. Thesis, University of Reading, UK
- Mayo SJ (1988) Aspectos da evolução e da geografia do gênero *Philodendron* Schott (Araceae). *Acta Bot Bras* 1:27–40
- Mayo SJ (1991) A revision of *Philodendron* subgenus *Meconostigma*. *Kew Bull* 46:601–681
- Mayo SJ, Sakuragui CM (2011) Typification and interpretation of *Philodendron imbe* Schott ex Kunth (Araceae). *Taxon* 60:1764–1767

- Mayo SJ, Bogner J, Boyce PC (1997) The genera of Araceae. Kew Publishing, Richmond
- Mohamed TR, Khalifa SF, El-Dine RMS (2006) Leaf protein electrophoretic profiles and chromosome numbers of some Araceae. *Int J Agri Biol* 8:231–234
- Mookerjee A (1955) Cytology of different species of Aroids with a view to trace the basis of their evolution. *Caryologia* 7:221–291
- Moore HE (1974) What is *Philodendron cannifolium* (Araceae)? *Baileya* 19:122–124
- Petersen G (1989) Cytology and systematics of Araceae. *Nordic J Bot* 9:119–165
- Pfitzer P (1957) Chromosomenzahlen von Araceen. *Chromosoma* 8:436–446
- Sakuragui CM, Mayo SJ, Zappi DC (2005) Taxonomic revision of Brazilian species of *Philodendron* section *Macrobolium*. *Kew Bull* 60:465–513
- Sakuragui CM, Calazans LSB, Soares ML (2013) *Philodendron* in lista de espécies da flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB025180>. Accessed 4 May 2013
- Sharma AK (1956) A new concept of a means of speciation in plants. *Caryologia* 9:93–130
- Sharma AK (1970) Annual report 1967–1968. *Res Bull Univ Calcutta* 2:1–50
- Sharma AK, Bhattacharya UC (1966) A cytotaxonomic study on some taxa of Araceae. *Gen Iber* 18:237–262
- Sharma AK, Mukhopadhyay S (1965) Cytological study on two genera of Araceae and correct assessment of their taxonomic status. *Gen Agrar* 18:603–616
- Simmonds NW (1954) Chromosome behavior in some tropical plants. *Heredity* 8:139–145
- Subramanian D, Munian M (1988) Cytotaxonomical studies in South Indian Araceae. *Caryologia* 53:59–66
- The Plant List (2010) Version 1. <http://www.theplantlist.org>. Accessed 4 May 2013
- Tsuchiya T, Takada M (1962) Chromosome studies in five species of Araceae. *Chrom Inf Serv* 3:36–38

5. CAPÍTULO II

Manuscrito em preparação a ser submetido ao periódico Botanical Journal of the Linnean Society (ISSN: 1095-8339):

Novas percepções a respeito das relações filogenéticas em *Philodendron* (Araceae) com base em marcadores plastidiais e nucleares

Novas percepções a respeito das relações filogenéticas em *Philodendron* (Araceae) com base em marcadores plastidiais e nucleares

SANTELMO VASCONCELOS^{1,2}, MARIA DE LOURDES DA C. SOARES³, TOMAS B. CROAT⁴, MARCCUS ALVES¹, ANA M. BENKO-ISEPPON^{2*}

¹*Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Rua Prof. Nelson Chaves s/n, Recife, Pernambuco, CEP 50670-901, Brazil*

²*Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Av. da Engenharia s/n, Recife, Pernambuco, CEP 50740-600, Brazil*

³*Departamento de Botânica, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Av. André Araújo 2936, Manaus, Amazonas, CEP 69060-001, Brazil*

⁴*Missouri Botanical Garden, 4344 Shaw Blvd., St. Louis, MO 63110, USA*

*Autor para correspondência. E-mail: ana.benko.iseppon@cnpq.pq.br

Philodendron (Araceae) é um dos maiores gêneros endêmicos dos Neotrópicos, contando com aproximadamente 500 espécies. Há uma grande diversidade ecológica no grupo, embora a grande maioria das espécies ocupe as florestas úmidas da América do Sul. Apesar de *Philodendron* ser relativamente bem estudado taxonomicamente, as relações entre os grupos morfológicos ainda não estão bem estabelecidas, principalmente no que concerne às relações entre os três subgêneros (*Meconostigma*, *Philodendron* e *Pteromischum*), bem como sua relação com a parte sul-americana do gênero irmão *Homalomena*, da seção *Curmeria*. Desta forma, por meio de abordagens filogenéticas baseadas em marcadores plastidiais (*rpl32-trnL*, *trnQ-5'-rps16* e *trnV-ndhC*) e nucleares (ITS), o presente trabalho avalia o posicionamento dos três subgêneros de *Philodendron* e de *H. seção Curmeria* sob uma nova perspectiva, discutindo também a integridade de outros grupos morfológicos como naturais ou não. Adicionalmente, além da confirmação do monofiletismo de *Philodendron*, dados prévios indicando o polifiletismo de *Homalomena* e a separação das espécies americanas em um novo gênero (*Adelonema*) são corroborados no presente estudo.

PALAVRAS-CHAVE ADICIONAIS: clado *Homalomena* – *Pteromischum* – *Meconostigma* – *Adelonema* – Aroideae.

INTRODUÇÃO

Philodendron Schott é um dos maiores gêneros vegetais exclusivamente neotropicais, figurando como o segundo em número de espécies na família Araceae, com aproximadamente 500 espécies aceitas, sendo superado apenas por *Anthurium* Schott, o qual conta com cerca de 900 espécies descritas (Boyce & Croat, 2011; The Plant List, 2013). O gênero apresenta uma grande diversidade ecológica, ocupando geralmente as florestas úmidas da América tropical (Mayo, 1988; Mayo, 1991; Mayo *et al.*, 1997).

Os membros do gênero ocupam atualmente uma extensa área de distribuição, estendendo-se desde o México ao Uruguai (Mayo *et al.*, 1997), com possível origem na bacia Amazônica (Calazans *et al.*, 2014). No entanto, a história biogeográfica do grupo ao qual *Philodendron* faz parte, o clado *Homalomena sensu* Cusimano *et al.* (2011), ainda não está muito bem esclarecida, tendo em vista a distribuição dos membros do grupo. O clado em questão é composto por cinco gêneros ao todo. Além de *Philodendron*, compreende *Homalomena* Schott, de ocorrência disjunta entre a América tropical e sudeste asiático, *Furtadoa* M.Hotta, exclusivamente do sudeste asiático, *Cercestis* Schott e *Culcasia* P.Beauv., estando estes dois últimos presentes apenas na África central.

Além de algumas revisões taxonômicas relativamente recentes de grupos de espécies de *Philodendron* (Mayo, 1991; Grayum, 1996; Croat, 1997; Sakuragui *et al.*, 2005; Sakuragui *et al.*, 2012), algumas análises de sistemática molecular vêm sendo publicadas (Gauthier *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2014). No entanto, ainda há dúvidas em relação ao monofiletismo da grande maioria dos subgrupos propostos, como seções e subseções, as quais foram agrupadas baseando-se em dados de morfologia floral e vegetativa.

As espécies de *Philodendron* são divididas em três grandes grupos morfológicos principais, os quais são facilmente reconhecíveis: (1) *Philodendron* subgênero *Meconostigma* (21 spp.), constituído por plantas arborescentes predominantemente heliófilas, com algumas

espécies adaptadas a ambientes sombreados, endêmicas da América do Sul; (2) *P. subg. Pteromischum* (78 spp.), com epífitas escandentes que ocorrem, em sua grande maioria, na América Central e norte da América do Sul; e (3) *P. subg. Philodendron* (ca. 400 spp.), um grupo composto predominantemente por epífitas ombrófilas com enorme diversidade morfológica, ocorrendo em toda a extensão da distribuição do gênero.

Diferentemente do que ocorre com os subgêneros *Philodendron* e *Pteromischum*, os quais apresentam maior riqueza de espécies na bacia amazônica, a maior parte da diversidade de *Meconostigma* (18 das 21 espécies) encontra-se no leste e no sudeste da América do Sul (porção oriental da distribuição do gênero). Consequentemente, Mayo (1988) sugeriu que padrões diferenciados de origem, diversificação e dispersão teriam ocorrido para *Meconostigma*, propondo sua origem na porção oriental e dispersão em direção ao norte. No entanto, as análises filogenéticas e de evolução de caracteres florais em *Meconostigma* publicadas recentemente (Calazans *et al.*, 2014; Oliveira *et al.*, 2014) indicam que a origem deste grupo pode ter ocorrido de forma similar aos outros dois subgêneros, havendo uma posterior dispersão e diversificação nos outros biomas brasileiros.

De acordo com resultados moleculares publicados por Gauthier *et al.* (2008) e Yeng *et al.* (2013), há o indicativo de que tanto o gênero *Philodendron* quanto *Homalomena* não sejam monofiléticos, levando-se em consideração a atual circunscrição de ambos os grupos. Em ambos os estudos citados, o grupo das espécies americanas de *Homalomena*, *H. seção Curmeria*, apresentou maior afinidade com membros de *P. subg. Pteromischum*, embora apenas a topologia da árvore filogenética baseada em marcadores ITS obtida por Yeng *et al.* (2013) tenha apresentado valores relevantes de suporte estatístico para os clados obtidos. Contudo, a baixa amostragem em *Philodendron* neste último trabalho, bem como o fraco suporte e a incongruência entre topologias obtidas por Gauthier *et al.* (2008), utilizando dois marcadores nucleares (ETS e ITS) e um plastidial (*rpl16*), deixam dúvidas a respeito das relações filogenéticas entre os subgêneros de *Philodendron* e *H. seção Curmeria*.

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo fornecer um melhor esclarecimento da sistemática filogenética do gênero *Philodendron*, bem como o entendimento dos padrões de diversificação entre as espécies do grupo, levando em consideração uma análise de filogenia molecular baseada em três marcadores plastidiais (*rpl32-trnL*, *trnQ-5'-rps16* e *trnV-ndhC*) e marcadores nucleares de ITS, abrangendo as regiões de ITS1 e ITS2 e a sequência codificadora do DNAr 5,8S.

MATERIAL E MÉTODOS

MATERIAL VEGETAL E EXTRAÇÃO DE DNA

Folhas frescas de 151 amostras de 120 espécies foram coletadas no presente estudo, contando com 107 espécies de *Philodendron* (ca. 21% do gênero), seis de *Homalomena* e uma de *Furtadoa*. Adicionalmente, para grupo externo, foram amostradas cinco outras espécies de Araceae: *Cercestis mirabilis* (N.E.Br.) Bogner, *Culcasia angolensis* Welw. ex Schott, *Culcasia mannii* (Hook.f.) Engl., *Culcasia striolata* Engl. e *Montrichardia linifera* (Arruda) Schott. Tanto indivíduos provenientes de populações naturais quanto materiais cultivados no Departamento de Genética da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE (Recife – PE), na Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte (Belo Horizonte – MG), no Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA (Manaus – AM), no Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro – RJ), no Missouri Botanical Garden (Saint Louis, EUA), no Royal Botanic Gardens, Kew (Richmond, Reino Unido) e no Palmengarten (Frankfurt, Alemanha) foram utilizados (Tabela 1).

O material proveniente das coletas foi mantido a 8-10 °C em solução salina saturada de CTAB 2% (Rogstad, 1992) até o processamento para a extração de DNA seguindo o protocolo CTAB I descrito por Weising *et al.* (2005). Adicionalmente, foi realizada uma etapa de precipitação de polissacarídeos contaminantes, de acordo com Michaels *et al.* (1994).

AMPLIFICAÇÃO E SEQUENCIAMENTO DE DNA

Para a análise de sequenciamento das regiões plastidiais (*rpl32-trnL*, *trnV-ndhC* e *trnQ-5'-rps16*) e nucleares (ITS1-DNAr 5,8S-ITS2) foram utilizados os *primers* descritos por Shaw *et al.* (2007) e Gauthier *et al.* (2008), respectivamente. As PCRs foram realizadas em um termociclador Techne TC-412, contendo ~10-100 ng de DNA genômico, 1× de tampão de reação 10× (Thermo Scientific), 3 µmol/mL de MgCl₂ (Thermo Scientific), 0,2 µmol/mL de cada dNTP, 0,1 nmol/mL de cada primer e 1 unidade de enzima Taq polimerase (Thermo Scientific) num volume total 25 µL. Adicionalmente, 2 µL de DMSO foram utilizados nas reações de ITS. As condições de temperatura seguiram o utilizado por Shaw *et al.* (2007), havendo apenas adequações nas temperaturas de anelamento utilizadas nas amplificações de ITS, as quais variaram entre 48-60 °C, dependendo da espécie.

As reações de sequenciamento foram realizadas utilizando o kit BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing da Applied Biosystems, sendo analisadas por meio de um sequenciador ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) na Plataforma de Sequenciamento LABCEN/CCB da Universidade Federal de Pernambuco. As sequências resultantes foram montadas tanto no programa Geneious 7.1.7 (Biomatters Ltd.) quanto no Unipro UGENE 1.12 (Okonechnikov *et al.*, 2012) e então alinhadas separadamente para cada região por meio do pacote MAFFT 7.017 (Katoh & Standley, 2013) utilizando o algoritmo *Auto*, havendo posteriormente menores ajustes manuais. Para as análises da região de ITS também foram obtidas sequências previamente publicadas de *Philodendron* e *Homalomena* (Gauthier *et al.*, 2008; Yeng *et al.*, 2013) disponíveis na base de dados do NCBI (Tabela S1).

ANÁLISES FILOGENÉTICAS

Foram gerados dendrogramas para cada uma das quatro regiões separadamente, bem como uma análise concatenada com as três regiões de cloroplasto, utilizando os métodos de máxima parcimônia (MP), máxima verossimilhança (MV) e inferência bayesiana (IB). As

análises de MP foram conduzidas no programa PAUP* 4.0b.10 (Swofford, 2002), por meio da busca heurística das árvores e *bootstrap* de 1.000 réplicas. Para a MV foi utilizado o RAxML 7.2.8 (Stamatakis, 2006) implementado no portal CIPRES (Miller *et al.*, 2010), utilizando o modelo de substituição GTR+ Γ +I, como indicado pelo jModelTest 2 (Darriba *et al.*, 2012) para todas as regiões aqui utilizadas, com *rapid bootstrapping* e busca da árvore de maior probabilidade por meio de 1.000 réplicas. As análises bayesianas foram rodadas no programa MrBayes 3.2 (Ronquist *et al.*, 2012) no CIPRES, também utilizando o modelo GTR+ Γ +I com quatro categorias gama (Yang, 1993). As corridas foram iniciadas a partir de árvores aleatórias, sendo utilizadas quatro cadeias quentes ($T = 0,2$) e uma fria, estendendo-se por 10.000.000 gerações, com *burn-in* de 20%.

Tabela 1. Lista de acessos utilizados nas análises filogenéticas entre espécies de *Philodendron* e grupos relacionados baseadas em regiões de DNA plastidial (*rpl32-trnL*, *trnQ-5'-rps16* e *trnV-ndhC*) e DNA nuclear (ITS1-DNAr 5,8S-ITS2).

Táxon	Amostra	Localidade/Procedência^a
<i>Philodendron</i> subg. <i>Meconostigma</i> (Schott) Engl.		
<i>Philodendron bipinnatifidum</i> Schott	SV183JB	Material cultivado no JBRJ
<i>Philodendron brasiliense</i> Engl.	SV214FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron brasiliense</i> Engl.	SV277RJ	Material cultivado no JBP
<i>Philodendron corcovadense</i> Kunth	SV314TN	Material cultivado no LGBV/Brasil (Taquaritinga do Norte – PE)
<i>Philodendron corcovadense</i> Kunth	SV520IC	Material cultivado no LGBV/Brasil (Cananéia – SP)
<i>Philodendron goeldii</i> G.M.Barroso	SV063UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron leal-costae</i> Mayo & G.M.Barroso	SV313TN1	Brasil (Taquaritinga do Norte – PE)
<i>Philodendron leal-costae</i> Mayo & G.M.Barroso	SV313TN2	Brasil (Taquaritinga do Norte – PE)
<i>Philodendron lundii</i> Warm.	SV089MC2	Brasil (Morro do Chapéu – BA)
<i>Philodendron lundii</i> Warm.	SV089MC5	Brasil (Morro do Chapéu – BA)
<i>Philodendron lundii</i> Warm.	SV191FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron mello-barretoanum</i> Burle-Marx ex G.M.Barroso	SV526RJ	Material cultivado na UFRJ
<i>Philodendron mello-barretoanum</i> Burle-Marx ex G.M.Barroso	SV534PE	Material cultivado no LGBV
<i>Philodendron petraeum</i> Chodat & Vischer	SV225FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron saxicola</i> K.Krause	SV539CV	Material cultivado no LGBV/Brasil (Mucugê – BA)
<i>Philodendron solimoesense</i> A.C.Sm.	SV050UC1	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron solimoesense</i> A.C.Sm.	SV070VR16	Brasil (PARNA Viruá, Caracaraí – RR)
<i>Philodendron solimoesense</i> A.C.Sm.	SV070VR17	Brasil (PARNA Viruá, Caracaraí – RR)
<i>Philodendron solimoesense</i> A.C.Sm.	SV070VR18	Brasil (PARNA Viruá, Caracaraí – RR)
<i>Philodendron speciosum</i> Schott ex Endl.	SV535RJ	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron uliginosum</i> Mayo	SV213FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron undulatum</i> Engl.	SV245JB	Material cultivado no JBRJ
<i>Philodendron undulatum</i> Engl.	SV519IC	Material cultivado no LGBV/Brasil (Cananéia – SP)
<i>Philodendron venezuelense</i> G.S.Bunting	SV447UC1	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron venezuelense</i> G.S.Bunting	SV447UC2	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron venezuelense</i> G.S.Bunting	SV447UC3	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron williamsii</i> Hook.f.	SV276RJ	Material cultivado no JBP
<i>Philodendron xanadu</i> Croat et al.	SV570KG	Material cultivado no Kew

Tabela 1. (continuação)**P. subg. *Philodendron* Engler****seção *Baursia* Reichb.**

<i>P. crassinervium</i> Lindl.	SV249FT	Material cultivado no LGBV
<i>Philodendron edmundoi</i> G.M.Barroso	SV254RJ	Material cultivado no JBP
<i>Philodendron glaziovii</i> Hook.f.	SV346MO	Material cultivado no MOBOT (proveniente do Kew)
<i>Philodendron insigne</i> Schott	SV061UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron linnaei</i> Kunth	SV539RD	Material cultivado no LGBV/Brasil (Reserva Ducke, Manaus – AM)
<i>Philodendron longilaminatum</i> Schott	SV553KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron martianum</i> Engl.	SV237JB	Material cultivado no JBRJ
<i>Philodendron micranthum</i> Poepp. ex Schott	SV233FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron nullinervium</i> E.G.Gonç.	SV288FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron pusillum</i> E.G.Gonç & Bogner	SV360MO	Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron renauxii</i> Reitz	SV219FZ	Material cultivado na FZB-BH

seção *Macrobium* (Schott) Sakur.

<i>Philodendron acutatum</i> Schott	SV087MC1	Brasil (Morro do Chapéu – BA)
<i>Philodendron acutatum</i> Schott	SV087MC7	Brasil (Morro do Chapéu – BA)
<i>Philodendron acutifolium</i> K.Krause	SV322MO	Equador/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron annulatum</i> Croat	SV552KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron appendiculatum</i> Nadruz & Mayo	SV285FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron auriculatum</i> Standl.& L.O.Williams	SV559KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron biribiriense</i> Sakur. & Mayo	SV290FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron campii</i> Croat	SV057UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron cipoense</i> Sakur. & Mayo	SV182FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron conforme</i> G.S.Bunting	SV335MO	Venezuela/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron cordatum</i> Kunth ex Schott	SV283FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron curvilobum</i> Schott	SV523CA	Material cultivado no LGBV/Brasil (Cananéia – SP)
<i>Philodendron davidsonii</i> Croat	SV336MO	Costa Rica/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron erubescens</i> K.Koch & Augustin	SV250FT	Brasil (Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro – RJ)
<i>Philodendron eximium</i> Schott	SV293TN	Material cultivado no LGBV/Brasil (Taquaritinga do Norte – PE)
<i>Philodendron eximium</i> Schott	SV522IC	Material cultivado no LGBV/Brasil (Ilha Comprida, Cananéia – SP)
<i>Philodendron inops</i> Schott	SV280RJ	Material cultivado no JBP
<i>Philodendron laticiferum</i> Croat & M.M.Mora	SV352MO	Colômbia/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron microstictum</i> Standl. & L.O.Williams	SV583KG	Material cultivado no Kew

Tabela 1. (continuação)

<i>Philodendron minarum</i> Engl.	SV291FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron ruizii</i> Schott	SV362MO	Equador/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron sagittifolium</i> Liebm.	SV223FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron simmondsii</i> Mayo	SV563KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron vargealtense</i> Sakur.	SV211FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron wittianum</i> Engl.	SV040RD	Brasil (Reserva Ducke, Manaus – AM)
<i>Philodendron wittianum</i> Engl.	SV058UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron sphalerum</i> Schott	SV053UC1	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron sphalerum</i> Schott	SV053UC2	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron sphalerum</i> Schott	SV053UC3	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron spiritus-sancti</i> G.S.Bunting	SV222FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron uleanum</i> Engl.	SV287FZ	Material cultivado na FZB-BH
seção <i>Philodendron</i> (Jacq.) Schott		
<i>Philodendron billietiae</i> Croat	SV011VR	Brasil (PARNA Viruá, Caracará – RR)
<i>Philodendron billietiae</i> Croat	SV038RD	Brasil (Reserva Ducke, Manaus – AM)
<i>Philodendron blanchetianum</i> Schott	SV200FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron ernestii</i> Engl.	SV576KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron fragrantissimum</i> (Hook.) G.Don	SV295IG	Brasil (Usina São José, Igarassu – PE)
<i>Philodendron giganteum</i> Schott	SV239JB	Material cultivado no JBRJ
<i>Philodendron giganteum</i> Schott	SV345MO	República Dominicana/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron glanduliferum</i> Matuda	SV575KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron grandifolium</i> (Jacq.) Schott	SV348UC	Guiana Francesa/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron grandipes</i> K.Krause	SV349UC	Panamá/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron grandipes</i> K.Krause	SV446FF	Material cultivado no Palmgarten
<i>Philodendron hopkinsianum</i> M.L.Souares & Mayo	SV035RD	Brasil (Reserva Ducke, Manaus – AM)
<i>Philodendron lupinum</i> E.G.Gonç. & J.B.Carvalho	SV230FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron maximum</i> K.Krause	SV578KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron megalophyllum</i> Schott	SV043UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron megalophyllum</i> Schott	SV320UT	Brasil (Rebio Uatumã, Presidente Figueiredo – AM)
<i>Philodendron melinonii</i> Brongn.ex Regel	SV594RD	Material cultivado no LGBV (Reserva Ducke, Manaus – AM)
<i>Philodendron ornatum</i> Schott	SV059UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron schottianum</i> H.Wendl. ex Schott	SV209FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron tenue</i> K.Koch & Augustin	SV573KG	Material cultivado no Kew

Tabela 1. (continuação)

<i>Philodendron toshibai</i> M.L.Souares & Mayo	SV034RD	Brasil (Reserva Ducke, Manaus – AM)
seção <i>Philopsammus</i> G.S.Bunting		
<i>Philodendron callosum</i> K.Krause	SV022PF	Material cultivado no LGBV (Presidente Figueiredo – AM)
<i>Philodendron dunstervilleorum</i> G.S.Bunting	SV577KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron pulchrum</i> G.M.Barroso	SV025PF	Brasil (Presidente Figueiredo – AM)
seção <i>Polytomium</i> (Schott) Engler		
<i>Philodendron cardosoi</i> E.G.Gonç.	SV220FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron distantilobum</i> K.Krause	SV212FT	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron distantilobum</i> K.Krause	SV318UT	Brasil (Rebio Uatumã, Presidente Figueiredo – AM)
<i>Philodendron fendleri</i> K.Krause	SV343MO	Trinidade e Tobago/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron lacerum</i> (Jacq.) Schott	SV574KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron radiatum</i> Schott	SV565KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron tortum</i> M.L.Souares & Mayo	SV032RD	Brasil (Reserva Ducke, Manaus – AM)
<i>Philodendron warszewiczii</i> K.Koch & C.D.Bouché	SV376MO	Material cultivado no MOBOT
seção <i>Schizophyllum</i> (Schott) Engler		
<i>Philodendron bipennifolium</i> Schott	SV284FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron bipennifolium</i> Schott	SV307IP	Material cultivado no INPA
<i>Philodendron bipennifolium</i> Schott	SV524SP	Material cultivado no IBT-SP
<i>Philodendron nadruzianum</i> Sakur.	SV247FT	Brasil (Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro – RJ)
<i>Philodendron nadruzianum</i> Sakur.	SV253RJ	Brasil (Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro – RJ)
<i>Philodendron pedatum</i> (Hook.) Kunth	SV029RD	Brasil (Reserva Ducke, Manaus – AM)
<i>Philodendron pinnatilobum</i> Engl.	SV582KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron quinquelobum</i> K.Krause	SV595UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron ruthianum</i> Nadruz	SV189FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron ruthianum</i> Nadruz	SV203JB	Material cultivado no JBRJ
<i>Philodendron</i> sp.nov. aff. <i>squamiferum</i>	SV529CV	Brasil (Caxiuanã – PA)/Material cultivado no LGBV
seção <i>Tritomophyllum</i> Schott		
<i>Philodendron anisotomum</i> Schott	SV327MO	Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron hylaeae</i> G.S.Bunting	SV001VR	Brasil (PARNA Viruá, Caracaraí – RR)
Sem seção		
<i>Philodendron attenuatum</i> Croat	SV321MO	Equador/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron deflexum</i> Poepp. ex Schott	SV337MO	Venezuela/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron ecordatum</i> Schott	SV572KG	Material cultivado no Kew

Tabela 1. (continuação)

<i>Philodendron gloriosum</i> André	SV347MO	Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron humile</i> E.G.Gonç.	SV241JB	Material cultivado no JBRJ
<i>Philodendron mamei</i> André	SV571KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron sodiroi</i> N.E.Br.	SV221FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron werkhoveniae</i> Croat	SV196FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron wulschlaegelii</i> Schott	SV286FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron</i> sp.nov. Espada	SV530UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>P. subg. Pteromischum</i> (Schott) Mayo		
<i>Philodendron acreanum</i> K.Krause	SV215FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron flumineum</i> E.G.Gonç.	SV198FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron ichthyoderma</i> Croat & Grayum	SV350MO	Panamá/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron inaequilaterum</i> Liebm.	SV208FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Philodendron ligulatum</i> Schott	SV354MO	Panamá/Material cultivado no MOBOT
<i>Philodendron platypodum</i> Gleason	SV004VR	Brasil (PARNA Viruá, Caracaraí – RR)
<i>Philodendron platypodum</i> Gleason	SV033RD	Brasil (Reserva Ducke, Manaus – AM)
<i>Philodendron platypodum</i> Gleason	SV055UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron propinquum</i> Schott	SV252FT	Brasil (Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro – RJ)
<i>Philodendron rudgeanum</i> Schott	SV056UC	Brasil (Urucu, Coari – AM)
<i>Philodendron rudgeanum</i> Schott	SV540PE	Brasil (Bonito – PE)
<i>Philodendron sonderianum</i> Schott	SV586KG	Material cultivado no Kew
<i>Philodendron</i> aff. <i>propinquum</i> Schott	SV586KG	Material cultivado no Kew
<i>Cercestis</i> Schott		
<i>Cercestis mirabilis</i> (N.E.Br.) Bogner	SV393MO	Material cultivado no MOBOT
<i>Cercestis mirabilis</i> (N.E.Br.) Bogner	SV581KG	Material cultivado no Kew
<i>Culcasia</i> P.Beauv.		
<i>Culcasia angolensis</i> Welw. ex. Schott	SV591KG	Material cultivado no Kew
<i>Culcasia mannii</i> (Hook.f.) Engl.	SV394MO	Serra Leoa/Material cultivado no MOBOT
<i>Culcasia striolata</i> Engl.	SV592KG	Material cultivado no Kew
<i>Furtadoa</i> M.Hotta		
<i>Furtadoa mixta</i> (Ridl.) M.Hotta	SV561KG	Material proveniente do banco de DNA do Kew
<i>Homalomena</i> Schott		
<i>Homalomena crinipes</i> Engl.	SV392MO	Peru/Material cultivado no MOBOT
<i>Homalomena deltoidea</i> Hook.f.	SV548KG	Material cultivado no Kew

Tabela 1. (continuação)

<i>Homalomena magna</i> A.Hay	SV551KG	Material proveniente do banco de DNA do Kew
<i>Homalomena rubescens</i> (Roxb.) Kunth	SV232FZ	Material cultivado na FZB-BH
<i>Homalomena</i> sp.	SV389MO	Equador/Material cultivado no MOBOT
<i>Montrichardia</i> Crueg.		
<i>Montrichardia linifera</i> (Arruda) Schott	SV542PE	Brasil (Ipojuca – PE)

^a FZB-BH – Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte (Belo Horizonte, MG, Brasil); IBT-SP – Instituto de Botânica de São Paulo (São Paulo, SP, Brasil); INPA – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (Manaus, AM, Brasil); JBP – Jardim Botânico Plantarum (Nova Odessa, SP, Brasil); JBRJ – Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro, RJ, Brasil); Kew – Royal Botanic Gardens, Kew (Richmond, Reino Unido); LGBV – Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco (Recife, PE, Brasil); MOBOT – Missouri Botanical Garden (Saint Louis, Estados Unidos da América); UFRJ – Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro, RJ, Brasil).

RESULTADOS

As sequências das três regiões de cpDNA obtidas de 151 acessos resultaram em um alinhamento de 3.886 bases de comprimento, após a exclusão das extremidades não alinhadas, onde as sequências dos acessos variaram entre 2.559 e 3.373 bases (Tabela 2). Levando em consideração o alinhamento das regiões separadamente, a *rpl32-trnL* resultou em uma matriz com 934 caracteres (variando entre 364 e 739 bases), a *trnV-ndhC* com 1.142 (de 634 a 896 bases) e a *trnQ-5'-rps16* perfazendo 1.810 (entre 1.114 e 1.457 bases) (Tabela 2). No total, o número de caracteres variáveis e informativos para parcimônia observados entre as sequências de *Philodendron*, *Homalomena* e *Furtadoa* (*ingroup*) foram, respectivamente: 162 (17,4%) e 100 (10,7%) para a *rpl32-trnL*; 316 (27,7%) e 121 (10,6%) para a *trnV-ndhC*; e 380 (21,0%) e 209 (11,6%) para *trnQ-5'-rps16* (Tabela 2).

Tabela 2. Informações sobre o alinhamento das sequências das quatro regiões analisadas.

Região	NCG (pb) ^a	VCS (pb) ^b	NCP ^c	CIP ^d	IC ^e	IR ^f
ITS	1138	620-849	707	574	0,539	0,903
<i>rpl32-trnL</i>	934	364-739	162	100	0,724	0,914
<i>trnQ-5'-rps16</i>	1810	1114-1457	380	209	0,649	0,887
<i>trnV-ndhC</i>	1142	634-896	316	121	0,776	0,907
Total cpDNA	3886	2559-3373	858	430	0,676	0,883

^a Número de caracteres gerados em pares de base (pb); ^b variação no número dos caracteres das sequências; ^c número de caracteres polimórficos no *ingroup*; ^d caracteres informativos para parcimônia no *ingroup*; ^e índice de consistência; ^f índice de retenção.

Com relação à região de ITS, a análise a partir dos 144 acessos utilizados resultou em um alinhamento com 1.138 bases, com as sequências individuais variando entre 620 e 849. A região apresentou uma altíssima proporção de caracteres variáveis e informativos para parcimônia, os quais somaram 707 (63,8%) e 574 (51,8%), respectivamente (Tabela 2).

Os três diferentes métodos de reconstrução filogenética, em geral, resultaram em árvores com topologias similares tanto para os marcadores plastidiais quanto para os nucleares, principalmente no que diz respeito aos grandes grupos de espécies (nós mais basais). No

entanto, os valores de suporte obtidos com a MP foram consideravelmente mais baixos, além de haver várias politomias espalhadas pelo dendrograma (dados não mostrados), diferentemente do que aconteceu com as análises de MV e IB. Com relação aos índices de consistência (IC) e de retenção (IR) calculados durante a MP, as regiões de cpDNA apresentaram valores de IC moderados (entre 0,649 e 0,776; Tabela 2), indicando proporções relativamente baixas de homoplasia. Por outro lado, os altos valores de IR obtidos (entre 0,887 e 0,914) indicam que as homoplasias não impactaram excessivamente durante a geração dos agrupamentos. Tal padrão de compensação entre homoplasias e sinapomorfias foi mais perceptível nas análises baseadas na região de ITS, onde houve um alto índice de homoplasia as quais apresentaram (IC = 0,539), embora apresentando um alto índice de retenção (IR = 0,903) (Tabela 2).

As análises de MV e IB apresentaram topologias idênticas para as regiões de cpDNA concatenadas, havendo diferenças no posicionamento de algumas espécies em ramos com suporte estatístico muito baixo (Figura 1). No geral, os nós basais, os quais representam os grandes grupos dentro de *Philodendron* (subgêneros), foram recuperados com valores elevados de suporte estatístico tanto na MV quanto na IB (Figura 1). Mesmo quando uma das análises não resultou em um agrupamento confiável para um ramo específico da árvore, como no caso do posicionamento do subgênero *Meconostigma* como grupo irmão das demais espécies do gênero, a outra abordagem apresentou suportes entre moderado e alto (Figura 1). No entanto, quando analisadas separadamente, nenhuma das três sequências de cpDNA foi suficientemente eficiente para determinar as relações de parentesco entre os grandes grupos, os quais ainda puderam ser recuperados com suporte moderado, havendo sempre uma grande politomia na base da árvore e na maioria dos ramos terminais (Figuras Suplementares S1, S2 e S3). Os menores valores de suporte e a presença de politomias na maior parte dos grupos foram apresentados pela região com o maior índice de consistência, a *rpl32-trnL* (IR = 0,914), e consequentemente com a menor proporção de caracteres homoplásicos afetando diretamente o agrupamento (Tabela 2; Figuras Suplementares S1, S2 e S3).

Com relação à região de ITS, a grande maioria dos grupos observados nas análises com as regiões foi recuperada, embora com algumas diferenças no suporte dos clados. O grupo das espécies asiáticas de *Homalomena* foi recuperado como monofilético, embora sem suporte relevante (BS = 31 e PP = 0,52; Figura S4). Já o conjunto das espécies sul-americanas de *Homalomena*, a seção *Curmeria*, e os três subgêneros de *Philodendron* formaram um grupo monofilético com suporte apenas na MV, com BS de 87 (Figura S4). Da mesma forma que observado para as regiões plastidiais, as espécies de *H. seção Curmeria* formaram um clado bem suportado (BS = 98, PP = 1), o qual se posicionou como irmão do gênero *Philodendron* (Figura S4). No entanto, o subgênero *Pteromischum* apareceu como o grupo que divergiu primeiro no gênero, diferentemente das regiões plastidiais, embora esta diferença topológica tenha apresentado baixo suporte estatístico (BS = 58, PP = 0,87; Figura S4).

Como anteriormente mencionado, as reconstruções filogenéticas baseadas nas sequências de cpDNA concatenadas tanto na MV quanto na IB apresentaram o *ingroup* com valor máximo de suporte, tendo o clado formado por *F. mixta* (Ridl.) M.Hotta e as espécies asiáticas de *Homalomena* como grupo irmão do grande clado formado por *H. seção Curmeria*, *P. subg. Meconostigma*, *P. subg. Pteromischum* e *P. subg. Philodendron*. Com exceção de apenas algumas espécies com agrupamento inesperado, as quais serão mencionadas adiante, os três subgêneros baseados em caracteres morfológicos foram recuperados com alto suporte (Figura 1), sendo que a IB se mostrou mais eficiente do que a MV na geração do agrupamento de *P. subg. Philodendron*, com *bootstrap* (BS) de 77 e probabilidade posterior (PP) igual a 1. A posição de *Meconostigma* como grupo irmão dos outros dois subgêneros também apresentou diferenças no suporte obtido, com o valor máximo da PP e BS de 43 (Figura 1).

Levando em consideração as relações dentro do clado *Meconostigma* (representado em verde na Figura 1), *P. venezuelense* se posicionou como espécie irmã do restante do grupo (Figura 1). As outras duas espécies amazônicas (*P. goeldii* G.M.Barroso e *P. solimoesense* A.C.Sm.) formaram um grupo irmão das espécies heliófilas, as quais ocorrem na porção leste

da distribuição do gênero (Figura 1). Adicionalmente, a maior parte dos outros agrupamentos obtidos no clado das heliófilas arborescentes não apresentou valores de suporte significativos, além de não haver coesão entre os diferentes acessos de algumas espécies (e mesmo de uma única população, como foi o caso de *P. lundii* Warm. com SV089MC2 e SV089MC5) (Figura 1).

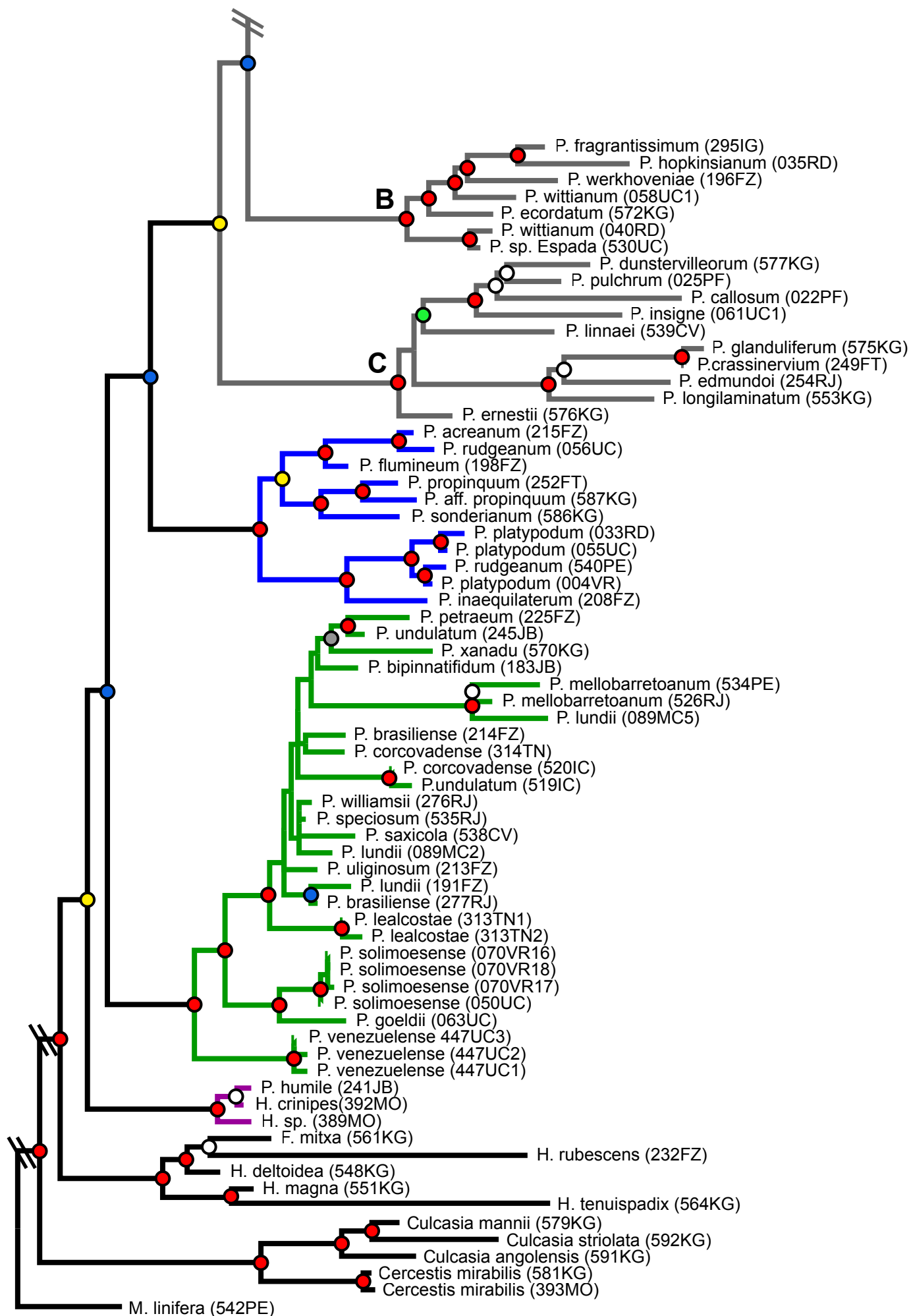
Dentro do clado *Pteromischum*, o qual está representado em azul na Figura 1, apenas o grupo formado pelas espécies *P. acreanum* K.Krause, *P. flumineum* E.G.Gonç., *P. propinquum* Schott, *P. sonderianum* Schott e pelo acesso amazônico de *P. rudgeanum* Schott apresentou suporte moderado na MV (Figura 1), enquanto em todos os outros grupos foram observados valores altos de BS e PP (Figura 1). Entretanto, uma inconsistência foi observada com relação à classificação baseada nos caracteres morfológicos e às reconstruções filogenéticas aqui realizadas, onde dois membros de *P.* subg. *Pteromischum*, *P. ichthyoderma* Croat & Grayum e *P. ligulatum* Schott apareceram dentro de um dos grupos terminais do clado referente ao subgênero *Philodendron* (com *P. annulatum* Croat e *P. laticiferum* Croat & M.M.Mora) apresentando alto suporte estatístico (BS = 96 e PP = 1; Figura 1).

O clado referente ao subgênero *Philodendron*, o qual corresponde ao grupo marcado em cinza na árvore filogenética apresentada na Figura 1, apresentou três grandes agrupamentos de espécies com valores altos de suporte: o clado A, apresentando o maior número de espécies (incluindo *P. ichthyoderma* e *P. ligulatum*, como citado anteriormente) (BS = 100 e PP = 1); clado B, composto por *P. fragrantissimum*, *P. hopkinsianum* M.L.Soares & Mayo, *P. werkhoveniae* Croat, *P. wittianum* Engl., *P. ecordatum* Schott e *P. sp.nov.* Espada (BS = 100 e PP = 1); e clado C, formado basicamente por membros das seções *Baursia* e *Philopsammos* e apenas dois membros da seção *Philodendron* (*P. ernestii* Engl. e *P. glanduliferum* Matuda) com suporte máximo tanto na MV quanto na IB (BS = 100 e PP = 1, respectivamente). Assim como observado no clado *Meconostigma*, grande parte dos nós terminais do clado A não apresentou suporte estatístico relevante, diferentemente dos clados B e C, bem como a ocorrência de

espécies sem coesão em um nó, com acessos distribuídos por vários grupos diferentes (Figura 1). Adicionalmente, *P. humile* E.G.Gonç., uma espécie que supostamente faz parte do subgênero *Philodendron* e que era anteriormente conhecida como *H. solimoensis* G.M.Barroso, foi posicionada com as duas espécies de *Homalomena* provenientes da América do Sul, formando o clado *Curmeria* (BS = 100 e PP = 1; marcado em roxo na Figura 1).



Figura 1. Árvore filogenética baseada nas análises de máxima verossimilhança (MV) utilizando a combinação das regiões de cpDNA *rpl32-trnL*, *trnV-ndhC* e *trnQ-5' -rps16* para as relações entre espécies do gênero *Philodendron* e os grupos irmãos. O dendrograma foi dividido em quatro principais clados e três subclados: em cinza as espécies de *Philodendron* subgênero *Philodendron*, as quais foram subdivididas em três principais grupos – A, B e C, em azul o subgênero *Pteromischum*, em verde as espécies de *Meconostigma* e em roxo as espécies de *Homalomena* seção *Curmeria*.



DISCUSSÃO

Apesar da grande representatividade das espécies de *Philodendron* nas florestas úmidas neotropicais, onde, em algumas regiões, podem representar os principais elementos da flora epifítica (e.g. Irupe *et al.*, 2013), nenhuma análise filogenética envolvendo abordagens moleculares havia sido publicada recentemente. Gauthier *et al.* (2008) foram os primeiros a utilizar um número relevante de espécies do gênero, enquanto no trabalho de Barabé *et al.* (2002) apenas seis espécies de *Philodendron* e duas de *Homalomena* foram amostradas, justamente por não estarem focando na filogenia do grupo. No caso de outros trabalhos com enfoque nas relações intergenéricas de Araceae (e.g. French *et al.*, 1995; Cabrera *et al.*, 2008; Cusimano *et al.*, 2011; Henriquez *et al.*, 2014), o número de espécies utilizadas foi ainda mais reduzido.

Os dados de Gauthier *et al.* (2008), no entanto, são contraditórios no que diz respeito à resposta gerada pelos diferentes tipos de marcadores (nucleares e plastidiais), bem como pelos métodos de reconstrução filogenética utilizados (MP e IB), mostrando topologias divergentes e com baixo suporte nos agrupamentos entre e dentro dos subgêneros de *Philodendron*. Comparativamente, os resultados aqui apresentados mostram uma resolução superior, principalmente levando em consideração os valores de suporte obtidos para os grandes clados do gênero, bem como nas relações entre os subgêneros de *Philodendron* e *H. seção Curmeria*. Apesar de contarem com representantes de quase todos os grupos taxonômicos baseados em caracteres morfológicos (apenas uma das nove seções do subgênero *Philodendron* que haviam sido descritas até o momento não foi amostrada), a maior limitação do trabalho de Gauthier *et al.* (2008) foi a inconsistência no que diz respeito às sequências obtidas para todo o conjunto amostral. Ao todo, os autores utilizaram 72 espécies, mas o número de sequências obtidas para cada uma das três diferentes regiões foi diferente (64 de ETS, 58 de *rpl16* e apenas 45 de ITS). Assim, para boa parte das espécies, não estavam disponíveis sequências de todas as três regiões,

o que possivelmente impossibilitou a utilização de um alinhamento concatenado durante as análises de reconstrução filogenética sem a exclusão de uma parcela considerável das amostras. Da mesma forma, quando as sequências foram analisadas separadamente, nossos resultados mostraram baixa resolução e vários grupos com suporte estatístico irrelevante. Apenas a partir da junção das regiões de cpDNA que as topologias resultantes das análises de MI e IB apresentaram grupos bem definidos.

Todas as regiões aqui empregadas, tanto as de cpDNA (*rpl32-trnL*, *trnV-ndhC* e *trnQ-5'-rps16*) quanto as nucleares (ITS1-DNAr 5,8S-ITS2) apresentaram proporções consideráveis de caracteres variáveis e informativos para parcimônia, indicando o grande potencial de aplicação destas sequências em análises evolutivas envolvendo grupos de Araceae. No entanto, levando em consideração as regiões plastidiais, apenas a *rpl32-trnL* havia sido utilizada anteriormente em um estudo envolvendo um grupo de Araceae, o qual abordou as relações filogenéticas e evolução de alguns caracteres entre espécies de *Arum* L. (Espíndola *et al.*, 2010). Mesmo assim, a proporção de caracteres polimórficos encontrada por Espíndola *et al.* (2008) foi muito inferior ao aqui observado, sendo 6,0% contra 17,4%. Adicionalmente, buscas utilizando a ferramenta BLASTN 2.2.3 (Altschul *et al.*, 1997) na base de dados do NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) confirmaram a ausência de dados relacionados às regiões *trnV-ndhC* e *trnQ-5'-rps16*, onde os únicos *hits* para outros táxons da família estavam relacionados a sequências completas do genoma plastidial de algumas poucas espécies (Andrey *et al.*, 2008; Wang & Messing, 2011; Ahmed *et al.*, 2012). Levando-se em consideração que Gauthier *et al.* (2008) haviam obtido apenas 6,5% de polimorfismo analisando o íntron do gene plastidial *rpl16*, é surpreendente que a região menos informativa no presente trabalho, a *rpl32-trnL*, tenha apresentado 17,4% de caracteres variáveis, indicando o potencial destes marcadores para a utilização em reconstruções filogenéticas em grupos de Araceae.

A confirmação de grandes clados com altos valores de suporte estatístico representando os subgêneros de *Philodendron* corrobora até certo ponto a divisão dos grupos com base em

caracteres morfológicos vegetativos e reprodutivos. Com a tentativa de diversos autores de classificar e agrupar os membros de *P.* subg. *Philodendron*, o qual apresenta um número de espécies quase quatro vezes do maior do que a junção de *Meconostigma* e *Pteromischum*, foram criadas 10 seções (Mayo, 1990; Croat, 1997, Sakuragui *et al.*, 2005; Köster & Croat, 2011), das quais as duas maiores (seções *Macrobium* e *Philodendron*) ainda estão subdivididas em diversas subseções e séries. Entretanto, nossos resultados mostram o polifiletismo destes grupos, principalmente para as duas grandes seções *Macrobium* e *Philodendron*, como previamente indicado por Gauthier *et al.* (2008). A seção *Tritomophyllum* (aqui representada por *P. anisotomum* Schott e *P. hylaeae* G.S.Bunting), que já havia sido indicada como um grupo possivelmente artificial por Croat (1997), também aparece aqui como polifilética. Adicionalmente, as espécies de *Schizophyllum* formaram um grupo relativamente coeso e bem suportado, apesar dos dois acessos de *P. ruthianum* Nadrusz aparecerem fora do agrupamento principal, indicando certa robustez da definição da seção.

As exceções com relação à formação dos grandes clados correspondentes aos três subgêneros, sendo as duas espécies de *Pteromischum* (*P. ichthyoderma* e *P. ligulatum*) dentro do grande clado A do subgênero *Philodendron*, e *P. humile* no mesmo clado das espécies de *H. seção Curmeria*, possivelmente ocorreram por diferentes motivos. No caso da primeira, o padrão de crescimento monopodial mesmo após a primeira floração, característico das espécies do subgênero *Pteromischum*, teria aparecido de forma independente também em membros do subgênero *Philodendron*, possivelmente sendo o caso do ancestral comum a *P. ichthyoderma* e *P. ligulatum*, levando-se em consideração o alto suporte estatístico do posicionamento das duas espécies no dendrograma. Já a relação de *P. humile* com as espécies amazônicas de *Homalomena* indica uma interpretação equivocada de Gonçalves (2002) ao incluir no gênero *Philodendron* a espécie terrícola *H. solimoensis*, a qual havia sido descrita originalmente por Barroso (1957).

A ideia do posicionamento do clado *Meconostigma* como irmão do resto do gênero, como aqui indicado pelas análises com os marcadores plastidiais, já havia sido apresentada por Mayo (1986) a partir de uma análise cladística baseada em caracteres florais. Levando-se em consideração a presença de estiletes lobados em todas as espécies de *Meconostigma*, assim como em *Homalomena*, estando ausentes nos subgêneros *Pteromischum* e *Philodendron* (outro argumento a favor da inclusão de *P. humile* como *H. solimoensis* em *H. seção Curmeria*), é possível considerar a reversão de tal característica como estado derivado dentro do gênero. No entanto, ainda há certa dúvida quanto ao primeiro grupo a divergir dentro do gênero, levando em consideração tanto os resultados aqui obtidos com a região de ITS quanto os apresentados por Gauthier *et al.* (2008) para os dois marcadores nucleares utilizados (ETS e ITS, que indicavam o subgênero *Pteromischum* como a primeira linhagem divergente em *Philodendron*), embora os valores de suporte não tenham sido satisfatórios nos dois casos citados.

Com relação aos agrupamentos dentro de *P. subg. Meconostigma*, o aparecimento de *P. venezuelense* como irmã do resto do subgênero (tanto nas análises das regiões de cpDNA quanto para ITS) contrasta com a topologia apresentada por Oliveira *et al.* (2014) para marcadores diferentes (ETS e *matK*). Os autores encontraram o grupo composto por *P. goeldii* e *P. solimoense* como a primeira linhagem divergente em *Meconostigma*, além de *P. venezuelense* dentro do clado das heliófilas e proximamente relacionada a *P. williamsii* J.D. Hooker., similarmente ao observado por Calazans *et al.* (2014) em uma análise filogenética baseada na morfologia de caracteres florais. Contudo, o alto suporte estatístico para a coesão do grupo das heliófilas (BS = 99 e PP = 1, para as regiões de cpDNA, e suporte máximo na MV e na IB para o ITS), o qual incluiu *P. williamsii*, além da utilização de três acessos de *P. venezuelense*, confere a hipótese de uma posição mais basal para *P. venezuelense* dentro de *Meconostigma* como sendo bastante plausível. Além disso, podemos considerar que a colonização do leste da América do Sul pelas espécies do subgênero em questão seja secundária e tenha sido um importante fator para o aumento da diversificação do grupo, sem ter havido a volta de uma

linhagem para a Amazônia, como sugerido previamente por Calazans *et al.* (2014) e Oliveira *et al.* (2014).

Da mesma forma, pode-se sugerir uma origem amazônica para as linhagens do subgênero *Philodendron*, considerando que os primeiros grupos a divergir (clados B e C) são compostos majoritariamente por espécies amazônicas. Nesse caso, a colonização de outros biomas teria sido secundária, podendo ter ocorrido diversas vezes de forma independente, havendo um retorno posterior à Amazônia, como sugerido pelos agrupamentos em vários nós do clado A com espécies de distribuição geográfica distinta. Adicionalmente, a ocupação de novos habitats deve ter sido um dos fatores fundamentais para a origem da grande diversidade no subgênero *Philodendron*, levando em consideração a diversidade consideravelmente menor encontrada nos grupos irmãos, da mesma forma observada para *Anthurium* (ver Carlsen & Croat, 2013), um dos maiores gêneros de angiospermas (The Plant List, 2013).

Nas análises filogenéticas baseadas em ITS entre todas as cinco seções reconhecidas de *Homalomena* (*Curmeria*) conduzidas por Yeng *et al.* (2013), foi observado o polifiletismo do gênero, o qual estava dividido em um clado com todos os grupos asiáticos (*Homalomena*, *Cyrtocladon*, *Chamaecladon* e *Geniculatae*) e *Curmeria*, a seção neotropical, inserida no gênero *Philodendron* como grupo irmão de *Pteromischum*. No entanto, a união entre *Curmeria* e *Pteromischum* apresentou baixo suporte estatístico (BS = 61 e PP = 0,86; Yeng *et al.*, 2013), enquanto que o agrupamento deste último com o subgênero *Philodendron* apareceu com valor máximo de suporte estatístico na IB com os marcadores plastidiais utilizados no presente trabalho. Desta forma, acreditamos que a medida mais cautelosa, em relação à separação de *Curmeria* e *Homalomena sensu stricto*, seria remover apenas as espécies neotropicais de *Homalomena* para o antigo gênero *Adelonema* descrito por Schott (1860), como uma das alternativas apresentadas por Yeng *et al.* (2013). Qualquer uma das outras opções, as quais necessariamente estavam associadas com exclusão das espécies de *Pteromischum*, seja para formar um gênero próprio – *Elopium* (Schott, 1865) – ou fazer parte de *Adelonema*, acarretaria

em um polifiletismo no gênero *Philodendron*, além de demandar desnecessariamente alterações taxonômicas mais profundas.

REFERÊNCIAS

- Ahmed I, Biggs PJ, Matthews PJ, Collins LJ, Hendy MD, Lockhart PJ. 2012.** Mutational dynamics of aroid chloroplast genomes. *Genome Biology and Evolution* **4**: 1316-1323.
- Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman, D. J. 1997.** Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research* **25**: 3389-3402.
- Barabé D, Bruneau A, Forest F, Lacroix C. 2002.** The correlation between development of atypical bisexual flowers and phylogeny in the Aroideae (Araceae). *Plant Systematics and Evolution* **232**: 1-19.
- Barroso GM. 1957.** Araceae Novae. *Archivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro* **15**: 89-98.
- Boyce PC, Croat TB. 2011 [onwards].** The Überlist of Araceae, totals for published and estimated number of species in aroid genera. <http://www.aroid.org/genera/111109uberlist.pdf>. 10 September 2014.
- Cabrera LI, Salazar GA, Chase MW, Mayo SJ, Bogner J, Dávila P. 2008.** Phylogenetic relationships of aroids and duckweeds (Araceae) inferred from coding and noncoding plastid DNA. *American Journal of Botany* **95**:1153-1165.
- Calazans LSB, Sakuragui CM, Mayo SJ. 2014.** From open areas to forests? The evolutionary history of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae) using morphological data. *Flora* **209**: 117-121.

- Carlsen MM, Croat TB. 2013.** A molecular phylogeny of the species-rich Neotropical genus *Anthurium* (Araceae) based on combined chloroplast and nuclear DNA. *Systematic Botany* **38**: 576-588.
- Croat TB. 1997.** A revision of *Philodendron* subgenus *Philodendron* (Araceae) for Mexico and Central America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **84**: 311-704.
- Cusimano N, Bogner J, Mayo SJ, Boyce PC, Wong SY, Hesse M, Hetterscheid WLA, Keating RC, French JC. 2011.** Relationships within the Araceae: comparison of morphological patterns with molecular phylogenies. *American Journal of Botany* **98**: 654-668.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012.** jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* **9**: 772.
- Espíndola A, Buerki S, Bedalov M, Kupfer P, Alvarez N.** New insights into the phylogenetics and biogeography of *Arum* (Araceae): unravelling its evolutionary history. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **163**: 14-32.
- French JC, Chung M, Hur Y. 1995.** Chloroplast DNA phylogeny of the Ariflorae. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ, eds. *Monocotyledons: systematics and evolution 1*. Richmond: Royal Botanical Garden, Kew, 255-275.
- Gauthier MPL, Barabe D, Bruneau A. 2008.** Molecular phylogeny of the genus *Philodendron* (Araceae): delimitation and infrageneric classification. *Botanical Journal of the Linnean Society* **156**: 13-27.
- Gonçalves EG. 2002.** New aroid taxa from Brazil. *Aroideana* **25**: 16-35.
- Henriquez CL, Arias T, Pires JC, Croat TB, Schaal BA. 2014.** Phylogenomics of the plant family Araceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **75**: 91-102.
- Irume MV, Morais MLCS, Zartman CE, Amaral IL. 2013.** Floristic composition and community structure of epiphytic angiosperms in a terra firme forest in central Amazonia. *Acta Botanica Brasilica* **27**: 378-393.

- Katoh K, Standley DM. 2013.** MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular Biology and Evolution* **30**: 772-780.
- Köster N, Croat TB. 2011.** A new section and a new species of *Philodendron* (Araceae) from Ecuador. *Willdenowia* **41**: 119-124.
- Mardanov AV, Ravin NV, Kuznetsov BB, Samigullin TH, Antonov AS, Kolganova TV, Skyabin KG. 2008.** Complete sequence of the duckweed (*Lemna minor*) chloroplast genome: structural organization and phylogenetic relationships to other angiosperms. *Journal of Molecular Evolution* **66**: 555-564.
- Mayo SJ. 1988.** Aspectos da evolução e da geografia do gênero *Philodendron* Schott (Araceae). *Acta Botanica Brasilica* **1**: 27-40.
- Mayo SJ. 1990.** History and infrageneric nomenclature of *Philodendron* (Araceae). *Kew Bulletin* **45**: 37-71.
- Mayo SJ. 1991.** A revision of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). *Kew Bulletin* **46**: 601-681.
- Mayo SJ, Bogner J, Boyce PC. 1997.** *The genera of Araceae*. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew.
- Michaels SD, John MC, Amasino RM. 1994.** Removal of polysaccharides from plant DNA by ethanol precipitation. *Biotechniques* **17**: 274-276.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010.** Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*: 14 Nov 2010; New Orleans. Piscataway, New Jersey: Institute of Electrical and Electronics Engineers; 2010: 1-8.
- Okonechnikov K, Golosova O, Fursov M. 2012.** Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics* **17**: 1166-1167.

- Oliveira LL, Calazans LSB, Morais EB, Mayo SJ, Schrago CG, Sakuragui CM. 2014.** Floral evolution of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). *PLoS ONE* **9**: e89701.
- Rogstad SH. 1992.** Saturated NaCl-CTAB solution as a means of field preservation of leaves for DNA analyses. *Taxon* **41**: 701-708.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. 2012.** MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**: 539-542.
- Sakuragui CM, Mayo SJ, Zappi DC. 2005.** Taxonomic revision of Brazilian species of *Philodendron* section *Macrobelium*. *Kew Bulletin* **60**: 465-513.
- Schott HW. 1860.** *Prodromus Systematis Aroidearum*. Wien: Typis congregationis mechitharisticae.
- Schott HW. 1865.** Beitrage zur Aroideenkunde. *Oesterreichische botanische Zeitschrift* **15**: 33-35.
- Shaw J, Lickey EB, Schilling EE, Small RL. 2007.** Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *American Journal of Botany* **94**: 275-288.
- Stamatakis A. 2006.** RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* **22**: 2688-2690.
- Swofford DL. 2002.** *PAUP*: phylogenetic analysis using parsimony (*and other methods)*. Versão 4.0b10. Sunderland: Sinauer Associates.
- The Plant List. 2013.** Version 1.1. <http://www.theplantlist.org>. 10 September 2014.
- Wang W, Messing J. 2011.** High-throughput sequencing of three *Lemnoideae* (duckweeds) chloroplast genomes from total DNA. *PLoS ONE* **6**: e24670.

- Weising K, Nybom H, Wolff K, Kahl G. 2005.** *DNA Fingerprinting in plants, principles, methods, and applications*. 2ª Edição. Boca Raton: CRC Press.
- Yang Z. 1993.** Maximum-likelihood estimation of phylogeny from DNA sequences when substitution rates differ over sites. *Molecular Biology and Evolution* **10**: 1396-1401.
- Yeng WS, Jean TP, Kiaw NK, Othman AS, Boon LH, Ahmad FB, Boyce PC. 2013.** Phylogeny of Asian *Homalomena* (Araceae) based on the ITS region combined with morphological and chemical data. *Systematic Botany* **38**: 589-599.

Tabela Suplementar S1. Espécies de *Homalomena* e *Philodendron* com sequências da região nuclear de ITS disponíveis no GenBank, as quais foram utilizadas no presente trabalho.

Táxon	Acesso GenBank
<i>Homalomena asmae</i> Baharuddin & P.C.Boyce	JQ413317.1
<i>Homalomena asmae</i> Baharuddin & P.C.Boyce	JX076771.1
<i>Homalomena atrox</i> P.C.Boyce et al.	JQ955571.1
<i>Homalomena borneensis</i> Ridl.	JQ413327.1
<i>Homalomena borneensis</i> Ridl.	JQ955573.1
<i>Homalomena borneensis</i> Ridl.	JQ955578.1
<i>Homalomena borneensis</i> Ridl.	JX076772.1
<i>Homalomena clandestina</i> P.C.Boyce et al.	JQ413328.1
<i>Homalomena clandestina</i> P.C.Boyce et al.	JQ413329.1
<i>Homalomena clandestina</i> P.C.Boyce et al.	JX076774.1
<i>Homalomena clandestina</i> P.C.Boyce et al.	JX076775.1
<i>Homalomena cochinchinensis</i> Engl.	DQ866877.1
<i>Homalomena crinipes</i> Engl.	DQ866878.1
<i>Homalomena curvata</i> Engl.	JQ413313.1
<i>Homalomena curvata</i> Engl.	JQ413314.1
<i>Homalomena curvata</i> Engl.	JX076776.1
<i>Homalomena curvata</i> Engl.	JX076777.1
<i>Homalomena debilicrista</i> Y.C.Hoe	JQ955574.1
<i>Homalomena erythropus</i> (Mart. ex Schott) Engl.	DQ866879.1
<i>Homalomena expedita</i> A.Hay & Hersc.	JQ413312.1
<i>Homalomena expedita</i> A.Hay & Hersc.	JX076778.1
<i>Homalomena giamensis</i> L.S.Tung, et al.	JQ929129.1
<i>Homalomena hanneae</i> P.C.Boyce et al.	JQ413318.1
<i>Homalomena hanneae</i> P.C.Boyce et al.	JQ413339.1
<i>Homalomena hanneae</i> P.C.Boyce et al.	JX076779.1
<i>Homalomena hanneae</i> P.C.Boyce et al.	JX076780.1
<i>Homalomena hanneae</i> P.C.Boyce et al.	JX076801.1
<i>Homalomena hanneae</i> P.C.Boyce et al.	JX076802.1
<i>Homalomena hanneae</i> P.C.Boyce et al.	JX076803.1
<i>Homalomena hanneae</i> P.C.Boyce et al.	JX076804.1
<i>Homalomena havilandii</i> Ridl.	JQ413332.1
<i>Homalomena havilandii</i> Ridl.	JX076781.1
<i>Homalomena humilis</i> (Jack) Hook.f.	JQ413316.1
<i>Homalomena humilis</i> (Jack) Hook.f.	JX076805.1
<i>Homalomena humilis</i> (Jack) Hook.f.	JX076806.1
<i>Homalomena insignis</i> N.E.Br.	JQ413330.1
<i>Homalomena insignis</i> N.E.Br.	JQ413331.1
<i>Homalomena insignis</i> N.E.Br.	JX076782.1
<i>Homalomena insignis</i> N.E.Br.	JX076783.1
<i>Homalomena josefii</i> P.C.Boyce & S.Y.Wong	JQ413325.1
<i>Homalomena josefii</i> P.C.Boyce & S.Y.Wong	JX076784.1
<i>Homalomena matangae</i> Y.C. Hoe et al.	JQ955577.1

Tabela Suplementar S1. (continuação)

<i>Homalomena panamense</i> Croat & Mansell	DQ866880.1
<i>Homalomena philippinensis</i> Engl.	DQ866881.1
<i>Homalomena picturata</i> (Linden & André) Regel	DQ866882.1
<i>Homalomena punctulata</i> Engl.	JQ413337.1
<i>Homalomena punctulata</i> Engl.	JX076785.1
<i>Homalomena rostrata</i> Griff.	JX024998.1
<i>Homalomena rostrata</i> Griff.	JX076786.1
<i>Homalomena sengkenyang</i> P.C.Boyce et al.	JQ413319.1
<i>Homalomena sengkenyang</i> P.C.Boyce et al.	JQ413320.1
<i>Homalomena sengkenyang</i> P.C.Boyce et al.	JQ413321.1
<i>Homalomena sengkenyang</i> P.C.Boyce et al.	JX076787.1
<i>Homalomena sengkenyang</i> P.C.Boyce et al.	JX076788.1
<i>Homalomena sengkenyang</i> P.C.Boyce et al.	JX076789.1
<i>Homalomena sengkenyang</i> P.C.Boyce et al.	JX076790.1
<i>Homalomena symplocarpifolia</i> P.C.Boyce et al.	JQ413322.1
<i>Homalomena symplocarpifolia</i> P.C.Boyce et al.	JX076807.1
<i>Homalomena symplocarpifolia</i> P.C.Boyce et al.	JX076808.1
<i>Homalomena vagans</i> P.C.Boyce	JQ413333.1
<i>Homalomena vagans</i> P.C.Boyce	JX076809.1
<i>Homalomena vivens</i> P.C.Boyce et al.	JQ413323.1
<i>Homalomena vivens</i> P.C.Boyce et al.	JQ413324.1
<i>Homalomena vivens</i> P.C.Boyce et al.	JX076796.1
<i>Homalomena vivens</i> P.C.Boyce et al.	JX076797.1
<i>Homalomena wallisii</i> Regel	JQ413335.1
<i>Homalomena wallisii</i> Regel	JX076798.1
<i>Homalomena wendlandii</i> Schott	DQ866883.1
<i>Homalomena</i> sp.Ar3065	JX076794.1
<i>Homalomena</i> sp.Batang	JX076791.1
<i>Homalomena</i> sp.BatangAi	JQ413334.1
<i>Homalomena</i> sp.Melaka	JQ413315.1
<i>Homalomena</i> sp.Melaka	JX076792.1
<i>Homalomena</i> sp.Pahang	JQ413326.1
<i>Homalomena</i> sp.Pahang	JX076793.1
<i>Philodendron angustisectum</i> Engl.	DQ866884.1
<i>Philodendron anisotomum</i> Schott	DQ866885.1
<i>Philodendron barrosoanum</i> G.S.Bunting	DQ866886.1
<i>Philodendron bipinnatifidum</i> Schott ex Endl.	JQ413336.1
<i>Philodendron bipinnatifidum</i> Schott ex Endl.	JX089318.1
<i>Philodendron brevispathum</i> Schott	DQ866887.1
<i>Philodendron distantilobum</i> K.Krause	DQ866889.1
<i>Philodendron ecordatum</i> Schott	DQ866890.1
<i>Philodendron findens</i> Croat & Grayum	DQ866892.1
<i>Philodendron fragrantissimum</i> (Hook.) G.Don	DQ866893.1
<i>Philodendron glaziovii</i> Hook.f.	DQ866894.1

Tabela Suplementar S1. (continuação)

<i>Philodendron goeldii</i> G.M.Barroso	DQ866895.1
<i>Philodendron grandipes</i> K.Krause	DQ866896.1
<i>Philodendron hederaceum</i> (Jacq.) Schott	DQ866910.1
<i>Philodendron heleniae</i> Croat	DQ866897.1
<i>Philodendron hylaeae</i> G.S.Bunting	DQ866898.1
<i>Philodendron insigne</i> Schott	DQ866899.1
<i>Philodendron lindenii</i> Engl.	DQ866900.1
<i>Philodendron linnaei</i> Kunth	DQ866901.1
<i>Philodendron longistilum</i> K.Krause	DQ866902.1
<i>Philodendron lundii</i> Warm.	DQ866903.1
<i>Philodendron mamei</i> André	DQ866904.1
<i>Philodendron martianum</i> Engl.	DQ866888.1
<i>Philodendron ornatum</i> Schott	DQ866891.1
<i>Philodendron panamense</i> K.Krause	DQ866905.1
<i>Philodendron pedatum</i> (Hook.) Kunth	DQ866906.1
<i>Philodendron pterotum</i> K.Koch & Augustin	DQ866907.1
<i>Philodendron radiatum</i> Schott	DQ866908.1
<i>Philodendron radiatum</i> Schott	JX024997.1
<i>Philodendron radiatum</i> Schott	JX076799.1
<i>Philodendron sagittifolium</i> Liebm.	DQ866909.1
<i>Philodendron serpens</i> Hook.f.	DQ866911.1
<i>Philodendron smithii</i> Engl.	DQ866912.1
<i>Philodendron sodiroi</i> N.E.Br.	DQ866913.1
<i>Philodendron solimoesense</i> A.C.Sm.	DQ866914.1
<i>Philodendron squamiferum</i> Poepp.	DQ866916.1
<i>Philodendron stenophyllum</i> K.Krause	DQ866917.1
<i>Philodendron surinamense</i> (Miq.) Engl.	DQ866918.1
<i>Philodendron undulatum</i> Engl.	DQ866919.1
<i>Philodendron xanadu</i> Croat et al.	DQ866920.1
<i>Philodendron</i> sp.Ptero 84914	DQ866915.1

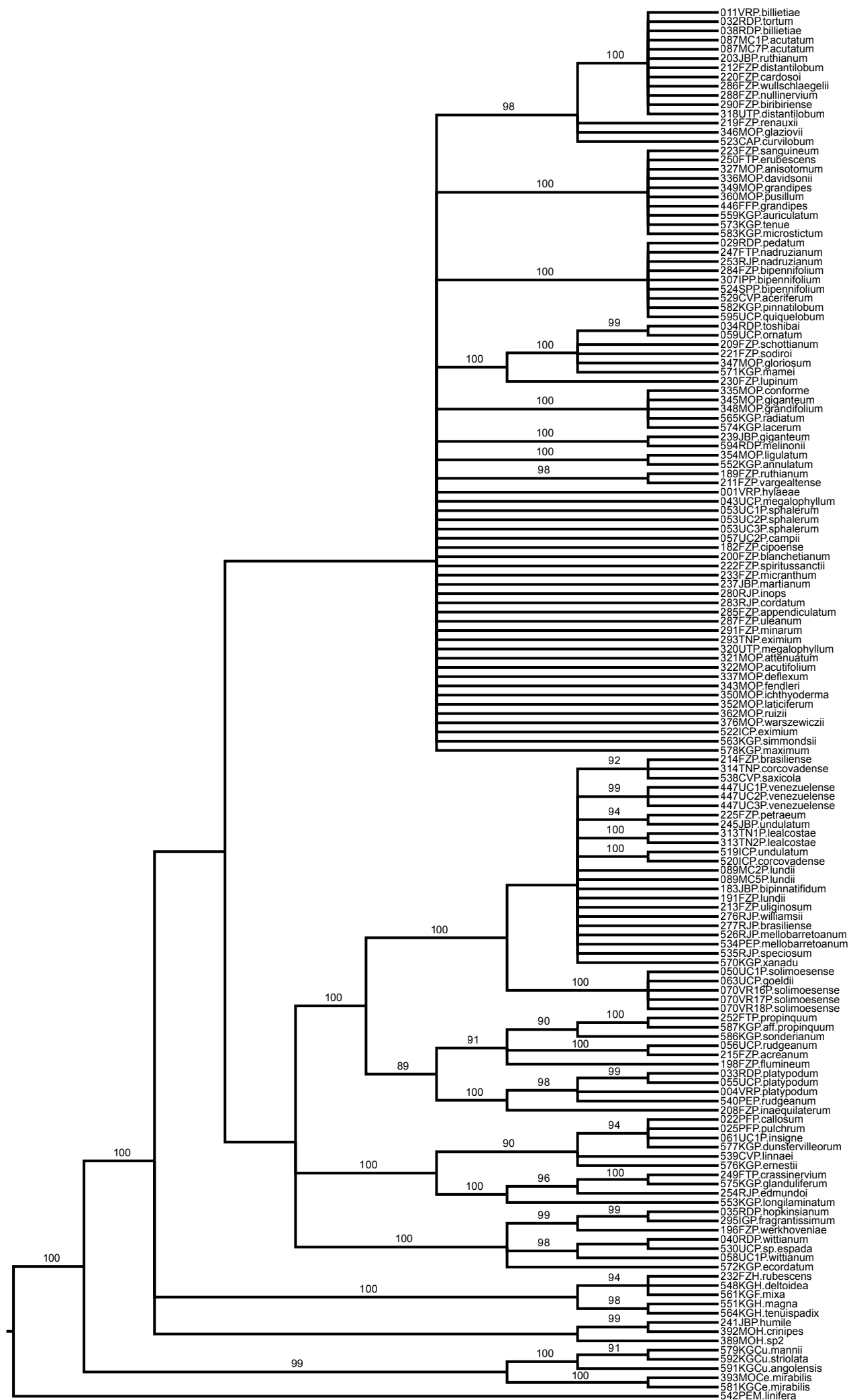


Figura Suplementar S1. Árvore filogenética baseada na análise de máxima verossimilhança (MV) com a região plastidial *rpl32-trnL* para as relações entre espécies do gênero *Philodendron* e grupos irmãos. Os números posicionados acima dos ramos correspondem aos valores de *bootstrap*.

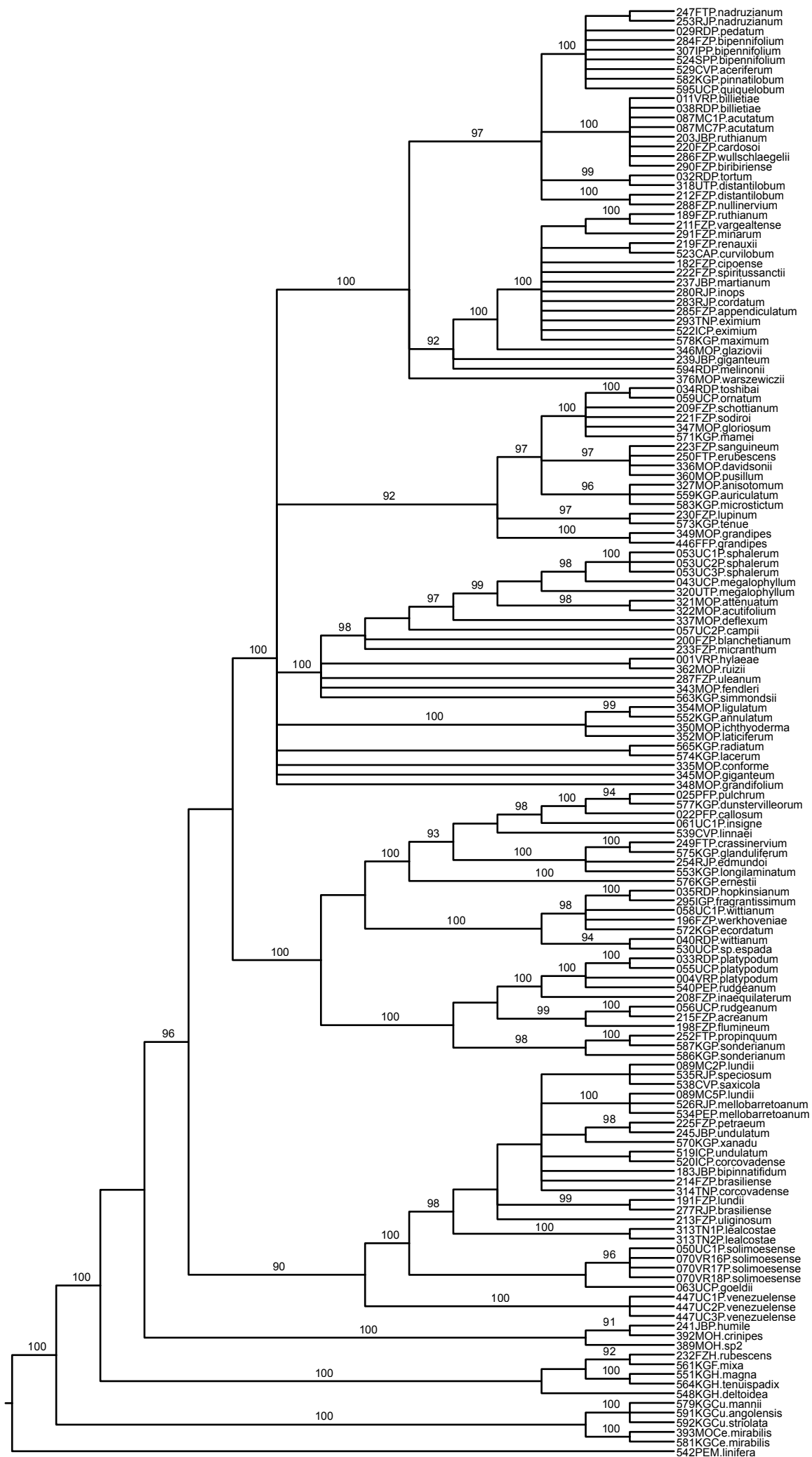


Figura Suplementar S2. Árvore filogenética baseada na análise de máxima verossimilhança (MV) com a região plastidial *trnQ-5'-rpl16* para as relações entre espécies do gênero *Philodendron* e grupos irmãos. Os números posicionados acima dos ramos correspondem aos valores de *bootstrap*.

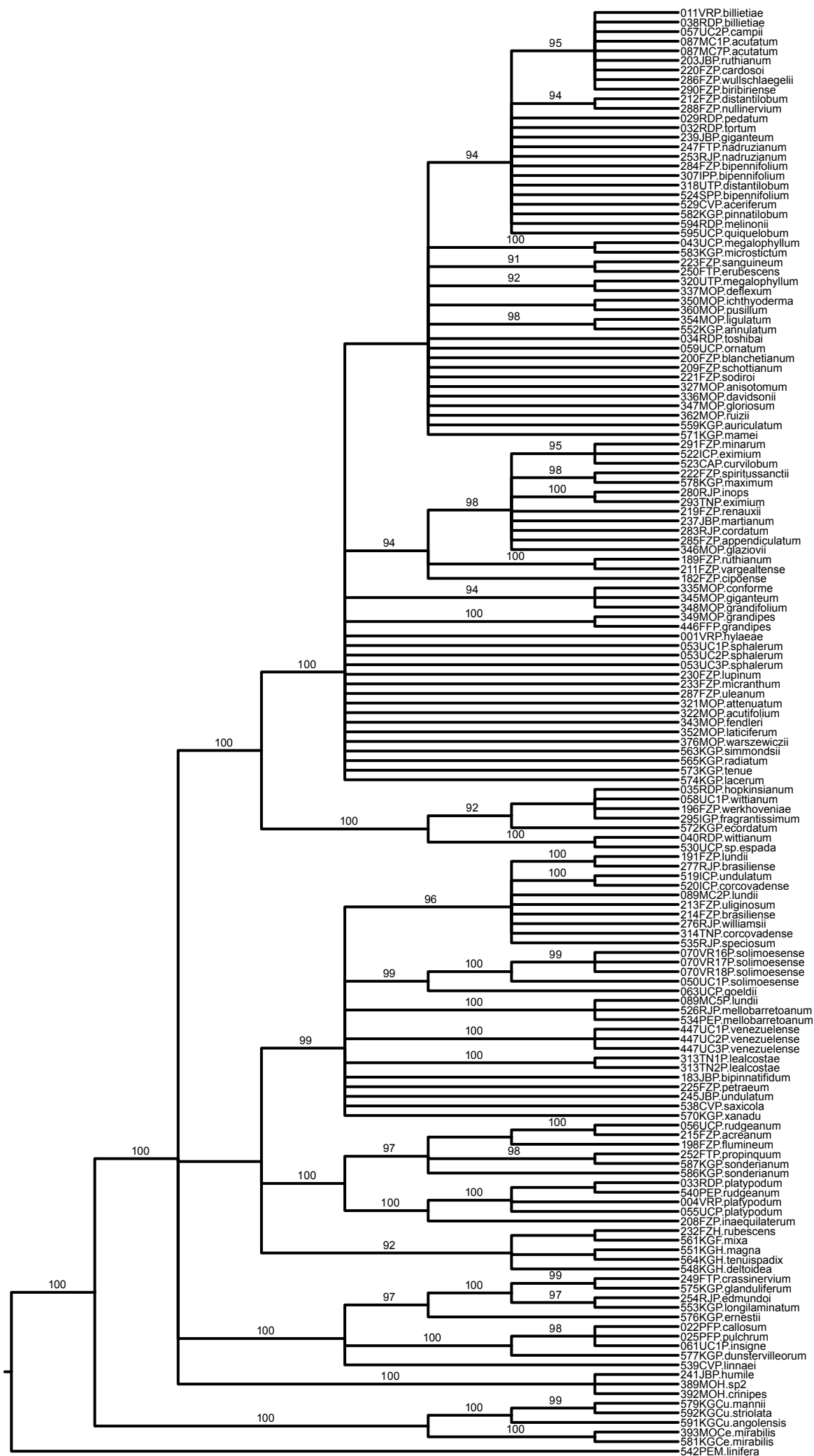


Figura Suplementar S3. Árvore filogenética baseada na análise de máxima verossimilhança (MV) com a região plastidial *trnV-ndhC* para as relações entre espécies do gênero *Philodendron* e grupos irmãos. Os números posicionados acima dos ramos correspondem aos valores de *bootstrap*.

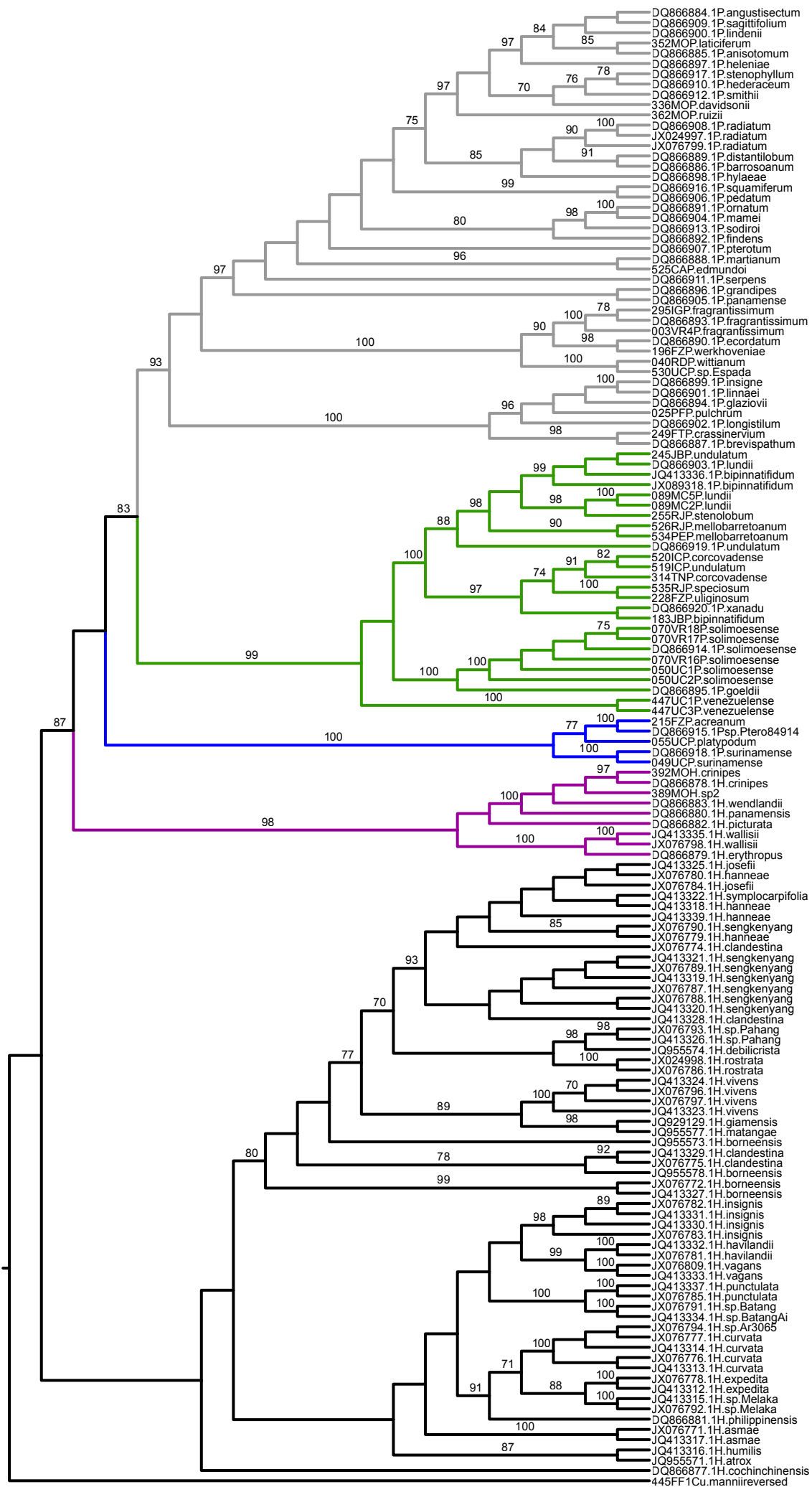


Figura Suplementar S4. Árvore filogenética baseada nas análises de máxima verossimilhança (MV) com a região de ITS (ITS1-DNAR 5,8S-ITS2) para as relações entre espécies do gênero *Philodendron* e os grupos irmãos. O cladograma foi dividido em quatro principais clados e três subclados: espécies de *Philodendron* subgênero *Philodendron* (em cinza); espécies de *Meconostigma* (verde); subgênero *Pteromischum* (azul); e espécies de *Homalomena* seção *Curmeria* (roxo). Os números posicionados nos ramos correspondem aos valores de *bootstrap*.

6. CAPÍTULO III

Manuscrito em preparação a ser submetido ao periódico *Annals of Botany* (ISSN: 0305-7364):

Evolução do tamanho genômico e número diploide no gênero neotropical *Philodendron* (Araceae)

Evolução do tamanho genômico e número diploide no gênero neotropical *Philodendron* (Araceae)

Santelmo Vasconcelos^{1,2}, Oriane Hidalgo³, Ilia J. Leitch³, José Marcello Salabert de Campos⁴, Lyderson F. Viccini⁴, Luiz Gustavo R. Souza¹, Maria de Lourdes da C. Soares⁵, Ana M. Benko-Iseppon^{2,*}

¹*Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Rua Prof. Nelson Chaves s/n, Recife, Pernambuco, CEP 50670-901, Brazil*

²*Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Av. da Engenharia s/n, Recife, Pernambuco, CEP 50740-600, Brazil*

³*Jodrell Laboratory, Royal Botanic Gardens, Kew, Richmond, Surrey, TW9 3AB, UK*

⁴*Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Minas Gerais, 36036-900, Brazil*

⁵*Departamento de Botânica, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, Av. André Araújo 2936, Manaus, Amazonas, CEP 69060-001, Brazil*

*Autor para correspondência. E-mail: ana.benko.iseppon@cnpq.pq.br

- *Fundamentação e Objetivos* Apesar da grande importância das espécies do gênero *Philodendron* para as florestas úmidas tropicais, ainda pouco se sabe a respeito da evolução cariotípica do grupo, principalmente com relação à evolução do conteúdo de DNA e dos números diploides entre as espécies. Desta forma, por meio de estimativas de conteúdo de DNA e análise de dados de contagens cromossômicas, a história evolutiva de tais caracteres dentro do gênero foi traçada por meio de mapeamento de estado ancestral utilizando dados prévios da filogenia molecular do grupo.
- *Métodos* Estimativas de conteúdo de DNA foram realizadas por meio de citometria de fluxo utilizando 125 espécies de *Philodendron* e grupos irmãos. Além disso, foram realizadas contagens cromossômicas de cinco espécies, em adição aos números diploides previamente descritos. A evolução de ambas as características cariotípicas foi mapeada na filogenia do gênero, a qual foi baseada em sequências de três regiões de cpDNA (*rpl32-trnL*, *trnQ-5'-rps16* e *trnV-ndhC*) previamente descritas.
- *Resultados-chave* As espécies de *Philodendron* apresentaram uma grande variação no conteúdo de DNA, estando entre 2,48-7,52 pg (média de 4,54 pg). Levando em consideração os dados de números diploides, não houve correlação dos mesmos com o conteúdo de DNA ($r = 0,055$; $p = 0,697$). Contudo, tanto o tamanho genômico quanto o número diploide apresentaram forte sinal filogenético, havendo uma tendência dos nós ancestrais da grande maioria dos grupos estar associada ao valor médio de conteúdo de DNA do gênero e número cromossômico de $2n = 32$.
- *Conclusões* Nossos resultados a partir das análises de evolução de caracteres citológicos de grande importância para as células eucarióticas, como o conteúdo de DNA e número cromossômico, indicam uma enorme relevância dos mecanismos acúmulo/eliminação de DNA repetitivo para a evolução cariotípica de *Philodendron*,

dada a grande variabilidade entre as espécies do gênero, a qual contrasta com a relativa estabilidade dos números diploides entre diferentes linhagens.

Palavras-chave: conteúdo de DNA, disploidia, DNA repetitivo, evolução cariotípica, *Meconostigma*, *Pteromischum*.

INTRODUÇÃO

O gênero *Philodendron* Schott (Araceae) é um importante componente da flora dos neotrópicos, contando com aproximadamente 500 espécies amplamente distribuídas, em sua grande maioria, pelas florestas tropicais úmidas das Américas Central e do Sul, embora também ocorra em ambientes mais secos como a Caatinga e o Cerrado (Boyce e Croat, 2011; The Plant List, 2013; Calazans *et al.*, 2014). Há uma grande diversidade ecológica no grupo, com uma predominância de hemiepífitas (hábito lianescente) altamente adaptadas a ambientes sombreados, havendo também espécies heliófilas de hábito arborescente (Mayo *et al.*, 1997).

Além de ser um gênero relativamente bem estudado taxonomicamente (Mayo, 1991; Grayum, 1996; Croat, 1997; Sakuragui *et al.*, 2005), há alguns estudos recentes abordando as relações filogenéticas dentro do grupo (Gauthier *et al.*, 2008; Oliveira *et al.*, 2014; Vasconcelos *et al.*, *in prep.*). *Philodendron* vem sendo dividido em três subgêneros distintos (Mayo, 1990), os quais foram definidos com base em caracteres morfológicos e confirmados em análises de filogenia molecular posteriores (Gauthier *et al.*, 2008; Vasconcelos *et al.*, *in prep.*): *P.* subg. *Meconostigma* (21 spp.), *P.* subg. *Pteromischum* (78 spp.) e *P.* subg. *Philodendron* (ca. 400 spp.). O gênero faz parte da subfamília Aroideae e, atualmente, é um dos cinco grupos que fazem parte do clado *Homalomena sensu* Cusimano *et al.* (2011), juntamente com *Homalomena* Schott (ca. 69 spp. asiáticas e 13 sul-americanas), *Furtadoa*

M.Hotta (2 spp. asiáticas), *Cercestis* Schott (10 spp. africanas) e *Culcasia* P.Beauv. (28 spp. africanas) (Boyce e Croat, 2011; The Plant List, 2013).

Os estudos direcionados à evolução cariotípica e à organização do genoma das espécies de *Philodendron* ainda são escassos, bem como para a família como um todo, onde a grande maioria das análises citogenéticas com os grupos de Araceae abordam apenas descrições de números cromossômicos (e.g. Marchant, 1971; Petersen, 1989; Bogner e Petersen, 2007; Correia-da-Silva *et al.*, 2014). De acordo com a base de dados de valores C de DNA (Bennet e Leitch, 2012), há informações sobre o tamanho genômico de aproximadamente 150 espécies, número consideravelmente baixo, levando em consideração a grande diversidade numérica da família (ca. 3.300 spp.). *Anthurium* Schott (ca. 900 spp.) é o gênero mais representativo de Araceae em termos de espécies com conteúdo de DNA publicado, com 34 medições no total (3,8% do gênero) (Bliss e Suzuki, 2012), apresentando uma proporção um pouco abaixo do total da família (4,4%).

Em um estudo recente, Correia-da-Silva *et al.* (2014) revisaram os números diploides publicados previamente para *Philodendron*, além de realizarem 35 novas contagens, totalizando 66 espécies com números cromossômicos disponíveis no gênero. Apesar de haver uma variação de $2n = 28$ a 40 cromossomos (Correia-da-Silva *et al.*, 2014), a maioria das espécies apresenta $2n = 32$ (45,4%) ou 34 (27,3%) e os poucos dados de tamanhos genômicos publicados até o momento sugerem uma grande diversidade cariotípica intragenérica, com valores de 2C variando entre 2,4 e 10,56 pg (ver Bennett e Leitch, 2012). No entanto, tal variação no conteúdo de DNA está associada a análises com apenas cinco táxons (Olszewska e Osiecka, 1982; Ghosh *et al.*, 2001; Zonneveld *et al.*, 2005).

Desta forma, no presente trabalho foi realizada uma análise da evolução dos tamanhos genômicos em *Philodendron*, levando em consideração dados prévios de filogenia molecular (Vasconcelos *et al.*, *in prep.*), acrescentando dados de medições do conteúdo de DNA para

108 espécies do gênero, bem como para espécies de outros três membros do clado *Homalomena* sensu Cusimano *et al.* (2011), sendo seis de *Culcasia* P.Beauv., quatro de *Homalomena* Schott e duas de *Cercestis* Schott, cinco de *Schismatoglottis* Zollinger & Moritzi. Além disso, cinco espécies de *Schismatoglottis* Zollinger & Moritzi, outro gênero da subfamília Aroideae com padrão disjunto de distribuição entre a América tropical e o sudeste asiático, também foram analisadas. Adicionalmente, levamos em consideração os dados prévios de contagens cromossômicas, além de dados inéditos para quatro espécies, dos grupos analisados para auxiliar na elucidação da evolução dos números diploides em *Philodendron*.

MATERIAL E MÉTODOS

Material vegetal

Para as estimativas do conteúdo de DNA foram obtidas amostras de plantas cultivadas nas coleções do Departamento de Genética da Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Pernambuco, Brasil), da Fundação Zoo-Botânica de Belo Horizonte (Belo Horizonte, Brasil), do Jardim Botânico do Rio de Janeiro (Rio de Janeiro, Brasil) e do Royal Botanic Gardens, Kew (Richmond, Reino Unido). No total, foram analisados 163 acessos, incluindo 108 espécies de *Philodendron*, seis de *Culcasia*, cinco de *Schismatoglottis*, quatro de *Homalomena* e duas de *Cercestis* (Tabela 1).

Contagens cromossômicas

O material utilizado consistiu de pontas de raízes de indivíduos de cinco espécies do gênero *Philodendron* da coleção viva do Royal Botanic Gardens, Kew: *P. giganteum* Schott, *P. lacerum* (Jacq.) Schott, *P. renauxii* Reitz, *P. schmidtiae* Croat & C.E.Ceron e *P. tenue* K.Koch & Augustin. As preparações cromossômicas, passando por coleta de pontas de raízes,

pré-tratamento com 8-HQ (8-hidroxiquinoleína 2 mM), fixação com Carnoy (etanol: ácido acético, 3:1, v/v) e preparação de lâminas por esmagamento por coloração convencional com Giemsa 2%, seguiram o protocolo utilizado por Correia-da-Silva *et al.* (2014).

Medição do conteúdo 2C de DNA

As estimativas de tamanho genômico foram obtidas por meio de citometria de fluxo com preparações de núcleos diploides como descrito por Pellicer *et al.* (2013), com algumas modificações. Cerca de 1 cm² de tecido foliar de cada amostra foi cortado juntamente ao padrão de calibração, conforme indicado na Tabela 1, em 1 mL do tampão de isolamento (Tabela 1). Posteriormente, 1 mL do tampão foi adicionado e a amostra foi filtrada com uma malha de nylon de 30 µm. Os núcleos foram corados com 60 µL de iodeto de propídeo a 1 mg/mL e então incubados em gelo por pelo menos 15 min. As corridas das amostras foram realizadas em quatro citômetros de fluxo diferentes: Partec CyFlow SL13, Partec CyFlow Space, Partec PAII e Becton-Dickinson FACSCalibur. Para cada amostra foram preparadas pelo menos três corridas independentes em dias diferentes, sendo coletadas 5.000 partículas por corrida, totalizando o mínimo de 3.000 núcleos analisados por acesso.

Os programas FlowMax v.2.7 e Cell Quest foram utilizados para calcular o número médio do canal para cada pico nos histogramas do fluxo de partículas, para os citômetros da Partec e Becton-Dickinson, respectivamente. Posteriormente, os histogramas foram analisados e montados com o programa WinMDI 2.8. O valor 2C para cada acesso foi calculado de acordo com a média das razões entre os valores de intensidade de fluorescência dos picos das amostras e dos padrões de referência, de acordo com a Tabela 1.

Tabela 1. Conteúdo de DNA de espécies de *Philodendron*, *Homalomena*, *Cercestis*, *Culcasia* e *Schismatoglottis* analisadas por meio de citometria de fluxo, com os respectivos números cromossômicos, quando disponíveis.

Táxon	Procedência/Acesso ^b	2C (pg)	Padrão ^c	Tampão ^d	2n ^e
<i>Philodendron</i> subg. <i>Meconostigma</i> (Schott) Engl.					
<i>P. adamantinum</i> Schott	Kew/1987-232	4,50 ± 0,02	E	GPB	-
<i>P. adamantinum</i> Schott	JBRJ/A2001213	5,26 ± 0,05	T	LB01	-
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott ex Endl.	JBRJ/A201201	6,67 ± 0,02	T	LB01	36
<i>P. brasiliense</i> Engl.	FZBBH/ARA2000038	3,93 ± 0,05	T	MgSO ₄	-
<i>P. corcovadense</i> Kunth	FZBBH/ARA2001167	3,93 ± 0,04	T	LB01	36
<i>P. corcovadense</i> Kunth	JBRJ/A201215	4,20 ± 0,04	T	LB01	36
<i>P. goeldii</i> G.M.Barroso	LGBV/MC098RD	4,03 ± 0,02	T	WPB	32
<i>P. lundii</i> Warm.	JBRJ/A201205	5,85 ± 0,03	T	Tris.MgCl ₂	36
<i>P. mello-barretoanum</i> Burle-Marx ex G.M.Barroso	LGBV/SV534PE	6,30 ± 0,09	E	GPB	-
<i>P. saxicola</i> K.Krause	LGBV/SV538CV	4,65 ± 0,03	E	GPB	36
<i>P. solimoesense</i> A.C.Smith	Kew/2008-755	4,44 ± 0,07	E	GPB	32
<i>P. solimoesense</i> A.C.Smith	LGBV/SV070VR	4,23 ± 0,05	E	GPB	32
<i>P. solimoesense</i> A.C.Smith	FZBBH/JBI1817	4,36 ± 0,05	T	MgSO ₄	32
<i>P. speciosum</i> Schott ex Endl.	Kew/1983-8066	7,43 ± 0,01	E	GPB	36
<i>P. uliginosum</i> Mayo	FZBBH/ARA2010053	7,46 ± 0,02	T	MgSO ₄	28
<i>P. xanadu</i> Croat et al.	Kew s/n	7,58 ± 0,06	E	GPB	-
<i>P. subg. Philodendron</i> Engler					
seção <i>Baursia</i> Reichb.					
<i>P. crassinervium</i> Lindl.	Kew/1983-2057	5,66 ± 0,09	E	GPB	32
<i>P. crassinervium</i> Lindl.	Kew/2001-322	5,62 ± 0,16	E	GPB	32
<i>P. crassinervium</i> Lindl.	LGBV/SV249FT	5,56 ± 0,04	T	WPB	32
<i>P. deltoideum</i> Poepp.	JBB/031357483-2	4,72 ± 0,02	E	GPB	-
<i>P. glaziovii</i> Hook.f.	Kew/1979-2436	5,38 ± 0,08	E	GPB	-
<i>P. glaziovii</i> Hook.f.	Kew/1979-2441	5,24 ± 0,07	E	GPB	-
<i>P. insigne</i> Schott	Kew/1978-1647	4,70 ± 0,05	E	GPB	32
<i>P. linnaei</i> Kunth	Kew/1975-96	5,42 ± 0,06	E	GPB	32
<i>P. longilaminatum</i> Schott	Kew/1977-767	6,43 ± 0,06	E	GPB	-
<i>P. martianum</i> Engl.	FZBBH/ARA1999092	4,19 ± 0,03	T	MgSO ₄	34
<i>P. micranthum</i> Poepp. ex Schott	FZBBH/ARA2001096	4,13 ± 0,03	T	LB01	-
<i>P. renauxii</i> Reitz	Kew/1983-1988	3,92 ± 0,06	E	GPB	34*

Tabela 1. (continuação)

<i>P. sp. aff. glaziovii</i> Hook.f.	Kew/1983-2011	3,85 ± 0,06	E	GPB	-
seção <i>Camptogynium</i> K.Krause					
<i>P. longistilum</i> K.Krause	FZBBH/ARA2001093	3,48 ± 0,03	T	LB01	-
seção <i>Macrobadium</i> (Schott) Sakur.					
<i>P. acutatum</i> Schott	Kew/1979-3174	4,66 ± 0,14	E	GPB	32
<i>P. acutatum</i> Schott	Kew/1980-1637	4,92 ± 0,06	E	GPB	32
<i>P. acutatum</i> Schott	LGBV/SV076VR	4,26 ± 0,09	T	WPB	32
<i>P. acutatum</i> Schott	FZBBH/ARA2001067	4,17 ± 0,02	T	MgSO ₄	32
<i>P. annulatum</i> Croat	Kew/1996-4421	3,61 ± 0,02	E	GPB	-
<i>P. auriculatum</i> Standl.& L.O.Williams	Kew/1959-43410	3,15 ± 0,03	E	GPB	-
<i>P. biribiriense</i> Sakuragui & Mayo	FZBBH/ARA1999134	4,44 ± 0,02	T	MgSO ₄	-
<i>P. burle-marxii</i> G.M.Barroso	Kew/1960-42503	5,08 ± 0,06	E	GPB	-
<i>P. burle-marxii</i> G.M.Barroso	Kew/1975-98	5,09 ± 0,08	E	GPB	-
<i>P. campii</i> Croat	Kew/1982-1538	5,22 ± 0,08	E	GPB	-
<i>P. carinatum</i> E.G.Gonç.	FZBBH/ARA2000046	4,89 ± 0,03	T	Tris.MgCl ₂	-
<i>P. cipoense</i> Sakuragui & Mayo	FZBBH/SPI2009096	5,38 ± 0,05	T	LB01	32
<i>P. cordatum</i> (Vell.) Kunth	Kew/1996-2103	4,04 ± 0,05	E	GPB	34
<i>P. curvilobum</i> Schott	LGBV/SV523CA	3,94 ± 0,09	T	WPB	-
<i>P. erubescens</i> K.Koch & Augustin	Kew/2000-787	3,63 ± 0,01	E	GPB	32
<i>P. eximium</i> Schott	Kew/1983-2000	4,34 ± 0,04	E	GPB	32
<i>P. eximium</i> Schott	LGBV/SV522IC	4,43 ± 0,04	T	WPB	32
<i>P. eximium</i> Schott	LGBV/SV293TN	5,35 ± 0,01	T	WPB	32
<i>P. grazielae</i> G.S.Bunting	JBB/031537483-2	4,87 ± 0,03	E	GPB	-
<i>P. hastatum</i> K.Koch & Sello	LGBV/SV251FT	4,13 ± 0,04	T	LB01	30
<i>P. microstictum</i> Standl. & L.O.Williams	Kew/1979-3224	3,63 ± 0,07	E	GPB	34
<i>P. minarum</i> Engl.	FZBBH/ARA2010010	4,26 ± 0,07	T	LB01	-
<i>P. pastazanum</i> K.Krause	JBRJ/A201211	4,22 ± 0,06	T	LB01	-
<i>P. pseudoauriculatum</i> Croat	Kew/1996-4423	3,27 ± 0,03	E	GPB	-
<i>P. ricardoi</i> E.G.Gonç.	FZBBH/JBI1830	4,56 ± 0,04	T	LB01	-
<i>P. scherberichii</i> Croat & M.M.Mora	Kew/2008-1088	2,97 ± 0,06	E	GPB	-
<i>P. simmondsii</i> Mayo	Kew/1985-1963	4,86 ± 0,05	E	GPB	-
<i>P. smithii</i> Engl.	Kew/1980-1583	3,86 ± 0,05	E	GPB	-
<i>P. spiritus-sancti</i> G.S.Bunting	FZBBH/ARA2009002	4,45 ± 0,04	T	Tris.MgCl ₂	-

Tabela 1. (continuação)

<i>P. uleanum</i> Engl.	Kew/1982-1568	5,41 ± 0,07	E	GPB	-
<i>P. vargealtense</i> Sakuragui	FZBBH/MAT306	4,43 ± 0,04	T	LB01	-
seção <i>Macrogynium</i> Engl.					
<i>P. jacquinii</i> Schott	Kew/1980-1634	3,17 ± 0,04	E	GPB	-
seção <i>Philodendron</i> (Jacq.) Schott					
<i>P. asplundii</i> Croat & M.L.Soures	FZBBH/ARA2001043	7,07 ± 0,02	T	LB01	34
<i>P. billietiae</i> Croat	Kew/1975-1460	4,88 ± 0,10	E	GPB	32
<i>P. billietiae</i> Croat	Kew/2005-2363	4,86 ± 0,01	T	GPB	32
<i>P. blanchetianum</i> Schott	Kew/1977-581	4,29 ± 0,07	E	GPB	34
<i>P. blanchetianum</i> Schott	FZBBH/JBI1769	4,27 ± 0,05	T	LB01	34
<i>P. brevispathum</i> Schott	Kew/2005-1225	5,20 ± 0,14	E	GPB	40
<i>P. ernestii</i> Engl.	Kew/1982-5234	3,69 ± 0,04	T	GPB	-
<i>P. ernestii</i> Engl.	FZBBH/ARA1999032	3,83 ± 0,07	T	LB01	-
<i>P. fragrantissimum</i> (Hook.) G.Don	Kew/1977-705	4,74 ± 0,01	E	GPB	32
<i>P. fragrantissimum</i> (Hook.) G.Don	JBRJ/A201209	4,76 ± 0,07	T	LB01	32
<i>P. fragrantissimum</i> (Hook.) G.Don	LGBV/SV295IG	4,70 ± 0,03	E	GPB	32
<i>P. geniculatum</i> Bogner & Croat	JBB/053139983-1	4,01 ± 0,05	E	GPB	-
<i>P. giganteum</i> Schott	Kew/2011-1735	4,29 ± 0,05	T	GPB	30
<i>P. giganteum</i> Schott	JBRJ/A201208	4,20 ± 0,06	T	LB01	30
<i>P. glanduliferum</i> Matuda	Kew/1981-3727	5,31 ± 0,07	T	GPB	-
<i>P. grandifolium</i> (Jacq.) Schott	Kew/2005-1223	4,19 ± 0,04	T	GPB	34
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	Kew/1974-1427	3,80 ± 0,05	E	GPB	32
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	Kew/1975-1916	3,65 ± 0,04	E	GPB	32
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	Kew/1994-1145	3,78 ± 0,09	E	GPB	32
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	LGBV/SV248FT	3,01 ± 0,04	T	Tris.MgCl ₂	32
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	LGBV/MC337LE	4,43 ± 0,05	T	WPB	32
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	Kew/1968-38203	3,66 ± 0,08	E	GPB	32
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	JBRJ/A201214	4,33 ± 0,09	T	LB01	32
<i>P. hopkinsianum</i> M.L.Soures & Mayo	LGBV/SV035RD	5,11 ± 0,02	E	GPB	32
<i>P. lupinum</i> E.G.Gonç. & J.B.Carvalho	FZBBH/ARA2001097	7,51 ± 0,05	T	MgSO ₄	-
<i>P. maximum</i> K.Krause	Kew/1973-381	4,30 ± 0,05	E	GPB	34
<i>P. megalophyllum</i> Schott	Kew/2005-1226	4,94 ± 0,04	E	GPB	34
<i>P. megalophyllum</i> Schott	LGBV/SV320UT	5,08 ± 0,06	T	WPB	34

Tabela 1. (continuação).

<i>P. melanochrysum</i> Linden & Andre	Kew/1960-31804	4,79 ± 0,05	E	GPB	32
<i>P. melinonii</i> Brongn.ex Regel	Kew/1984-1079	4,20 ± 0,06	E	GPB	30
<i>P. melinonii</i> Brongn.ex Regel	Kew/1993-2030	4,26 ± 0,10	E	GPB	30
<i>P. ornatum</i> Schott	Kew/1979-2482	4,05 ± 0,05	E	GPB	34
<i>P. ornatum</i> Schott	Kew/1982-1581	4,15 ± 0,02	E	GPB	34
<i>P. ornatum</i> Schott	JBRJ/A201210	4,13 ± 0,06	T	LB01	34
<i>P. schotianum</i> H.Wendl. ex Schott	FZBBH/JBI1737	3,95 ± 0,05	T	LB01	-
<i>P. tenue</i> K.Koch & Augustin	Kew/1984-612	3,76 ± 0,07	E	GPB	34*
<i>P. verrucosum</i> L.Mathieu ex Schott	Kew/2002-1549	3,47 ± 0,02	E	GPB	34
seção <i>Philopsammos</i> G.S.Bunting					
<i>P. callosum</i> K.Krause	Kew/1978-1657	5,25 ± 0,04	E	GPB	28
<i>P. callosum</i> K.Krause	LGBV/SV022PF	5,22 ± 0,04	E	GPB	28
<i>P. dunstervilleorum</i> G.S.Bunting	Kew/1996-4422	4,59 ± 0,16	E	GPB	-
<i>P. pulchrum</i> G.M.Barroso	LGBV/SV596UT	4,45 ± 0,03	E	GPB	26-28
seção <i>Polytomium</i> (Schott) Engler					
<i>P. cardosoi</i> E.G.Gonç.	FZBBH/JBI1831	4,94 ± 0,05	T	LB01	-
<i>P. distantilobum</i> K.Krause	LGBV/SV318UT	4,89 ± 0,01	E	GPB	32
<i>P. lacerum</i> (Jacq.) Schott	Kew/1979-3173	4,92 ± 0,04	E	GPB	32*
<i>P. radiatum</i> Schott	Kew/1984-2092	4,98 ± 0,03	E	GPB	32
<i>P. tortum</i> M.L.Souares & Mayo	Kew/1975-1459	4,77 ± 0,08	E	GPB	32
seção <i>Schizophyllum</i> (Schott) Engler					
<i>P. bipennifolium</i> Schott	Kew/1979-2484	4,29 ± 0,03	E	GPB	32
<i>P. bipennifolium</i> Schott	FZBBH/ARA2000069	4,15 ± 0,04	T	LB01	32
<i>P. nadruzianum</i> Sakur.	LGBV/SV247FT	4,52 ± 0,02	E	GPB	32
<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	Kew/1976-6148	4,76 ± 0,03	E	GPB	32
<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	Kew/1979-2476	4,74 ± 0,09	E	GPB	32
<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	Kew/1979-4381	4,77 ± 0,10	E	GPB	32
<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	Kew/2005-2361	4,46 ± 0,03	E	GPB	32
<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	LGBV/MC081RD	4,39 ± 0,12	T	WPB	32
<i>P. pinnatilobum</i> Engl.	Kew/1977-5364	4,38 ± 0,01	E	GPB	-
<i>P. quinquelobum</i> K.Krause	FZBBH/ARA2000060	4,60 ± 0,04	T	MgSO ₄	32
<i>P. ruthianum</i> Nadruz	JBRJ/A201204	4,38 ± 0,05	T	MgSO ₄	
<i>P. ruthianum</i> Nadruz	FZBBH/MAT173	4,40 ± 0,03	T	LB01	-

Tabela 1. (continuação)

<i>P. squamiferum</i> Poepp.	Kew/2005-1222	4,66 ± 0,03	T	GPB	32
<i>P. sp.nov. aff. squamiferum</i> Poepp.	LGBV/MC529CV	4,21 ± 0,11	T	WPB	-
seção <i>Tritomophyllum</i> Schott					
<i>P. hylaeae</i> G.S.Bunting	Kew/1970-528	5,47 ± 0,08	E	GPB	32
<i>P. hylaeae</i> G.S.Bunting	LGBV/SV319UT	5,37 ± 0,02	E	GPB	32
<i>P. tripartitum</i> (Jacq.) Schott	Kew/1980-1524	3,53 ± 0,04	E	GPB	-
<i>P. sp.nov. 2</i>	Kew/1979-2467	3,55 ± 0,04	E	GPB	-
Sem seção					
<i>P. camposportoanum</i> G.M.Barroso	FZBBH/ARA1999105	3,88 ± 0,02	T	Tris.MgCl ₂	-
<i>P. eordatum</i> Schott	Kew/2005-1224	3,95 ± 0,09	E	GPB	-
<i>P. elaphoglossoides</i> Schott	LGBV/MC175RD	4,04 ± 0,04	T	WPB	32
<i>P. inconcinnum</i> Schott	Kew/1981-3728	3,44 ± 0,06	E	GPB	-
<i>P. krugii</i> Engl.	Kew/1985-1961	3,61 ± 0,04	E	GPB	-
<i>P. mamei</i> André	Kew/2004-2611	4,73 ± 0,06	E	GPB	-
<i>P. schmidtiae</i> Croat & C.E.Ceron	Kew/1982-1573	3,82 ± 0,10	E	GPB	32*
<i>P. sodiroi</i> N.E.Br.	FZBBH/ARA0000008	4,60 ± 0,02	T	LB01	34
<i>P. wulschlaegelii</i> Schott	FZBBH/ARA1999167	4,42 ± 0,04	T	LB01	-
<i>P. subg. Pteromischum</i> (Schott) Mayo					
<i>P. flumineum</i> E.G.Gonç.	FZBBH/ARA1999177	4,60 ± 0,04	E	LB01	-
<i>P. inaequilaterum</i> Liebm.	FZBBH/ARA2001106	3,87 ± 0,03	T	LB01	-
<i>P. obliquifolium</i> Engl.	FZBBH/ARA2001004	4,99 ± 0,05	T	LB01	-
<i>P. propinquum</i> Schott	LGBV/SV252FT	2,48 ± 0,03	E	LB01	-
<i>P. aff. propinquum</i> Schott	Kew/1983-1993	2,75 ± 0,05	E	GPB	-
<i>P. sonderianum</i> Schott	Kew/1995-4070	3,15 ± 0,02	E	GPB	-
<i>Cercestis</i> Schott					
<i>Cercestis camerunensis</i> (Ntepe-Nyame) Bogner	Kew/1982-4606	9,72 ± 0,01	E	Ebihara	42
<i>Cercestis mirabilis</i> (N.E.Br.) Bogner	Kew/1990-1932	9,48 ± 0,11	F	GPB	42
<i>Culcasia</i> P.Beauv.					
<i>Culcasia angolensis</i> Welw. ex. Schott	Kew/1982-4602	9,43 ± 0,09	F	GPB	-
<i>Culcasia liberica</i> N.E.Br.	Kew/1982-4601	8,11 ± 0,05	F	GPB	42
<i>Culcasia parviflora</i> N.E.Br.	JBB/193017983-2	8,50 ± 0,11	S	GPB	-
<i>Culcasia mannii</i> (Hook.f.) Engl.	Kew/1990-1434	10,77 ± 0,09	F	GPB	-
<i>Culcasia scandens</i> Beauvis.	Kew/1968-30108	7,45 ± 0,03	F	GPB	-

Tabela 1. (continuação)

<i>Culcasia striolata</i> Engl.	Kew/1982-4609	10,76 ± 0,09	F	GPB	-
<i>Homalomena</i> Schott					
<i>H. deltoidea</i> Hook.f.	Kew/1993-1686	4,74 ± 0,03	E	GPB	40
<i>H. picturata</i> (Linden & André) Regel	FZBBBH/JBI1304	7,88 ± 0,06	T	Tris.MgCl ₂	-
<i>H. rubescens</i> (Roxb.) Kunth	FZBBBH/JBI1307	4,42 ± 0,05	T	Tris.MgCl ₂	40
<i>H. sp. nov.</i>	Kew/1999-3061	3,80 ± 0,05	E	GPB	-
<i>Schismatoglottis</i> Zollinger & Moritzi					
<i>S. calyptrata</i> (Roxb.) Zoll.& Moritzi	Kew/1999-3075	4,29 ± 0,08	E	GPB	26
<i>S. unifolia</i> A.Hay & P.C.Boyce	Kew/1999-3065	5,96 ± 0,03	E	GPB	-
<i>S. viridissima</i> A. Hay	Kew/1999-3054	3,79 ± 0,03	E	GPB	-
<i>S. wallichii</i> Hook.f.	Kew/1982-4988	7,36 ± 0,07	E	GPB	26
<i>S. wongii</i> A.Hay	Kew/1999-3080	3,98 ± 0,02	E	GPB	-

^aAfiliação taxonômica infragenérica do gênero *Philodendron* baseada em Mayo (1991), Grayum (1996), Croat (1997) e Sakuragui *et al.* (2005). ^bNúmero dos acessos e suas respectivas procedências: FZBBH – Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte; JBB – Jardim Botânico de Berlim; JBRJ – Jardim Botânico do Rio de Janeiro; Kew – Jardim Botânico Real, Kew; e LGBV – Laboratório de Genética e Biologia Vegetal, UFPE. ^cPadrão interno de referência: ervilha (E – *Pisum sativum* L.), 2C = 9,09 pg; fava (F – *Vicia faba* L.), 2C = 26,66 pg; salsa (S – *Petroselinum crispum* (Mill.) Fuss), 2C = 4,50; e tomate (T – *Solanum lycopersicum* L.), 2C = 2,06 pg. ^dTampões utilizados na preparação dos núcleos interfásicos: Ebihara (Ebihara *et al.*, 2005); GPB – *general purpose buffer* (Loureiro *et al.*, 2007) + PVP 3% + Triton 8%; LB01 – *lysis buffer* 01 (Dolezel *et al.*, 1989); MgSO₄ (Arumuganathan e Earle, 1991); Tris.MgCl₂ (Pfosser *et al.*, 1995); e WPB – *woody plant buffer* (Loureiro *et al.*, 2007). ^eNúmeros cromossômicos das espécies de *Philodendron* publicados e/ou revisados por Correia-da-Silva *et al.* (2014); números cromossômicos de *Cercestis*, *Culcasia*, *Homalomena* e *Schismatoglottis* publicados e/ou revisados por Petersen (1989); números novos indicados por um asterisco.

Análise de evolução do tamanho genômico e número cromossômico

Os dendrogramas utilizados para as reconstruções de estado ancestral de tamanho genômico e número cromossômico foram baseados nos dados de filogenia molecular com três regiões plastidiais concatenadas (*rpl32-trnL*, *trnQ-5'-rpl16* e *trnV-ndhC*; Vasconcelos *et al.*, *in prep.*). O número de terminais utilizados nas análises foi adequado à quantidade de espécies com tamanho genômico e número diploide disponíveis para cada uma das duas análises separadamente, sendo 93 e 54, respectivamente. Para a construção das árvores filogenéticas foram inferidas tanto pela máxima verossimilhança (MV) quanto pela inferência bayesiana (IB), utilizando o RAxML 7.2.8 (Stamatakis, 2006) e o MrBayes 3.2 (Ronquist *et al.*, 2012), respectivamente, implementados no portal CIPRES (Miller *et al.*, 2010), com os mesmos parâmetros descritos por Vasconcelos *et al.* (*in prep.*).

O sinal filogenético do conteúdo de DNA foi testado por meio do cálculo do valor- λ descrito por Pagel (1999), com otimização pela função ‘phylosig’ do pacote Phytools (Revell, 2012), utilizando as médias dos conteúdos de DNA das espécies, nos casos em que mais de um acesso foi analisado. Os estados ancestrais de tamanho genômico foram calculados por meio da função ‘ace’ com otimização da máxima verossimilhança com o pacote Ape (Paradis *et al.*, 2004). No caso das inferências de número cromossômico ancestral, foi utilizado o modelo ER de reenraizamento descrito por Yang *et al.* (1995), também implementado no pacote Phytools. Todos os cálculos foram realizados no programa R, v. 3.1.1.

RESULTADOS

Para as contagens cromossômicas aqui realizadas foram observados os seguintes números diploides: $2n = 30$ para *P. giganteum*; $2n = 32$ para *P. lacerum* e *P. schmidtiae*; e $2n = 34$ para *P. renauxii* e *P. tenue*. Tanto para *P. giganteum* quanto para *P. lacerum* já haviam

números cromossômicos disponíveis, embora a confirmação de contagem prévia tenha ocorrido apenas para a primeira, visto que o número $2n = 36$ para a última não foi aqui observado. Desta forma, o número de espécies de *Philodendron* com números diploides disponíveis passou de 66 para 69, havendo agora 32 espécies com $2n = 32$ e 20 com $2n = 34$, os principais números no gênero.

O conteúdo de DNA nos núcleos interfásicos (2C) em *Philodendron* apresentou uma variação de 3,1 vezes entre as espécies, estando entre 2,48 pg em *P. propinquum* Schott e 7,58 pg em *P. xanadu* Croat *et al.*, com uma média de 4,54 pg (Tabela 1, Figura 1). Levando em consideração apenas as 52 espécies tanto com contagens cromossômicas quanto com conteúdo de DNA disponíveis, o tamanho dos genomas variou entre 3,47 pg em *P. verrucosum* L.Mathieu ex Schott ($2n = 34$) e 7,46 pg em *P. uliginosum* Mayo ($2n = 28$), sem correlação entre os números diploides e os conteúdos de DNA ($r = 0,055$; $p = 0,697$) (Tabela 1). Entre as medições dos tamanhos dos genomas para os outros gêneros aqui analisados, também foi observada uma variação interespecífica considerável, mesmo havendo um número reduzido de espécies amostradas: entre 7,45-10,77 pg para *Culcasia*; entre 3,79-7,39 pg para *Schismatoglottis*; entre 3,80-7,88 pg para *Homalomena*; e 9,48 e 9,72 pg para *Cercestis* (Tabela 1).

Com relação à distribuição dos valores de 2C entre os subgêneros de *Philodendron*, houve uma tendência para a ocorrência de genomas menores no subgênero *Pteromischum*, do qual *P. propinquum* ($2C = 2,48$ pg) e *P. sonderianum* Schott ($2C = 2,75$ pg) fazem parte, e maiores em *Meconostigma*, como observado para *P. mello-barretoanum* ($2C = 6,30$ pg) e *P. xanadu* Croat *et al.* ($2C = 7,58$ pg) (Tabela 1). No entanto, também ocorreram espécies com valores de conteúdo de DNA próximos à média observada para o gênero em ambos, como nas espécies amazônicas *P. acreanum* K.Krause ($2C = 3,92$; *Pteromischum*) e *P. goeldii* A.C.Sm. ($2C = 4,03$ pg; *Meconostigma*) (Tabela 1).

A maior diversidade de tamanho genômico foi apresentada pelos membros do subgênero *Philodendron*, havendo uma variação entre 2,97 pg (*P. scherberichii* Croat & M.M.Mora) e 7,07 pg (*P. asplundii* Croat & M.L.Souares) (Tabela 1). Adicionalmente, foram observados genomas relativamente maiores entre as espécies que compõem a seção *Baursia*, como *P. longilaminatum* Schott com 2C = 6,43 pg e *P. crassinervium* Lindl. com 2C = 5,61 pg, sendo o único subgrupo de *P. subg. Philodendron* a apresentar um certo padrão no tamanho dos genomas (Tabela 1).

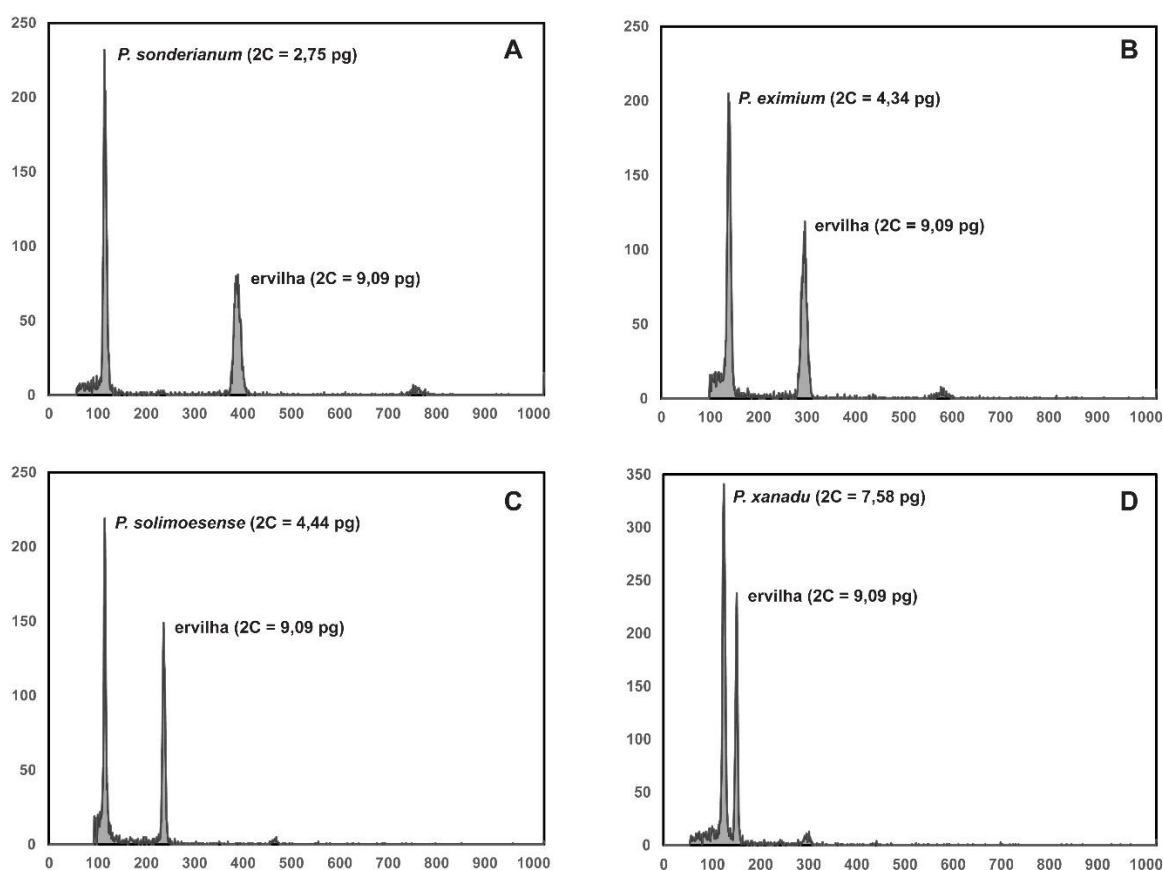


Figura 1. Histogramas representativos das análises de citometria de fluxo apresentando as fluorescências relativas obtidas de núcleos interfásicos isolados de *Philodendron sonderianum* (A; 2C = 2,75 pg), *P. eximium* (B; 2C = 4,34 pg), *P. solimoesense* (C; 2C = 4,44 pg) e *P. xanadu* (D; 2C = 7,58 pg), utilizando ervilha (*Pisum sativum*; 2C = 9,09 pg) como padrão de calibração. O eixo X representa a fluorescência por canal e o eixo Y representa o número de núcleos contados.

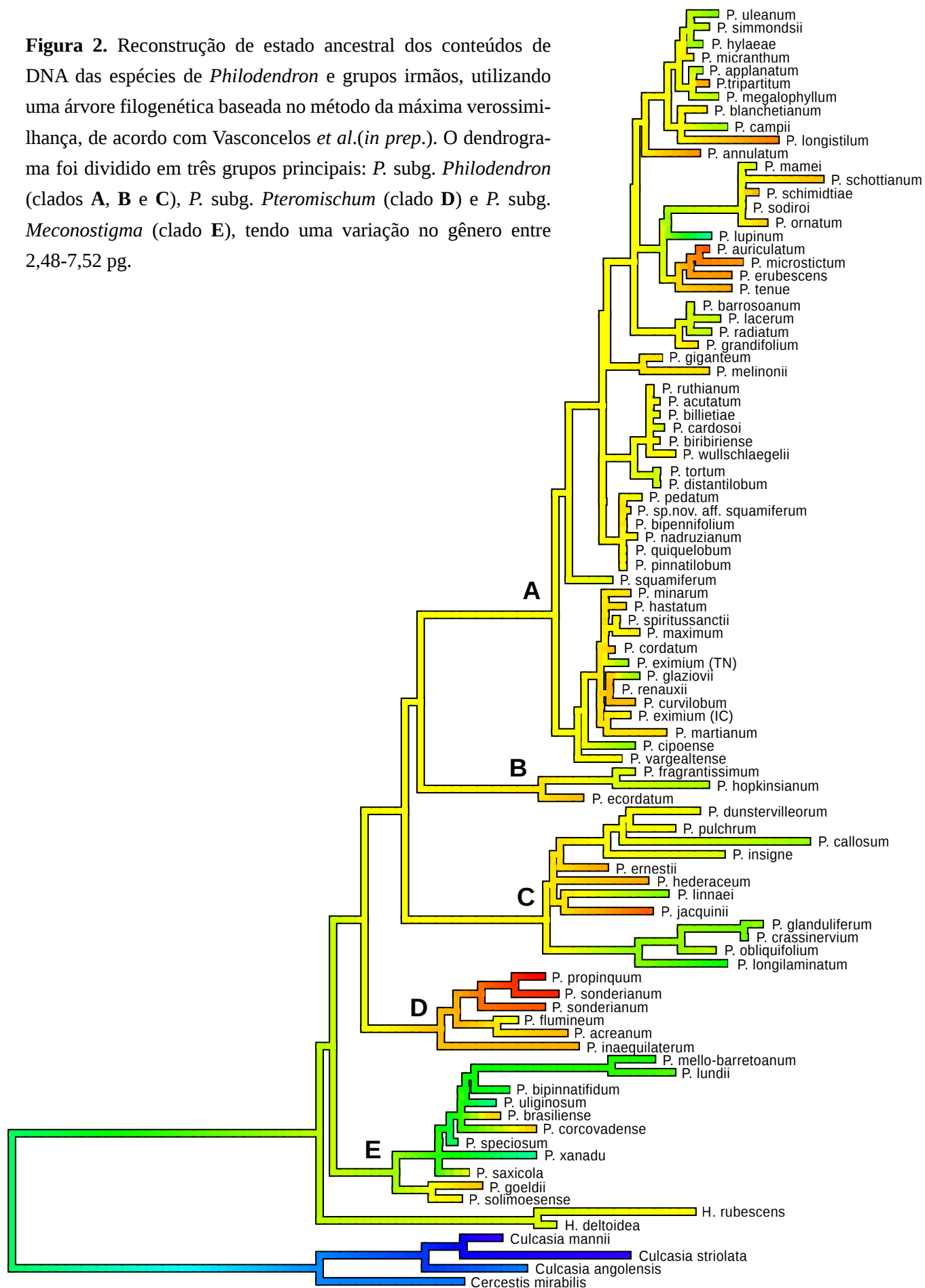
No geral, para as espécies com mais de um acesso analisado, não houve variação significativa de conteúdo de DNA entre os acessos, onde a diferença manteve-se dentro da margem de erro indicada pelos valores de desvio padrão, como no caso de *P. blanchetianum* Schott, *P. burle-marxii* G.M.Barroso e *P. fragrantissimum* (Hook.) G.Don, por exemplo (Tabela1). Entretanto, principalmente no caso de algumas espécies com ampla área de distribuição geográfica, houve diferenças nos valores de 2C obtidos entre os diferentes acessos, como para *P. acutatum* Schott ($4,26 \pm 0,09$; $4,66 \pm 0,14$; e $4,92 \pm 0,06$ pg), *P. eximium* Schott ($4,34 \pm 0,04$; $4,43 \pm 0,04$; e $5,35 \pm 0,01$ pg) e *P. hederaceum* (Jacq.) Schott ($3,01 \pm 0,04$; $3,65 \pm 0,04$; $3,66 \pm 0,08$; $3,78 \pm 0,09$; $3,80 \pm 0,05$; $4,33 \pm 0,09$; e $4,43 \pm 0,05$ pg) (Tabela 1). Tais variações foram observadas mesmo entre amostras que foram analisadas no mesmo equipamento, da mesma forma que em vários casos a quantidade de DNA estimada se manteve estável entre acessos da mesma espécie que foram analisadas em citômetros diferentes, como por exemplo *P. blanchetianum* e *P. fragrantissimum* (Tabela 1).

Apesar da relativa variação no conteúdo de DNA entre espécies próximas, o alto índice do valor- λ de Pagel ($\lambda = 0,9949$) indicou um forte sinal filogenético do tamanho dos genomas no gênero *Philodendron*. A análise de reconstrução do conteúdo de DNA utilizando a filogenia do grupo indicou um valor intermediário como genoma ancestral, bem próximo da média observada para o gênero (Figura 2). Como mencionado anteriormente, os menores genomas foram mapeados nas espécies de *P.* subg. *Pteromischum*, sendo notado um padrão de redução gradual nos conteúdos de DNA no clado em questão (Figura 2, clado D). Por outro lado, as espécies do heliófilas do subgênero *Meconostigma* divergiram a partir de um nó associado a tamanhos maiores de genoma, havendo ainda uma redução posterior em algumas espécies (Figura 2, clado E). No caso do subgênero *Philodendron* (Figura 2, clados A, B e C), apesar da grande diversidade já citada, quase todos os clados estão associados a conteúdos de DNA

próximos à média do gênero, havendo derivação no tamanho do genoma nos dois sentidos em vários terminais da árvore (Figura 2, clados A, B e C).

A reconstrução do número cromossômico por máxima verossimilhança ao longo da filogenia de *Philodendron* indicou $2n = 32$ como o número diploide ancestral para o grupo, o qual apareceu como o mais provável para a grande maioria das linhagens (Figura 3). Mesmo no subgênero *Meconostigma*, no qual a maior parte das espécies apresenta $2n = 36$ cromossomos, o número $2n = 32$ aparece como mais provável na origem do grupo (Figura 3, clado E). Levando em consideração o subgênero *Philodendron*, além do número diploide principal, o número $2n = 34$ surgiu com maior importância em alguns clados, havendo ainda os números menos frequentes ($2n = 28$ e $2n = 30$) associados a ramos específicos do dendrograma (Figura 3, clados A, B e C). Vale salientar que para a espécie *P. pulchrum* G.M.Barroso, a qual foi descrita por Correia-da-Silva *et al.* (2014) como apresentando número cromossômico dubio e de difícil determinação ($2n = 26-28$), o número $2n = 28$ foi escolhido para facilitar a análise, tendo em vista que o mesmo número diploide foi descrito pelos mesmos autores para outra espécie da seção *Baursia* (*P. callosum* K.Krause).

Figura 2. Reconstrução de estado ancestral dos conteúdos de DNA das espécies de *Philodendron* e grupos irmãos, utilizando uma árvore filogenética baseada no método da máxima verossimilhança, de acordo com Vasconcelos *et al.*(in prep.). O dendrograma foi dividido em três grupos principais: *P.* subg. *Philodendron* (clados A, B e C), *P.* subg. *Pteromischum* (clado D) e *P.* subg. *Meconostigma* (clado E), tendo uma variação no gênero entre 2,48-7,52 pg.



2.48 tamanho genômico 2C (pg) 10.77
length = 0.048

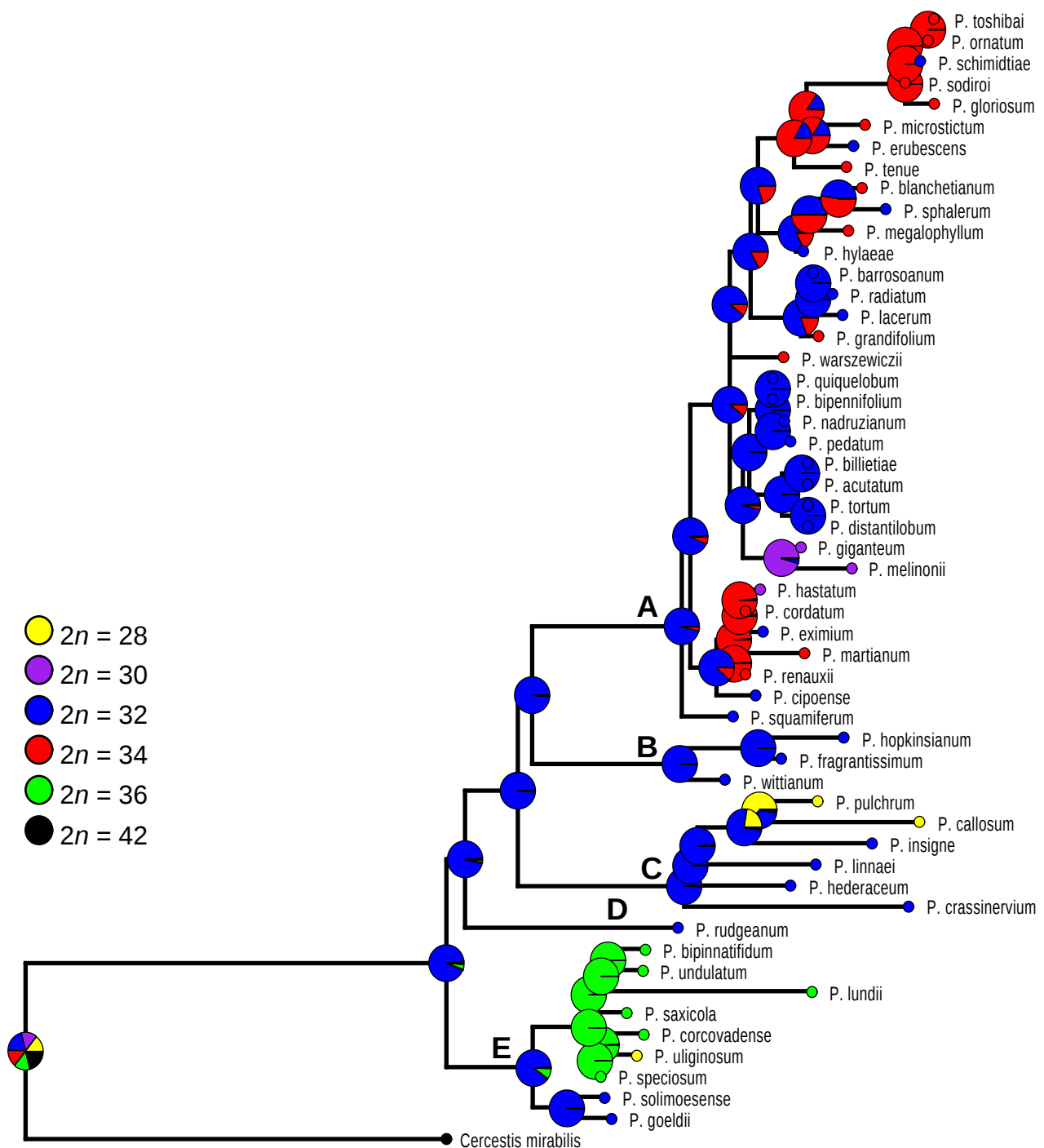


Figura 3. Reconstrução de estado ancestral dos números cromossômicos de *Philodendron*, com *Cercestis mirabilis* ($2n = 42$) como grupo externo, utilizando uma árvore filogenética baseada no método da máxima verossimilhança, de acordo com Vasconcelos *et al.*(*in prep.*). O dendrograma foi dividido em três grupos principais: *P.* subg. *Philodendron* (clados A, B e C), *P.* subg. *Pteromischum* (clado D) e *P.* subg. *Meconostigma* (clado E). Os gráficos circulares posicionados nos nós representam as probabilidades de ancestrali-dade dos números cromossômicos em questão.

DISCUSSÃO

Os eventos de duplicação total do genoma são considerados de extrema importância durante a evolução cariotípica em virtualmente todos os grupos de angiospermas, tendo um profundo impacto na geração de diversidade e adaptabilidade das populações vegetais (ver Soltis *et al.*, 2009; Beest *et al.*, 2012; Madlung, 2013). No entanto, a poliploidização não é o único mecanismo de geração de diversidade genética por meio de variação do conteúdo de DNA nos genomas, onde os eventos de amplificação e eliminação de DNA repetitivo são ubíquos não somente nas células vegetais, mas na maioria dos eucariotos (Schmidt e Heslop-Harrison, 1998; Kidwell, 2002). De fato, o gradual acúmulo de sequências similares a elementos transponíveis, bem como de outras classes de DNA repetitivo, vem sendo reportado como o principal fator responsável pela enorme variação no tamanho do genoma das angiospermas (ver Grover e Wendel, 2010; Greilhuber e Leitch, 2012; Escudero *et al.*, 2014).

No caso de *Philodendron*, para o qual foram aqui descritos os tamanhos dos genomas de aproximadamente 20% das espécies do gênero, abrangendo representantes dos três subgêneros, podemos ter um bom panorama das principais forças que levaram à evolução cariotípica no grupo. Principalmente considerando os dados disponíveis para os números diploides do gênero (ver Correia-da-Silva *et al.*, 2014), e o fato de não ter sido reportado um único caso de poliploidia até o momento, fica clara a importância da variação do tamanho genômico por meio de amplificação/eliminação de DNA repetitivo, bem como da disploidia, em menor grau, durante a evolução cariotípica dos grupos de *Philodendron*. Em *Eleocharis* R.BR., por exemplo, a alteração nos números cromossômicos por meio de disploidia ao longo da evolução cariotípica das espécies do grupo foram muito mais relevantes que as poliploidizações ao longo da evolução cariotípica das espécies do grupo (Escudero *et al.*, 2014),

havendo uma forte correlação entre o acúmulo de elementos retrotransponíveis e o tamanho genômico no gênero (Zedek *et al.*, 2010).

Contudo, a amplitude de variação do tamanho genômico dentro do gênero *Anthurium* reportada por Bliss e Suzuki (2012) foi consideravelmente maior (4,7 vezes) do que a aqui observada (3,1 vezes), com os valores de 2C variando entre 4,42 pg em *A. obtusum* (Engl.) Grayum e 20,83 pg em *A. roseospadix* Croat. No entanto, várias espécies de *Anthurium* já foram reportadas como poliploides, havendo até diferenças nos níveis de ploidia entre populações de uma mesma espécie, como é o caso de *A. gracile* (Rudge) Lindl. com $2n = 20$ e 40 (Correia-da-Silva *et al.*, 2009). Mesmo em *Arum* L., um gênero consideravelmente menor que *Philodendron* e *Anthurium*, o qual conta com 40 espécies descritas (Boyce e Croat, 2011), foram observados três diferentes níveis de ploidia (diploides, tetraploides e hexaploides) correspondendo à variação de quase três vezes no tamanho dos genomas ($2C = 4,53-12,63$ pg) (Bedalov e Küpfer, 2006; Veselý *et al.*, 2012).

Tendo em vista que a maior parte da variação do tamanho do genoma em *Philodendron* esteja presente em *P.* subg. *Philodendron*, o qual é consideravelmente superior em número de espécies em comparação a *Pteromischum* e *Meconostigma*, é possível que as maiores taxas de diversificação observadas para o grupo estejam associadas à grande variabilidade no conteúdo de DNA nas espécies em questão (ver Kraaijeveld, 2010). Além disso, a maior parte da diversidade ecológica do gênero também é encontrada no subgênero *Philodendron*, o qual abrange várias espécies com plasticidade fenotípica notável, como *P. acutatum*, *P. fragrantissimum*, *P. hederaceum* e *P. melinonii* Brongn.ex Regel, por exemplo (Mayo, 1986; Croat, 1997). Entretanto, ainda não está claro se há algum tipo de relação de causa e efeito entre variação do tamanho genômico e diversidade ecológica, nem mesmo em qual sentido uma interação deste tipo poderia ter ocorrido.

Similarmente ao observado no presente trabalho, também foram reportadas diferenças no conteúdo de DNA entre acessos de algumas espécies de *Anthurium*, como *A. bakeri* Hook.f. com $2C = 8,71 \pm 0,35$, $9,24 \pm 0,13$ e $9,89 \pm 0,08$ pg, *A. clavigerum* Poepp. & Endl. com $2C = 13,27 \pm 0,17$ e $15,26 \pm 0,28$ pg e *A. schlechtendalii* Kunth com $2C = 11,54 \pm 0,13$, $12,07 \pm 0,10$, $12,25 \pm 0,18$ e $14,33 \pm 0,15$ pg por Bliss e Suzuki (2012). Desta forma, assim como sugerido para *Anthurium* (Bliss e Suzuki, 2012), é possível que tal variação intraespecífica no tamanho do genoma em *Philodendron* esteja ligada a padrões diferenciados de distribuição e composição de regiões de DNA repetitivo, como elementos transponíveis (Schmidt e Heslop-Harrison, 1998; Kidwell, 2002; Heslop-Harrison, 2012).

No presente trabalho foram obtidas leituras inequívocas que resultaram em picos bem definidos para todas as amostras (e seus respectivos padrões de referência), as quais apresentaram coeficientes de variação menores que 4%, como recomendado por Greilhuber *et al.* (2007). Além disso, os cálculos dos valores relativos do conteúdo de DNA dos acessos foram realizados por meio da média das razões entre a intensidade de fluorescência de, no mínimo, 3.000 núcleos da amostra e do padrão utilizado. Desta forma, é provável que os resultados obtidos por Ghosh *et al.* (2001) de $2C = 10,56$ para *P. erubescens* C.Koch & Bousche, $2C = 10,00$ pg para *P. selloum* K.Koch. (= *P. bipinnatifidum* Schott ex Endl.) e $2C = 9,30$ pg para *P. squamiferum* Poepp. & Endl., para as quais observamos $2C = 3,63$, $6,67$ e $4,66$ pg, respectivamente, provavelmente correspondem a superestimativas do conteúdo de DNA real das espécies analisadas. Além disso, levando em consideração os outros gêneros inclusos no presente trabalho, apenas para *Homalomena* havia uma medição prévia de conteúdo de DNA, de $2C = 9,14$ pg para *H. rubescens* Kunth (Ghosh *et al.*, 2001), a qual também divergiu dos resultados aqui obtidos para a mesma espécie ($2C = 4,42$ pg). Embora a densitometria de Feulgen seja um método bastante confiável para a estimativa de tamanhos genômicos, os referidos autores empregaram um único comprimento onda para a obtenção das medições,

procedimento não recomendado para a geração de bons resultados (ver Greilhuber, 2005, 2008; Greilhuber *et al.*, 2007).

Como sugerido por Correia-da-Silva *et al.* (2014), o número diploide $2n = 32$ foi confirmado como ancestral mais provável para o gênero *Philodendron*, o qual também é o mais frequente entre os membros do grupo. Apesar de $2n = 36$ aparecer frequentemente em *Meconostigma*, o mesmo foi recuperado como derivado dentro do subgênero, tendo em vista que foi associado apenas com o clado das espécies heliófilas. A observação de $2n = 32$ como número diploide de *P. lacerum*, em vez de $2n = 36$, como descrito anteriormente por Sharma e Mukhopadhyay (1965), reforça a ideia deste último ser importante apenas para as espécies de *Meconostigma*. Já o número $2n = 34$, tido previamente como o mais frequente no gênero (ver Correia-da-Silva *et al.*, 2014) foi mapeado como derivado em alguns clados do subgênero *Philodendron*, podendo ter surgido de forma independente várias vezes, com maior sinal filogenético no clado composto por *P. gloriosum* André, *P. ornatum* Schott, *P. schmidtiae*, *P. sodiroi* N.E.Br. e *P. toshibai* M.L.Souares & Mayo.

Da mesma forma que as seções morfológicas (e subseções, no caso das seções *Macrobium* e *Philodendron*) de *P.* subg. *Philodendron* não foram recuperadas como grupos monofiléticos nas análises filogenéticas realizadas com o gênero (Gauthier *et al.*, 2008; Vasconcelos *et al.*, *in prep.*), tanto os conteúdos de DNA quanto os números diploides não seguiram um padrão de distribuição por tais agrupamentos taxonômicos. No entanto, diversas tendências puderam ser observadas dentro e entre os três subgêneros e seus subclados, como a derivação de conteúdo de DNA e número diploide em ambos os sentidos a partir do tamanho genômico médio no subgênero *Philodendron*. Já *Meconostigma* apresentou um padrão único e mais definido de variação tanto no tamanho genômico quanto nos números diploides, no qual as espécies amazônicas estavam mais próximas do padrão do gênero, havendo um aumento em ambos os caracteres no clado das heliófilas. Mesmo com a impossibilidade de maiores

inferências a respeito da evolução dos números diploides em *Pteromischum* devido à baixa disponibilidade de espécies do grupo com contagens cromossômicas, a análise dos tamanhos genômicos mostrou-se bastante informativa, sendo percebida uma tendência de redução do tamanho genômico no grupo. Adicionalmente, nossos resultados indicam uma grande importância dos mecanismos de acúmulo/eliminação de DNA repetitivo, bem como da disploidia durante a evolução cariotípica de *Philodendron*, um dos gêneros mais importantes da flora neotropical.

LITERATURA CITADA

Arumuganathan K, Earle ED. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species.

Plant Molecular Biology Reporter **9**: 208-218.

Bedalov M, Küpfer P. 2006. Studies on the genus *Arum* (Araceae). *Aroideana* **29**: 108-131.

Beest M, Le Roux JJ, Richardson DM, Brysting AK, Suda J, Kubešová M, Pysek P. 2012.

The more the better? The role of polyploidy in facilitating plant invasions. *Annals of Botany* **109**: 19-45.

Bennett MD, Leitch IJ. 2012. *Plant DNA C-values database* (Release 6.0, Dec. 2012).

<http://data.kew.org/cvalues/>. 24 June 2014.

Bliss BJ, Suzuki JY. 2012. Genome size in *Anthurium* evaluated in the context of karyotypes and phenotypes. *AoB Plants* 2012: pls006 doi:10.1093/aobpla/pls006.

Bogner J, Petersen G. 2007. The chromosome numbers of the aroid genera. *Aroideana* **30**: 82-90.

Boyce PC, Croat TB. 2011 [onwards]. *The Überlist of Araceae*, totals for published and estimated number of species in aroid genera. <http://www.aroid.org/genera/111109uberlist.pdf>. 10 September 2014.

- Calazans LSB, Soares ML, Sakuragui CM, Temponi LG. 2014.** *Philodendron* in *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB5015>. 07 October 2014.
- Correia-da-Silva M, Soares MLC, Brasileiro-Vidal AC, Benko-Iseppon AM. 2009.** Notas sobre a diversidade citogenética e morfológica de *Anthurium* Schott (Araceae) incluindo representantes da região de Caxiuanã. In: Lisboa PLB. ed. *Caxiuanã: desafios para a conservação de uma floresta nacional na Amazônia*. Belém: Editora do Museu Paraense Emílio Goeldi, 367-379.
- Correia-da-Silva M, Vasconcelos S, Soares MLC, Mayo SJ, Benko-Iseppon AM. 2014.** Chromosomal diversity in *Philodendron* (Araceae): taxonomic significance and a critical review. *Plant Systematics and Evolution* 300(5): 1111-1122.
- Croat TB. 1997.** A revision of *Philodendron* subgenus *Philodendron* (Araceae) for Mexico and Central America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **84**: 311-704.
- Doležal J, Binarova P, Lucretti S. 1989.** Analysis of nuclear DNA content in plant cells by flow cytometry. *Biologia Plantarum* **31**: 113-120.
- Ebihara A, Ishikawa H, Matsumoto S, Lin SJ, Iwatsuki K, Takamiya M, Watano Y, Ito M. 2005.** Nuclear DNA, chloroplast DNA, and ploidy analysis clarified biological complexity of the *Vandenboschia radicans* complex (Hymenophyllaceae) in Japan and adjacent areas. *American Journal of Botany* **92**: 1535-1547.
- Escudero M, Martín-Bravo S, Mayrose I, Fernández-Mazuecos M, Fiz-Palacios O, Hipp AL, Pimentel M, Jiménez-Mejías P, Valcárcel V, Vargas P, Luceño M. 2014.** Karyotypic changes through dysploidy persist longer over evolutionary time than polyploid changes. *PLoS ONE* **9**: e85266.

- Gauthier MPL, Barabe D, Bruneau A. 2008.** Molecular phylogeny of the genus *Philodendron* (Araceae): delimitation and infrageneric classification. *Botanical Journal of the Linnean Society* **156**: 13-27.
- Ghosh P, Mukherjee S, Sharma AK. 2001.** Cytophotometric estimation of in situ DNA content in several species of Araceae. *Cytobios* **105**: 177-183.
- Grayum MH. 1996.** Revision of *Philodendron* subgenus *Pteromischum* (Araceae) for Pacific and Caribbean tropical America. *Systematic Botany Monographs* **47**: 1-233.
- Greilhuber J. 2005.** Intraspecific variation in genome size in angiosperms: identifying its existence. *Annals of Botany* **95**: 91-98.
- Greilhuber J. 2008.** Cytochemistry and C-values: The less-well-known world of nuclear DNA amounts. *Annals of Botany* **101**: 791-804.
- Greilhuber J, Temsch EM, Loureiro JCM. 2007.** Nuclear DNA Content Measurement. In: Dolezel J, Greilhuber J, Suda J. eds. *Flow cytometry with plant cells*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 67-101.
- Greilhuber J, Leitch IJ. 2012.** Genome size and the phenotype. In: Greilhuber J, Dolezel J, Wendel JF, eds. *Plant genome diversity*, v. 2. Wien: Springer, 323-344.
- Grover C, Wendel JF. 2010.** Recent insights into mechanisms of genome size change in plants. *Journal of Botany* **2010**: 382732.
- Heslop-Harrison JS. 2012.** Genome evolution: extinction, continuation or explosion? *Current Opinion in Plant Biology* **15**: 115-121.
- Kraaijeveld K. 2010.** Genome size and species diversification. *Evolutionary Biology* **37**: 227-233.
- Kidwell MG. 2002.** Transposable elements and the evolution of genome size in eukaryotes. *Genetica* **115**: 49-63.

- Loureiro J, Rodriguez E, Doležel J, Santos C. 2007.** Two new nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry: a test with 37 species. *Annals of Botany* **100**: 875-888.
- Madlung A. 2013.** Polyploidy and its effect on evolutionary success: old questions revisited with new tools. *Heredity* **110**: 99-104.
- Marchant CJ. 1971.** Chromosome variation in Araceae: III: Philodendreae to Pythoniëae. *Kew Bulletin* **25**: 323-329.
- Mayo SJ. 1986.** *Systematics of Philodendron Schott (Araceae) with special reference to inflorescence characters*. PhD Thesis, University of Reading, United Kingdom.
- Mayo SJ. 1990.** History and infrageneric nomenclature of *Philodendron* (Araceae). *Kew Bulletin* **45**: 37-71.
- Mayo SJ. 1991.** A revision of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). *Kew Bulletin* **46**: 601-681.
- Mayo SJ, Bogner J, Boyce PC. 1997.** *The genera of Araceae*. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew.
- Miller MA, Pfeiffer W, Schwartz T. 2010.** Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *In Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*: 14 Nov 2010; New Orleans. Piscataway, New Jersey: Institute of Electrical and Electronics Engineers; 2010: 1-8.
- Oliveira LL, Calazans LSB, Morais EB, Mayo SJ, Schrago CG, Sakuragui CM. 2014.** Floral evolution of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). *PLoS ONE* **9**: e89701.
- Olszewska MJ, Osiecka R. 1982.** The relationship between 2C DNA content, life cycle type, systematic position, and the level of DNA endoreplication in nuclei of parenchyma cells during growth and differentiation of roots in some monocotyledonous species. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen* **177**: 319-336.

- Pagel M. 1999.** Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature* **401**: 877-994.
- Paradis E, Claude J, Strimmer K. 2004.** APE: analysis of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* **20**: 289-290.
- Pellicer J, Kelly LJ, Magdalena C, Leitch IJ. 2013.** Insights into the dynamics of genome size and chromosome evolution in the early diverging angiosperm lineage Nymphaeales (water lilies). *Genome* **56**: 437-449.
- Petersen G. 1989.** Cytology and systematics of Araceae. *Nordic Journal of Botany* **9**: 119-166.
- Pfossner M, Amon A, Lelley T, Heberleboers E. 1995.** Evaluation of sensitivity of flow-cytometry in detecting aneuploidy in wheat using disomic and ditelosomic wheat-rye addition lines. *Cytometry* **21**: 387-393.
- Revell LJ. 2012.** Phytools: an R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution* **3**: 217-223.
- Ronquist F, Teslenko M, van der Mark P, Ayres DL, Darling A, Höhna S, Larget B, Liu L, Suchard MA, Huelsenbeck JP. 2012.** MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**: 539-542.
- Sakuragui CM, Mayo SJ, Zappi DC. 2005.** Taxonomic revision of Brazilian species of *Philodendron* section *Macrobium*. *Kew Bulletin* **60**: 465-513.
- Schmidt T, Heslop-Harrison JS. 1998.** Genomes, genes and junk: the large-scale organization of plant chromosomes. *Trends in Plant Science* **3**: 195-199.
- Sharma AK, Mukhopadhyay S. 1965.** Cytological study on two genera of Araceae and correct assessment of their taxonomic status. *Genetica Agraria* **18**: 603-616.
- Soltis DE, Albert VA, Leebens-Mack J, Bell CD, Paterson AH, Zheng C, Sankoff D, de Pamphilis CW, Wall PK, Soltis PS. 2009.** Polyploidy and angiosperm diversification. *American Journal of Botany* **96**: 336-348.

- Stamatakis A. 2006.** RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics* **22**: 2688-2690.
- Vasconcelos S, Soares MLC, Croat TB, Alves M, Benko-Iseppon. in prep.** Novos *insights* a respeito das relações filogenéticas em *Philodendron* (Araceae), com base em dados de marcadores plastidiais e nucleares.
- Veselý P, Bureš P, Šmarda P, Pavlíček T. 2012.** Genome size and DNA base composition of geophytes: the mirror of phenology and ecology? *Annals of Botany* **109**: 65-75.
- Yang Z, Kumar S, Nei M. 1995.** A new method of inference of ancestral nucleotide and amino acid sequences. *Genetics* **141**: 1641-1650.
- Zonneveld BJM, Leitch IJ, Bennett MD. 2005.** First nuclear DNA amounts in more than 300 angiosperms. *Annals of Botany* **96**: 229-244.

7. CONCLUSÕES

- Apesar de haver outros números cromossômicos atribuídos às espécies de *Philodendron*, é mais provável que a variação dentro do gênero siga uma série dispoloide de $2n = 26$ a 40 cromossomos.
- O número diploide $2n = 32$, além de ser o mais frequente, provavelmente é o número cromossômico ancestral em *Philodendron*, a partir do qual todos os outros divergiram.
- O gênero *Philodendron* é um grupo monofilético e bem suportado estatisticamente, tendo como grupo irmão *H. seção Curmeria*, embora haja indicativos de polifiletismo na porção asiática do gênero *Homalomena*.
- De um modo geral, os únicos grupos morfológicos suportados nas análises de filogenia molecular foram os três subgêneros: *P. subg. Meconostigma*, *P. subg. Pteromischum* e *P. subg. Philodendron*.
- Mesmo com uma grande variação no conteúdo de DNA em *Philodendron*, a maioria das espécies apresentou o tamanho do genoma próximo da média do gênero ($2C = 4,54$ pg), o qual provavelmente corresponde ao genoma ancestral no grupo, havendo uma tendência de genomas menores e maiores em *Pteromischum* e *Meconostigma*, respectivamente.
- Eventos de amplificação e eliminação de DNA repetitivo são, possivelmente, as principais forças evolutivas atuando nos cariótipos das espécies de *Philodendron*, tendo em vista a relativa estabilidade nos números cromossômicos no gênero.

8. ANEXOS

Outros trabalhos publicados durante a realização do doutorado

Anathallis roseopapillosa (Orchidaceae – Pleurothallidinae), a New Species from the Central Amazon Region

Edlley Pessoa,^{1,5} Jefferson J. Valsko,² Santelmo Vasconcelos,¹ Ana M. Benko-Isepon,³ and Marcus Alves⁴

¹Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brazil.

²Programa de Pós-graduação em Diversidade Ecológica, Departamento de Botânica, Universidade Federal do Amazonas, Av. Rodrigo Otávio, 2600, Manaus, Amazonas, Brazil.

³Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brazil.

⁴Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, 50670-901, Recife, Pernambuco, Brazil.

Temporary address: Senckenberg Naturmuseum, 60325, Frankfurt am Main, Germany

⁵Author for correspondence (edlley_max@hotmail.com)

Communicating Editor: Min Feng

Abstract—A new species of *Anathallis*, *A. roseopapillosa*, is described from the central Brazilian Amazon. It is morphologically related to *A. gracilentia*, but differs by having shorter racemes arising abaxially from the leaves, with flowers opening one at a time, petals with a papillose apex, and an oblong-elliptic to ovate-elliptic lip, which is often obscurely tri-lobed. We also provide evidence of the phylogenetic position of the new species in the subtribe Pleurothallidinae by means of a cladistic analysis of nuclear DNA sequence data (ITS).

Keywords—Brazil, monocots, Neotropics, phylogeny, South America.

The generic affiliation of the majority of the species of the subtribe Pleurothallidinae, originally placed in *Pleurothallis* Lindl., has been changed in recent years due to the use of molecular approaches (Pridgeon et al. 2001; Pridgeon and Chase 2001; Barros 2002, 2003; Barros and Rodrigues 2009; Luer 2006, 2007, 2009; Chiron et al. 2012). The studies of Pridgeon et al. (2001) and Chiron et al. (2012), using nuclear DNA sequences, showed that several infrageneric taxa previously proposed for *Pleurothallis* by Luer (1986) were not monophyletic groups.

Pridgeon and Chase (2001) reestablished some neglected genera, such as *Acianthera* Scheidw., *Anathallis* Barb. Rodr., *Phloeophila* Hoehne & Schltr., *Pleurothallopsis* Porto & Brade, and *Specklinia* Lindl. Later, Chiron et al. (2012) proposed names under *Pabstiella* Brieger & Senghas as suggested by Luer (2007) for species mainly placed in *Stelis* Sw. and *Specklinia* by Pridgeon and Chase (2001). In both studies, *Anathallis* was recognized as a monophyletic group, excluding *A. barbulata* (Lindl.) Pridgeon & M. W. Chase (grouped within *Trichosalpinx* Luer) and *A. rubens* (Lindl.) Pridgeon & M. W. Chase [= *Stelis neorubens* Chiron, as proposed by Chiron et al. (2012)]. According to Chiron et al. (2012), the genus is well supported and closely related to *Lepanthes* Sw., *Lepanthopsis* (Cogn.) Ames, *Thichosalpinx* Luer, and *Zootrophion* Luer.

Anathallis is a Neotropical genus with about 160 species (Luer and Toscano-de-Brito 2011; Govaerts et al. 2013) and comprises the species originally placed in *Pleurothallis* subg. *Acuminata* Luer and *Pleurothallis* subg. *Specklinia* sect. *Muscosae* Lindl. (Pridgeon and Chase 2001). According to Barros et al. (2014), 81 species occur in Brazil, of which 67 species are endemic to the country. Moreover, only 12 species are cited for the Brazilian portion of the Amazon forest (Barros et al. 2014), and one of them was recently described (Pessoa and Alves 2012).

The Amazonian species of *Anathallis* were mostly included in *Panmorphia* by Luer (2006), which is mainly characterized by the small size of the plants, short racemulae, and the presence of two basal appendages at the base

of the lip. However, it is not a monophyletic group (Chiron et al. 2012) and the names under this genus should be avoided. In Brazil, among the Amazonian species, *A. sclerophylla* (Lindl.) Pridgeon & M. W. Chase is the only one placed out of the *Panmorphia* group and related to the type species of the genus, *A. fasciculata* Barb. Rodr. [= *A. obovata* (Lindl.) Pridgeon & M. W. Chase]. It is part of a group of larger plants (if compared with *Panmorphia* species), with elongated racemulae (as long as, or longer than the leaf), often with long racemes, and the sepals are commonly acuminate.

The aim of this study is to describe and illustrate a new species of *Anathallis* from the Brazilian Amazon, which is morphologically related to the *A. angustilabia* (Schltr.) Pridgeon & M. W. Chase, *A. obovata* complex (Luer 1981). We also discuss its morphological affinities and phylogenetic position in Pleurothallidinae by means of a cladistic analysis with nuclear DNA sequence data from the internal transcribed spacer (ITS) region, comprising both ITS sequences (ITS1 and ITS 2) and the 5.8 S rDNA subunit.

MATERIALS AND METHODS

Morphological Observations—The morphological analysis and description of the new species were based on examination of several live and dry (rehydrated) specimens, in addition to flowers in spirit collection. The flowers were dissected and the perianth was mounted between glass slides and cover slips using Entellan (Merck), and it was examined under a stereomicroscope.

A key of the *Anathallis* species from Brazilian Amazon is provided; it was produced based in specimens deposited in the most representative herbaria of northern Brazil [MG, INPA, IAN, RB, and HB, acronyms according to Thiers (2013)], the opus princeps of the species, and type images available in virtual herbaria. *Anathallis fastigiata* (Luer & Toscano) F. Barros & Barberena, a species described from Pará, Brazil, was not included because there is no material deposited in the visited herbaria, and although Luer and Toscano-de-Brito (2002) cite the holotype in the HUEFS, we could not locate it. As explained by Barros and Barberena (2010), according to the staff of this herbarium, apparently it was never deposited there.

Taxonomic Sampling—Samples were collected in a NaCl-CTAB solution as described by Rogstad (1992) to perform the DNA extraction

Research Article

Open Access

ISSR Primer Selection for Genetic Variability Analyses with Jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardlew., Rutaceae)

Jefferson Almeida Rocha^{1,2}, Santelmo Vasconcelos⁴, Fabricia Meireles Meneses da Silva³, Anne Jurkiewicz Melo¹, Maria Francilene Souza Silva², João Antônio Leal de Miranda², Ana Maria Benko-Iseppon⁴ and Ivanilza Moreira de Andrade¹

¹Graduate Program Biotechnology (PPGBiotec), Campus of Parnaíba, Federal University of Piauí, Brazil.

²Graduate Program Biomedicine, Federal University of Piauí, Brazil.

³Anhydrous Brazil Extractions SA, Povoado Rosápolis s/n, Brazil.

⁴Laboratory of Plant Genetics and Biotechnology, Department of Genetics, Center of Biological Sciences, Federal University of Pernambuco, Brazil.

⁵Center for Natural Sciences, Federal University of Maranhão, Brazil.

Abstract

Pilocarpus microphyllus Stapf ex Wardlew. (jaborandi) is native to the North and Northeast regions of Brazil. Intensive exploitation for the extraction of pilocarpine, a valuable alkaloid for the pharmaceutical industry, has killed off or brought about a loss of vigor of naturally occurring plant populations. As a result, the species is officially listed as an endangered species of the Brazilian flora. Genetic diversity is required for the adaptation of populations to environmental changes, and maintaining it is a central objective for biological conservation. ISSRs are dominant markers widely used in genetic diversity studies of endangered species, allowing for the identification of genotypes and cultivars, as well as helping in phylogenetic studies based on DNA fingerprinting. This study presents an ISSR primer selection for genetic structure analyses of natural populations and cultivated collections of *P. microphyllus*.

Keywords: Jaborandi; Pilocarpine; Selection of markers

Introduction

The Rutaceae family has a pantropical distribution and includes approximately 161 genera and 2,070 species [1]. In Brazil, 33 genera and 193 species have been recorded, and among these there are 14 species known of *Pilocarpus* Vahl (jaborandi), of which 11 are endemic to Brazil [2]. *Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardlew. is native but not endemic, occurring in the north and northeast of Brazil, more specifically in eastern Pará, western and northern Maranhão and northern Piauí. It is a shrub growing in open forests, and frequent in the rocky outcrops known as "canga". In forest interiors, the species can be found in areas with high light incidence [3].

Pilocarpus microphyllus contains a significant amount of secondary metabolites with diverse pharmacological properties, and specially stimulants of the secretive and diuretic systems [4]. Among these, the alkaloid pilocarpine stands out, being known for stimulating salivation and transpiration and for its use in the composition of eye drops [4]. The intensive collection of wild *P. microphyllus* populations has caused widespread loss of populations and mortality or loss of vigor in those that remain, reducing the size of the plants and their leaves [5]. Consequently, the species was officially included in the list of the endangered species of the Brazilian native flora [6].

Successful adaptation of plant populations to environmental changes depends on their genetic diversity, and maintaining this diversity has a central role in biological conservation programs [7]. There are several types of molecular markers that can easily detect genetic diversity levels within natural populations and cultivated materials [8]. ISSR markers, developed by ZIETKIEWICZ et al. [9], are PCR based technique which is easy, quick, simple and economical. The advantages of ISSRs over other markers like AFLPs, RAPDs and more specific SSRs are reproducible due to their better stringency (high annealing temperature), require no gene sequence information and no prior genetic studies are required for these analyses [10,11]. ISSR markers have been successfully used for the assessment of genetic diversity and gene pool origin in Amw plants [12-16].

An important step prior to the analysis of the genetic diversity of a population is the development of appropriate markers in order to avoid those that either fail to amplify or generate only few fragments and low polymorphism levels. It is known that the nucleotide sequence of ISSR primers recognize sequences arbitrarily distributed in the genome and the preliminary stage of primer selection and testing is essential prior to using them to evaluate all the samples of the studied population.

The aim of this study was to select suitable ISSR marker applicable to the evaluation of natural populations and germplasm resources of *P. microphyllus*, in order to estimate the genetic diversity of such an endangered and economically important plant species [17].

Materials and Methods

For marker selection eight individuals of *P. microphyllus* were used, two from each sampled population in Piauí (Parnaíba and Luzilândia), Maranhão (Mata Roma) and Pará (Parauapebas) (Table 1 and Figure 1). Young leaves were collected from each individual and immediately stored in 2% NaCl-saturated CTAB buffer [18].

Genomic DNA was extracted from leaf fragments in 2% CTAB as described by Doyle and Doyle [17], with some modifications. Approximately 200 µg of young leaves were macerated with extraction buffer [2% CTAB, Tris-HCl 0.1 mM (pH 8.0), 20 mM EDTA (pH

***Corresponding author:** Jefferson Almeida Rocha, Graduate Program Biotechnology (PPGBiotec), Campus of Parnaíba, Federal University of Piauí, Brazil, Tel: +86-9941-7092; E-mail: jeffersonkalel@hotmail.com

Received May 08, 2014; Accepted August 12, 2014; Published August 14, 2014

Citation: Rocha JA, Vasconcelos S, Silva FMM, Melo AJ, Silva MFS (2014) ISSR Primer Selection for Genetic Variability Analyses with Jaborandi (*Pilocarpus microphyllus* Stapf ex Wardlew., Rutaceae) Forest Res 3: 126. doi:10.4172/2168-9776.1000126

Copyright: © 2014 Rocha JA, et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Phylogenetic classification and clinical aspects of a new putative *Deltapapillomavirus* associated with skin lesions in cattle

T.C. Melo^{1,2}, R.F. Carvalho¹, J. Mazzucchelli-de-Souza^{1,3}, N. Diniz^{1,3},
S. Vasconcelos⁴, S.L.M.R. Assaf¹, R.P. Araldi^{1,3}, R.M. Ruiz^{1,3},
I. Kerkis^{1,2,3}, W. Beçak^{1,5} and R.C. Stocco^{1,3}

¹Laboratório de Genética, Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil

²Programa de Pós-Graduação em Biologia Estrutural e Funcional,
Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

³Programa de Pós-Graduação Interunidades em Biotecnologia,
Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

⁴Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco,
Recife, PE, Brasil

⁵Departamento de Biologia, Universidade Federal da Integração Latino Americana,
Foz do Iguaçu, PR, Brasil

Corresponding author: R.C. Stocco
E-mail: ritastocco@butantan.gov.br

Genet. Mol. Res. 13 (2): 2458-2469 (2014)

Received June 20, 2013

Accepted November 29, 2013

Published April 3, 2014

DOI <http://dx.doi.org/10.4238/2014.April.3.18>

ABSTRACT. Bovine papillomaviruses (BPVs) are recognized as causal agents of benign and malignant tumors in cattle. Thirteen types of BPVs have already been described and classified into 3 distinct genera. Divergences in the nucleotide sequence of the L1 gene are used to identify new viral types through the employment of PCR assays with degenerated primers. In the present study, a method for identifying BPVs based on PCR-RFLP and DNA sequencing allowed the identification of a new putative *Deltapapillomavirus*, designated JN/3SP (JQ280500.1). The analysis of the L1 gene showed that this



Intra- and interspecific chromosome polymorphisms in cultivated *Cichorium* L. species (Asteraceae)

Ebenézer C.S. Bernardes^{1,2}, Ana M. Benko-Iseppon², Santelmo Vasconcelos^{2,3}, Reginaldo Carvalho⁴ and Ana C. Brasileiro-Vidal²

¹Departamento de Ciências da Natureza, Instituto Federal de Alagoas, Maceió, AL, Brazil.

²Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

³Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

⁴Departamento de Biologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, Brazil.

Abstract

Endive (*Cichorium endivia* L.) and chicory (*C. intybus* L.) both have $2n = 18$, but until now, there has been no detailed karyomorphological characterization. The present work evaluated five accessions of each species using FISH with rDNA probes and fluorochrome staining with CMA and DAPI. Both species presented distinct banding patterns after fluorochrome staining: while endive had proximal CMA⁺/DAPI⁺ bands in the short arms of pairs 1, 2 and 3, chicory had proximal CMA-positive bands in chromosomes 1 and 3 and interstitial in the short arm of chromosome 8. Among endive accessions, FISH procedures revealed conserved position and number of 5S and 45S rDNA sites (two and three pairs, respectively), associated with the CMA-positive bands. Notwithstanding, polymorphisms were detected within chicory accessions regarding the number and the distribution of rDNA sites in relation to the most frequent karyotype (two pairs with 45S and one with 5S rDNA). The karyological markers developed allowed karyotypic differentiation between both species, uncovering peculiarities in the number and position of rDNA sites, which suggest chromosome rearrangements, such as translocations in chicory cultivars. The interspecific and intraspecific polymorphisms observed emphasize the potential of karyomorphological evaluations, helping our understanding of the relationships and evolution of the group.

Keywords: compositae, Cichorieae, CMA/DAPI, rDNA sites, chromosome rearrangements.

Received: December 20, 2012; Accepted: April 11, 2013.

Introduction

The Cichorieae tribe (subfamily Cichorioideae, family Asteraceae) comprises about 70 genera and 1,500 species. The group is morphologically well characterized by the presence of latex and perfect flowers within the capitulum. Among the economically most important members of the tribe, lettuce (*Lactuca sativa* L.), chicory (*Cichorium intybus* L.) and endive (*C. endivia* L.) stand out due to their worldwide use as green salad vegetables (Bremer, 1994; Kilian *et al.*, 2009). While being less used than lettuce, the economic importance of chicory and endive is increasing, with growing incorporation in cooking recipes due to their nutritional value (Lucchin *et al.*, 2008), which impacts the size and distribution of the areas cultivated worldwide.

Controversies regarding the taxonomy of *Cichorium* have been raised since the 18th century, especially regard-

ing the total number of species and their delimitation (Lucchin *et al.*, 2008). Some authors suggested the existence of three (Tutin *et al.*, 1976), four (Pignatti, 1982) or seven (Wagenitz and Bedarff, 1989) valid species. However, approaches based on AFLP markers (Kiers *et al.*, 2000) and ITS sequences (Kilian and Gemeinholzer, 2007) recognized six species subdivided into three distinct groups: (1) *C. bota* A. Deflers., as sister to all the other species, (2) *C. intybus* and *C. spinosum* L., and (3) *C. endivia*, *C. pumilum* Jacq. and *C. calvum* Sch. Bip.

Chromosome studies using FISH (fluorescent *in situ* hybridization) and double fluorochrome staining with CMA (chromomycin A₃ - for GC-rich heterochromatic regions) and DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole - for AT-rich heterochromatic regions) revealed important karyotypic features in Asteraceae, including cultivated (e.g. sunflower, Vanzela *et al.*, 2002; lettuce, Matoba *et al.*, 2007) and wild species (Fregonezi *et al.*, 2004; Garcia *et al.*, 2010). Despite their informativeness, few previous reports are available which have employed these methods, especially considering the size and diversity of the family, as

Send correspondence to Ana C. Brasileiro-Vidal. Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Av. da Engenharia s/n, 50740-600 Recife, PE, Brazil. E-mail: brasileirovidal.ac@gmail.com.

Genomic *in situ* Hybridization in Triticeae: A Methodological Approach

Sandra Patussi Brammer, Santelmo Vasconcelos,
Liane Balvedi Poersch, Ana Rafaela Oliveira and
Ana Christina Brasileiro-Vidal

Additional information is available at the end of the chapter

<http://dx.doi.org/10.5772/52928>

1. Introduction

In several plant groups, especially those with polyploid complexes as *Triticum* (the wheat genus, Poaceae), related species can be used as important sources of genes. In the tribe Triticeae as a whole, which comprises other important cereals as barley (*Hordeum vulgare*) and rye (*Secale cereale*), there are high rates of successful interspecific hybridization [1-2]. Due to the ease in obtaining these hybrids, plus the high amount of available information on the genomes of the species, the interspecific hybrids are potentially useful for the genetic improvement of these crops [3-4]. Thus, the hybrids and their derivatives from breeding programs can be analyzed by means of different approaches, aiming the full knowledge on the phenotypic constitution of the plant material for its subsequent utilization.

Many cytogenetic methods can be applied during the process of crop improvement, mainly regarding the characterization of chromosome types among accessions of a germplasm collection [5-6]. Since the discovery of the nucleic acid hybridization reaction by Hall & Spiegelmann [7], and later by using fluorescent detection rather than radioactive isotopes [8], the fluorescent *in situ* hybridization (FISH) and its variations have been largely employed in karyotype characterization of plants [9]. The technique basically consists on the pairing of a given probe (a DNA or RNA fragment) with a specific sequence on the target genome, aiming to indicate its exact location in a chromosome.

When the objective is to distinguish parental chromosomes (or chromosome segments) in an interspecific hybridization or the distinct genomes of an allopolyploid, the entire genome of one parent should be labeled and used as probe [10]. In this case, the technique is called genom-