

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE BIOCÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GENÉTICA

EMANUELLE VARÃO VASCONCELOS

DNA repetitivo na evolução cariotípica de espécies de *Philodendron* Schott e
Thaumatococcus Schott (Araceae)

Recife

2018

EMANUELLE VARÃO VASCONCELOS

DNA repetitivo na evolução cariotípica de espécies de *Philodendron* Schott e *Thaumatococcus* Schott (Araceae)

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Genética.

Orientadora: Profa Dra Ana Christina Brasileiro-Vidal

Coorientadores: Profa Dra Ana Maria Benko-Iseppon
Dr Santelmo Selmo de Vasconcelos Júnior

Recife

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

Vasconcelos, Emanuelle Varão

DNA repetitivo na evolução cariotípica de espécies *Philodendron* Schott e *Thaumatococcus* Schott (Araceae) / Emanuelle Varão Vasconcelos. – 2018.

123 f. : il.

Orientador: Profa. Dra. Ana Christina Brasileiro-Vidal.

Coorientadora: Profa. Dra. Ana Maria Benko-Iseppon.

Coorientador: Dr. Santelmo Selmo de Vasconcelos Júnior.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Programa de Pós-graduação em Genética, Recife, 2018.

Inclui referências.

1. Genética vegetal. 2. Biologia – Classificação. 3. Plantas – Variação.
I. Brasileiro-Vidal, Ana Christina (Orientadora). II. Benko-Iseppon, Ana Maria (Coorientadora). III. Vasconcelos Júnior, Santelmo Selmo (Coorientador). III. Título.

581.35

CDD (22.ed.)

UFPE/CB – 2018 - 405

EMANUELLE VARÃO VASCONCELOS

DNA repetitivo na evolução cariotípica de espécies de *Philodendron* Schott e *Thaumatococcus* Schott (Araceae)

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Genética da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de Doutor em Genética.

Aprovado em 24/08/2018

Banca examinadora:

Profa. Dra. Ana Christina Brasileiro Vidal (Orientador)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Andrea Pedrosa-Harand (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Leonardo Pessoa Felix (Examinador externo)
Universidade Federal da Paraíba

Prof. Dr. Luiz Gustavo Rodrigues Souza (Examinador externo)
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Neide Santos (Examinador interno)
Universidade Federal de Pernambuco

Ainda que eu tenha todo o conhecimento, se não tiver amor, nada disso valerá. Ao meu adorável esposo, Raphael Farias Carneiro, dedico.

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por todas as maravilhas que tens feito em minha vida.

Aos meus pais, os espelhos da minha vida, **Aynoan Varão Vasconcelos** e **Sérgio B. de Andrade Vasconcelos** pelo investimento, dedicação, proteção, carinho e amor.

Ao meu esposo maravilhoso, **Raphael Farias Carneiro**, por todo companheirismo, apoio e amor, por estar sempre comigo a qualquer momento e em qualquer situação.

À minha irmã, **Jéssica Varão Vasconcelos**, a gente briga, mas a gente se ama.

À minha orientadora, **Profa. Dra. Ana Christina Brasileiro Vidal**, por toda sua amizade e carinho, por todos os ensinamentos e incentivos, pela oportunidade e confiança.

Aos meus Coorientadores, **Profa. Dra. Ana Maria Benko Iseppon** e **Dr. Santelmo Vasconcelos**, pelos quais tenho grande admiração por tamanha inteligência e dedicação ao trabalho, pela estrutura e ensinamentos cedidos.

Aos amigos que fizeram ou ainda fazem parte do **Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal** e do **Laboratório de Citogenética e Evolução Vegetal**, aprendi muito com cada um de vocês, crescendo como pessoa e como profissional. As particularidades de cada um de vocês me fizeram uma profissional e, acima de tudo, uma pessoa melhor.

À coordenação, professores e secretários do **Programa de Pós-Graduação em Genética**, pela oportunidade concedida.

À agência de fomento à pesquisa Coordenação de Pessoal de Nível Superior (**CAPES**), pelo suporte financeiro imprescindível para a realização deste trabalho.

Muito obrigada!

RESUMO

Philodendron s.l., segundo maior gênero da família Araceae, tem sido foco de diversos estudos taxonômicos e filogenéticos. Contudo, os dados cariotípicos estão limitados à contagem de cromossomos e ao tamanho do genoma. Neste trabalho, cariótipos de 29 espécies de *Philodendron* e cinco espécies de *Thaumatococcus* ($2n = 28$ a 36) foram analisados por hibridação *in situ* fluorescente com sondas de DNAr e telomérica, além de ter sido realizada análise genômica para caracterização da fração do DNA repetitivo do grupo. *Philodendron* apresentou dois a 16 sítios de DNAr 35S com heteromorfismos para nove espécies, enquanto que *Thaumatococcus* apresentou dois ou quatro sítios. Por outro lado, o número de sítios de DNAr 5S foi conservado (dois sítios) em ambos os gêneros. Além disso, com uso de sonda telomérica, apenas sítios terminais foram observados em *P. giganteum*, enquanto *P. callosum* apresentou sítios intersticiais associados a *clusters* de DNA satélite. Ainda, a fração de DNA repetitivo, caracterizada para seis espécies, variou de 33,75% (*P. quinquelobum*; 2C/ 4.60 pg) a 67,71% (*P. melinonii*; 2C/ 4.20 pg), sendo composta, principalmente, por retrotransposons Ty3-Gypsy e Ty1-Copia, com os mais abundantes pertencendo às linhagens Chromovirus e Ogre-Tat. O presente trabalho fornece uma visão geral da composição e diversidade da fração de DNA repetitivo do genoma de espécies de *Philodendron s.l.*, sendo observadas grandes variações, provavelmente devido a uma rápida evolução e grande diversidade desses genomas.

Palavras-chave: Contagens cromossômicas. DNA ribossomal. elementos transponíveis. hibridação *in situ* fluorescente (FISH). RepeatExplorer. sonda telomérica.

ABSTRACT

Philodendron s.l. is the second largest genus of Araceae family and has been the focus of several taxonomic and phylogenetic studies. However, karyotypic data are limited to chromosome count and genome size. In this work, karyotypes of 29 species of *Philodendron* and five species of *Thaumatococcus* ($2n = 28$ to 36) were analyzed by fluorescence *in situ* hybridization with rDNA and telomeric probes, in addition to genomic analysis to characterize the repetitive fraction of the group. *Philodendron* had two to 16 sites of 35S rDNA with heteromorphisms for nine species, whereas *Thaumatococcus* had two or four sites. On the other hand, the number of 5S rDNA sites was conserved (two sites) in both genera. In addition, with the use of telomeric probe, only terminal sites were observed in *P. giganteum*, while *P. callosum* presented interstitial sites associated to satellite DNA clusters. In addition, the repetitive DNA fraction, characterized for six species, ranged from 33.75% (*P. quinquelobum*, 2C/4.60 pg) to 67.71% (*P. melinonii*, 2C/4.20 pg) by retrotransposons Ty3-Gypsy and Ty1-Copia, with the most abundant belonging to the lines Chromovirus and Ogre-Tat. The present work provides an overview of the composition and diversity of the repetitive DNA fraction of the genome of *Philodendron s.l.* species, with large variations observed, probably due to the rapid evolution and great diversity of these genomes.

Keywords: Chromosome counts. fluorescent *in situ* hybridization (FISH). RepeatExplorer. ribosomal DNA. telomeric probe. transposable elements.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DA LITERATURA

- Figura 1** - Representantes de *Philodendron* e *Thaumatococcus*. (A) *P. rudgeanum*, *P.* subg. *Pteromischum* (B) *P. adamantinum*, *P.* subg. *Philodendron* (C) *P. renauxii*, *P.* subg. *Philodendron* (D) *P. squamiferum*, *P.* subg. *Philodendron* (E) *T. spruceanum* (F) *T. solimoesense*. Fontes: Santelmo Vasconcelos, David Scherberich, Excelsa Gardens..... 18

Artigo I

- Figure 1** - Mitotic chromosomes of *Philodendron* species stained with DAPI. *P. ernestii* ($2n = 32$; A); *P. glanduliferum* ($2n = 32$; B); *P. inconcinnum* ($2n = 32$; C); *P. jacquinii* ($2n = 32$; D); *P. lacerum* ($2n = 32$; E); *P. longilaminatum* ($2n = 32$; F); *P. smithii* ($2n = 32$; G); *P. burle marxii* ($2n = 34$; H); *P. erubescens* ($2n = 34$; I); *P. maximum* ($2n = 34$; J); *P. mellobarrotoanum* ($2n = 34$; K); *P. uleanum* ($2n = 34$; L); *P. giganteum* ($2n = 30$; M)..... 38

Artigo II

- Figure 1** - Fluorescent *in situ* hybridization of 35S (green) and 5S rDNA (red) on mitotic chromosomes of *Philodendron* species, counterstained with DAPI and pseudocolored in gray. (A) *Philodendron billietiae*; (B) *P. quinquenervium*; (C) *P. maximum*; (D) *P. uleanum*; (E) *P. giganteum*; (F) *P. distantilobum*; (G) *P. krugii*; (H) *P. nadruzianum*;

(I) <i>P. fragrantissimum</i> . Bar in (I) represents 5 μ m.....	
Figure 2 - Distribution of repetitive sequences in species of <i>Thaumatococcus</i> and <i>Philodendron</i> species, counterstained with DAPI and pseudocolored in gray (35S rDNA in green, 5S rDNA in red, and telomeric probe in pink). (A) <i>T. lundii</i> ; (B) <i>T. mello barretoanum</i> ; (C) <i>P. angustilobum</i> ; (D) <i>P. bipennifolium</i> ; (E) <i>P. glaziovii</i> ; (F) <i>P. giganteum</i> ; (G) <i>P. callosum</i> . Bar in (G) = 5 μ m.....	74
Figure 3 - Chromosomal patterns for rDNA in 22 <i>Philodendron</i> and five <i>Thaumatococcus</i> species plotted in a modified phylogeny based on Vasconcelos <i>et al.</i> (2018). The underlined chromosomes presented heteromorphism, and it was not possible to identify their respective homologs.....	75
Figure 4 - Chromosomes mapped with 35S (green) and 5S (red) rDNA probes in six species of <i>Philodendron</i> subgenus <i>Philodendron</i> not included on Vasconcelos <i>et al.</i> (2018) phylogeny. Underlined chromosomes presented heteromorphism, and it was not possible to identify their respective homologs.....	76
Figure 5 - Features of the satellite DNA PcSat1 from <i>Philodendron callosum</i> . (A) Reconstructed monomer using WebLogo (Crooks <i>et al.</i> , 2004). A cluster of conserved and degenerated plant telomeric motifs is present at the repeat unit and represents more than half of its full size (box). (B) Layout of cluster 228 obtained from Repeat Explorer output (Vasconcelos <i>et al.</i> , unpublished data) and (C) Dotplot graph showing the internal organization of the sequence.....	76

Artigo III

Figura 1 - Abundância das principais classes de DNA repetitivo no genoma de espécies de *Philodendron*. Barras representam as proporções (em

Mbp) dos elementos repetitivos obtidos na análise individual (superior) do genoma e na análise comparativa (barras inferiores). A representação esquemática das relações filogenéticas está baseada em Vasconcelos *et al.* (2018)..... 94

Figura 2 - Análise por Dotplot dos satélites identificados em espécies de *Philodendron*. Linhas indicam compartilhamento por similaridade. Clusters CL189, CL209 e CL247 são semelhantes e representam subfamílias de um mesmosatélite..... 95

Figura 3 - CMA/DAPI e hibridização *in situ* fluorescente em cromossomos mitóticos de *Philodendron melinonii*, corados com DAPI e pseudocolorados em cinza. (A) CMA/DAPI; (B) Chromovirus Ty3-Gpysy; (C) Ty3-Gpysy Ogre-tat; (D) Ty3-Gpysy Maximus. Barra em D representa 5 µm..... 96

LISTA DE TABELAS

Artigo I

Table S1 - Karyotypic features of all species of <i>Philodendron</i> analyzed to date, including data from previous chromosome counts.....	43
---	----

Artigo II

Table 1 - Species of <i>Philodendron</i> and <i>Thaumatococcus</i> with their respective section and accession, chromosome complement size, chromosome range size, diploid number and number of rDNA sites	70
---	----

Artigo III

Tabela 1 - Espécies do subgênero <i>Philodendron</i> com suas respectivas procedências para valores de conteúdo de DNA (Vasconcelos, 2015) e sequenciamento do genoma.....	90
Tabela 2 - Proporção de sequências repetitivas (%) identificadas nos genomas de espécies do subgênero <i>Philodendron</i> , através de análise individual e comparativa dos genomas, utilizando a plataforma <i>Galaxy/RepeatExplorer</i>	91
Tabela 3 - Proporção de DNAs satélites identificados no genoma de espécies do subgênero <i>Philodendron</i> (%) por meio de análise	

comparativa, utilizando a plataforma <i>Galaxy/RepeatExplorer</i> e a ferramenta TAREAN.....	92
---	----

Tabela S1 - Sequências de primers utilizados para amplificar retrotransposons do genoma do subgênero <i>Philodendron</i> , domínio de proteína usado como alvo, comprimento esperado do produto e temperatura de anelamento usada nas reações de PCR	93
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

2C	Conteúdo de DNA em célula diploide
pg	Picogramas
2n	Complemento diploide
CMA ₃	<i>Chromomycin A3</i> ; Cromomicina A3
Cy3	<i>Cyanine 3</i> ; Cianina 3
DAPI	<i>4',6-diamidino-2-phenylindole</i> ; 4',6-diamidino-2-fenilindol
DNA	<i>Desoxiribonucleic Acid</i> ; Ácido Desoxirribonucleico
DNAr	DNA ribossomal
FISH	<i>Fluorescent In Situ Hybridization</i> ; Hibridização <i>In Situ</i> Fluorescente
ITS	<i>Internal Transcribed Spacer Regions</i> ; Região espaçadora de transcrito interno
NTS	<i>Non-transcribed spacers</i> ; Espaçador não transcrito
Pb	<i>Base pairs</i> ; Pares de bases
RONs	Regiões Organizadoras de Nucléolos
SSC	<i>Citric acid-sodium citrate buffer</i> ; Tampão citrato de sódio-salino
RNA	<i>Ribonucleic Acid</i> ; Ácido ribonucleico
RNAr	RNA ribossomal
x	Número básico
n	Complemento haploide
ca.	Cerca de
ssp.	Espécies
GISH	<i>Genomic in situ hybridization</i> ; Hibridização genômica <i>in situ</i>
ETS	<i>External Transcribed Spacer</i> ; Espaçador transcrito externo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DA LITERATURA	16
2.1	TAXONOMIA E IMPORTÂNCIA DA FAMÍLIA ARACEAE JUSS.....	16
2.1.1	<i>Philodendron</i> Schott e <i>Thaumatococcus</i> Schott	17
2.2	CITOGENÉTICA VEGETAL.....	20
2.3	DNA REPETITIVO	21
2.3.1	DNA satélite	22
2.3.2	DNA ribossomal.....	23
2.3.3	DNA telomérico.....	26
2.3.4	Elementos transponíveis	27
2.4	ANÁLISES CITOGENÉTICAS EM ARACEAE.....	29
2.4.1	Análises citogenéticas em <i>Philodendron</i> s.l.....	31
3	OBJETIVOS	33
3.1	OBJETIVO GERAL	33
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
4	ARTIGO I	34
5	ARTIGO II	51
6	ARTIGO III	77
7	DISCUSSÃO GERAL.....	105
8	CONCLUSÕES	109
	REFERÊNCIAS.....	110

1 INTRODUÇÃO

Os gêneros *Philodendron* Schott e *Thaumatococcus* Schott incluem espécies que são consideradas importantes elementos das florestas neotropicais, destacando-se nas interações com outras espécies vegetais e animais, na criação de micro-habitats e de microclima. Além disso, apresentam importância econômica na horticultura, sendo utilizadas para a decoração de interiores e exteriores, devido às suas folhagens exuberantes.

Apesar dos gêneros terem sido foco de vários estudos taxonômicos, alguns abordando filogenia molecular, os padrões de evolução cariotípica das espécies de *Philodendron* e *Thaumatococcus* são relativamente pouco conhecidos, estando restritos a contagens cromossômicas e tamanho de genomas de um limitado número de táxons, observando-se variação no número cromossômico de $2n = 26$ a $2n = 40$, com prevalência $2n = 2x = 32$. Esta variação, em adição aos dados de tamanhos genômicos publicados até o momento, indicam uma grande diversidade cariotípica intragenérica e intergenérica, com valores de $2C$ entre 2,48 e 7,58 pg.

Considerando não ter sido reportado nenhum caso de poliploidia nos gêneros até o momento, as variações no número cromossômico e no tamanho do genoma indicam fortemente que o DNA repetitivo, mediante mecanismos de amplificação e eliminação, pode ser um importante componente para a dinâmica da evolução cariotípica em *Philodendron* e *Thaumatococcus*, associado a eventos de dispoloidia. Com base nos dados mencionados anteriormente, algumas perguntas podem ser realizadas: 1) Diante da grande variação no número cromossômico, quais mecanismos estão envolvidos na evolução cariotípica de *Philodendron s.l.*?; 2) A distribuição de sítios de DNA_r em *Philodendron* e em seu gênero irmão (*Thaumatococcus*) é conservada e está associada aos dados filogenéticos publicados?; 3) Os genomas de espécies distantemente relacionadas seriam conservados em termos de sequências repetidas?

Dessa forma, o estudo citogenômico de sequências repetitivas em espécies de *Philodendron s.l.* visa proporcionar a identificação e caracterização da fração do DNA repetitivo, bem como auxiliar no entendimento da organização genômica, permitindo uma análise comparativa e auxiliando no entendimento da diversidade genética do grupo.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 TAXONOMIA E IMPORTÂNCIA DA FAMÍLIA ARACEAE JUSS.

A família Araceae, com cerca de 3.600 espécies e 140 gêneros, faz parte das monocotiledôneas e tem uma possível origem no oeste da Laurásia (América do Norte) (Cusimano *et al.*, 2011; Nauheimer *et al.*, 2012; Boyce e Croat, 2018). Seus representantes ocorrem em todos os continentes, exceto na Antártida, e são facilmente encontrados nos trópicos, os quais são centros de diversidade da família (Mayo *et al.*, 1997; Nauheimer *et al.*, 2012).

Araceae encontra-se dividida em oito subfamílias, Gymnostachyoideae e Orontioideae, sendo representadas pelos gêneros *Gymnostachys* R.Br., *Orontium* L., *Lysichiton* Schott, *Symplocarpus* Salisb. A subfamília Lemnoideae inclui os gêneros de plantas diminutas de habitat aquático: *Spirodela* Schleid, *Lemna* L., *Landoltia* Les & D.J.Crawford, *Wolffiella* Hegelm. e *Wolffia* Horkel ex Schleid. As subfamílias Lasioideae (10 gêneros), Monsteroidea (subdividida em três clados: Heteropsis, Spathiphyllae e Rhaphidophora) e Pothoideae (que engloba os gêneros *Anthurium*, *Pothos* Adans., *Pedicularum* M.Hotta e *Pothoidium* Schott) correspondem às plantas com flores bissexuadas. Por fim, as subfamílias que englobam as plantas com flores unissexuadas: Zamiculcadoideae que inclui os gêneros *Stylochaeton* Lepr., *Zamioculcas* Schott, *Gonatopus* Engl. e Aroideae, com cerca de 1.770 espécies distribuídas em aproximadamente 80 gêneros, tendo como principal representante o gênero *Philodendron* (French *et al.*, 1995; Cusimano *et al.*, 2011; Boyce e Croat, 2018).

Grande parte das espécies da família é utilizada na ornamentação de interiores e exteriores devido a suas folhagens ornamentais e inflorescências exóticas, como a popularmente conhecida costela-de-adão (*Monstera deliciosa* Liebm.) (Lorenzi e Souza, 2001; Santos, 2011). Contudo, algumas espécies possuem importância socioeconômica, sendo utilizadas na alimentação humana, como o inhame dos Açores, tubérculo muito consumido na Ásia (*Colocasia esculenta* Schott), espécies de *Alocasia* (Schott) G.Don e *Xanthosoma* Schott, que possuem folhas e tubérculos ricos em amido, entre outras (Mayo *et al.*, 1997; Bown, 2000). Ainda, a espécie *Heteropsis flexuosa* (H.B.K.) Bunt. é muito utilizada

na região amazônica para a confecção de móveis e artesanatos em geral, devido à alta qualidade de suas fibras (Wallace e Ferreira, 2002).

2.1.1 *Philodendron* Schott e *Thaumatophyllum* Schott

Philodendron s.l. está incluído na família Araceae, subfamília Aroideae. É o segundo maior gênero em relação ao número de espécies dentro da família (ca. 480 spp.), perdendo apenas para *Anthurium* (ca. 950 spp.) (Mayo *et al.*, 1997; Boyce e Croat, 2018). *Philodendron s.l.* encontra-se estreitamente relacionado com os gêneros *Adelonema* Schott (16 spp. sul-americanas), *Homalomena* Schott (ca. 70 spp. asiáticas), *Furtadoa* M.Hotta (duas espécies asiáticas) e os dois gêneros africanos *Cercestis* Schott (10 spp.) e *Culcasia* P.Beauv. (28 spp.), todos fazendo parte do clado *Homalomena sensu* Cusimano *et al.* (2011).

As espécies de *Philodendron s.l.* encontram-se distribuídas por todo o continente americano, sendo exclusivamente neotropicais (Boyce e Croat, 2018). No Brasil foram descritas, até o momento, 168 espécies, as quais possuem uma grande variação de folhas e hábitos (Coelho *et al.*, 2015), como pode ser observado na figura 1. As espécies de *Philodendron* são agrupadas em dois subgêneros monofiléticos: *P.* subg. *Pteromischum* (Schott) Mayo (78 spp.) e *P.* subg. *Philodendron* Engler (ca. 400 spp.) (Mayo, 1991; Grayum, 1996; Croat, 1998, Vasconcelos *et al.*, 2018). Recentemente, *P.* subg. *Meconostigma* (Schott) Engler (21 spp.) foi reconhecido como um gênero distinto, denominado *Thaumatophyllum* (Sakuragui *et al.*, 2018).



Figura 1. Representantes de *Philodendron* e *Thaumatophyllum*. (A) *P. rudgeanum*, *P.* subg. *Pteromischum* (B) *P. adamantinum*, *P.* subg. *Philodendron* (C) *P. renauxii*, *P.* subg. *Philodendron* (D) *P. squamiferum*, *P.* subg. *Philodendron* (E) *T. spruceanum* (F) *T. solimoesense*.

Fontes: Santelmo Vasconcelos, David Scherberich, Excelsa Gardens.

Philodendron, vários taxonomistas descreveram 10 seções para agrupar essas espécies de acordo com características morfológicas: *Baursia* (Rchb. ex Schott) Engler, *Camptogynium* K.Krause, *Dolichogynium* Croat & Köster, *Macrobium* (Schott) Sakur., *Macrogynium* Engler, *Philodendron* (Jacq.) Schott, *Philopsammos* G.S.Bunting, *Polytomium* (Schott) Engler, *Schizophyllum* (Schott) Engler e *Tritomophyllum* (Schott) Engler (Krause, 1913; Croat, 1998; Sakuragui *et al.*, 2005; Köster e Croat, 2011). Entretanto, análises filogenéticas baseadas em dados moleculares evidenciaram várias incongruências, como por exemplo *P. longistilum* K.Krause, pertencente à seção *Camptogynium*, foi agrupada em um clado com espécies da seção *Baursia*, assim como *P. brevispathum* Schott (originalmente da seção *Philodendron*) (Gauthier *et al.*, 2008).

Em um estudo recente, a congruência dos agrupamentos em seções e subseções também foi questionada, sendo suportado apenas agrupamentos baseados em características morfológicas para os subgêneros *Pteromischum* e *Philodendron*, sendo então sugerida a não utilização das seções e subseções de *P.* subg. *Philodendron* (Vasconcelos *et al.*, 2018). Em outro gênero de Araceae,

Arisaema Mart., problemas com sua classificação infragenérica também foram relatados com referência às seções (Ohi-Toma *et al.*, 2016). Tais incongruências em subdivisões de grandes grupos vegetais baseadas em caracteres morfológicos ocorrem devido ao uso de caracteres potencialmente homoplásicos na definição de tais grupos, como observado para o gênero *Arum* L. (Araceae) (Espíndola *et al.*, 2010).

Estudos envolvendo análises de filogenia molecular com *Philodendron* e grupos relacionados têm provocado uma grande discussão a respeito da sistemática e evolução do gênero (Gauthier *et al.*, 2008; Loss-Oliveira *et al.*, 2016; Vasconcelos *et al.*, 2018). Gauthier *et al.* (2008) realizaram uma análise de filogenia utilizando três marcadores moleculares (*rpl16*, ITS, e ETS — *external transcribed spacer*) em um total de 49 espécies, sendo questionado o monofiletismo do gênero e sugerida a inclusão de espécies americanas do gênero *Homalomena* no gênero *Philodendron*, estando essas espécies mais proximamente relacionadas com o subgênero *Pteromischum*. Recentemente, utilizando os marcadores moleculares *rpl32-trnL*, *trnQ-5'-rps16*, *trnV-ndhC* e ITS em um total de 120 espécies, *Philodendron* foi considerado um grupo monofilético e *Thaumatococcus* o gênero mais proximamente relacionado (Sakuragui *et al.*, 2018; Vasconcelos *et al.*, 2018). Adicionalmente, foi realizada uma análise de biogeografia histórica, sendo sugerido que os primeiros eventos de diversificação ocorreram no período do Mioceno na Bacia Amazônica (Loss-Oliveira *et al.*, 2016).

As espécies dos gêneros *Philodendron* e *Thaumatococcus* possuem uma importância econômica na horticultura devido a suas folhagens exuberantes, sendo utilizadas para a decoração de interiores e exteriores, além de serem consideradas elementos importantes das florestas neotropicais, como *P. melinonii* Brongn.ex Regel e *T. mello-barretoanum* Burle-Marx ex G.M.Barroso (Mayo *et al.*, 1997; Sakuragui *et al.*, 2011; Irumé *et al.*, 2013; Boyce e Croat, 2018). Além disso, *T. spruceanum* Schott, *T. solimoesense* A.C.Sm. e *T. venezuelense* G.S.Bunting (fibras para artesanato), *P. fragrantissimum* (Hook.) G.Don destacam-se devido à sua importância econômica para a produção de óleos essenciais (Oliveira, 2011; Castellar *et al.*, 2013).

2.2 CITOGENÉTICA VEGETAL

A citogenética é a ciência responsável por estudar os cromossomos de forma isolada ou em conjunto, investigando sua morfologia, organização, função, replicação, variação e evolução. A citogenética clássica envolve análises de microscopia óptica, que buscam realizar um simples estudo do cariótipo, definido como as características apresentadas pelos cromossomos de uma espécie: número do complemento diploide ($2n$), tamanho e morfologia cromossômica, número de cromossomos satelitados e de nucléolos, além do tipo de núcleo interfásico (Sumner, 2003; Singh, 2016).

A descrição básica do cariótipo, mediante coloração convencional, tem sido tradicionalmente utilizada para fins de citotaxonomia. Contudo, apesar de ser uma técnica simples e barata, muitos grupos vegetais não possuem número diploide conhecido (Guerra, 2008, 2012; Brammer *et al.*, 2015; Singh, 2016).

Na citogenética clássica, a impregnação com nitrato de prata também é amplamente descrita para a análise dos nucléolos e para a identificação das regiões organizadoras de nucléolo (RONs), que podem aparecer como constrições secundárias nos cromossomos e que evidenciam sítios ativos de DNA ribossomal 35S na intérfase imediatamente anterior (Schwarzacher e Wachtler, 1983; Caperta *et al.*, 2007; Castro *et al.*, 2018). Também se destacam o bandeamento C para a localização da heterocromatina constitutiva (Sumner, 1972; Santos-Serejo *et al.*, 2018), e o bandeamento utilizando os fluorocromos base-específicos CMA₃ (cromomicina A₃) e DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol), que permitem a identificação de regiões heterocromáticas ricas em pares de bases GC e AT, respectivamente (Schweizer, 1976; Yi *et al.*, 2018).

Sabe-se que a cromatina pode ser tradicionalmente dividida em dois diferentes tipos: a eucromatina, que apresenta regiões ricas em genes, com elevada atividade de transcrição e altas taxas de recombinação na meiose, e a heterocromatina constitutiva, que geralmente permanece altamente condensada durante o ciclo celular, é composta por regiões ricas em DNA repetitivo e pobres em genes e que, quando presentes, possuem baixa atividade transcricional (Guerra, 1998; Sumner, 2003; Heslop-Harrison e Schwarzacher, 2011).

Atualmente, a heterocromatina também pode ser caracterizada pela presença de modificações pós-traducionais de histonas e silenciamento gênico

epigenético, recrutando elementos modificadores da cromatina, que proporcionam a expansão da heterocromatina (Li *et al.*, 2017). Em *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., foram identificados quatro principais estados da cromatina, ampliando a distinção clássica entre heterocromatina e eucromatina, os quais indicam, basicamente, cromatina ativa (CS1, clássica eucromatina), cromatina reprimida (CS2 e CS3, sendo esta última caracterizada como clássica heterocromatina) e cromatina associada a regiões intergênicas (CS4) (Roudier *et al.*, 2011).

Com o avanço da citologia, a técnica de hibridização *in situ* fluorescente (FISH – *Fluorescent In Situ Hybridization*) passou a ser amplamente utilizada pelos citogeneticistas. A FISH permite localizar sequências ao longo dos cromossomos, mediante utilização de uma molécula de DNA ou RNA de sequência conhecida e previamente marcada, denominada sonda. Vários tipos de sondas de DNA podem ser sintetizadas, marcadas e utilizadas na hibridização *in situ*, como as sequências repetitivas organizadas em tandem (DNAr 45S e 5S, DNA telomérico, DNA satélite, dentre outros) e sequências repetitivas dispersas (como elementos transponíveis) (Guerra, 2004; Younis *et al.*, 2015; Singh, 2016).

2.3 DNA REPETITIVO

As sequências de DNA repetitivo constituem a maior parte do genoma das plantas (podendo compor 90-95% do DNA nuclear), possuindo unidades de repetição com tamanhos variados, de 2 a 10.000 pb, repetidos de centenas a milhares de vezes no genoma (Schmidt e Heslop-Harrison, 1998; Mehrotra e Goyal, 2014; Shcherban, 2015). Atualmente, o DNA repetitivo é considerado como um importante componente nuclear, sendo responsável pela manutenção e proteção da estrutura cromossômica, podendo participar na orientação dos cromossomos durante as divisões celulares e servir como “*hotspots*” durante a recombinação na meiose, além de participar na regulação gênica (Mehrotra e Goyal, 2014; Biscotti *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2017). Adicionalmente, em plantas, mudanças nas frações de DNA repetitivo têm sido apontadas como um dos principais mecanismos responsáveis pelos processos de especiação (Cuadrado e Jouve, 2002; Raskina *et al.*, 2008; Belyayev e Raskina, 2010; Zhu *et al.*, 2016).

As sequências de DNA repetitivo podem estar localizadas nos cromossomos de forma dispersa (distribuídas ao longo de todo o cromossomo),

como as classes de DNA repetitivo que constituem os elementos transponíveis, ou em tandem (localizadas em blocos nos cromossomos), como os DNAr, DNA telomérico e os DNAs satélites (Shcherban, 2015).

Com o avanço das ferramentas de bioinformática e com o uso de sequenciadores de nova geração, genomas de plantas têm sido sequenciados com baixa cobertura, para a identificação e classificação das sequências de DNA repetitivo mais abundantes (Saha *et al.*, 2008; Novák *et al.*, 2010; Wheeler *et al.*, 2013). A plataforma RepeatExplorer vem sendo muito utilizada pelos citogeneticistas. Esta plataforma é *online* e de livre acesso, cujas sequências são agrupadas por similaridade, baseadas em gráficos, gerando *clusters* que representam diferentes famílias de DNA repetitivo. Estas famílias são classificadas de acordo com ferramentas que detectam os domínios proteicos codificantes de elementos transponíveis. Mediante análises de similaridade, nesta plataforma, também são identificados *clusters* para DNA satélite, DNAr e DNA telomérico (Novák *et al.*, 2010; 2013; 2017; <https://repeatexplorer-elixir.cerit-sc.cz>).

2.3.1 DNA satélite

O DNA satélite (DNASat) foi inicialmente identificado como uma porção do DNA separado por gradiente de densidade (utilizando cloreto de Césio) através de ultracentrifugação e que representava aproximadamente 10% do genoma (Kit, 1961; Garrido-Ramos, 2017). É formado por monômeros de tamanhos variáveis (160 a 370 pb), não codifica proteínas e está predominantemente associado a regiões de heterocromatina ricas em AT ou em GC (Macas *et al.*, 2002; Khemlebenb *et al.*, 2003; Hembelen *et al.*, 2007; Lower *et al.*, 2018). A maioria das sequências de DNASat são formadas por um complexo processo evolutivo e são originadas a partir de duplicações seguidas de divergências nas sequências de monômeros curtos (Macas *et al.*, 2006; Emadzade *et al.*, 2014). Adicionalmente, tem sido relatado que algumas famílias de DNASat possuem origem nos espaçadores intergênicos do DNAr e a partir de elementos transponíveis (Garrido-Ramos, 2015; Meštrovic *et al.*, 2015; Satovic *et al.*, 2016).

Famílias de DNA satélite podem estar localizadas em diferentes regiões do cromossomo, sendo gênero, espécie ou cromossomo-específicas (Garrido-Ramos, 2015; Garrido-Ramos, 2017). Recentemente, foi realizada uma análise para identificação de sequências repetitivas em *Deschampsia antactica* E. Desv. (Poaceae), sendo identificados oito clusters de DNASat que juntos compõem 0,78% da fração repetitiva da espécie (73%). Dentre os clusters identificados, três foram hibridizados *in situ* nos cromossomos de diferentes acessos/populações, sendo observadas variações no número dos loci associadas a um reflexo do tempo e do grau de isolamento entre eles (González *et al.*, 2018). Por outro lado, uma análise semelhante foi realizada no genoma de *Hippophae rhamnoides* L. (Elaeagnaceae), sendo verificado que cerca de 25% do DNA repetitivo total (58,5%) é constituído por diferentes sequências de DNA satélite localizados tanto nos cromossomos sexuais quanto nos autossomos (Puterova *et al.*, 2017).

2.3.2 DNA ribossomal

O DNA ribossomal (DNAr) da grande maioria dos eucariotos é constituído por dois tipos de genes: o DNAr 45S e o 5S. O DNAr 45S é constituído por três regiões codificantes (18S, 5,8S e 26S) intercaladas por regiões de DNA espaçador que são transcritos, porém não traduzidos em DNAr (ITS1 e ITS2 — *Internal Transcribed Spacer*) (Grundler *et al.*, 1991). Em plantas, os genes para RNAr 18S, 5,8S e 25/28S são transcritos como um grande precursor, que tem aproximadamente 35S, embora o termo 45S seja amplamente utilizado (Volkov *et al.*, 2004). O DNAr 5S é constituído por repetições de uma região codificante de aproximadamente 120 pb, as quais são intercaladas por DNA espaçador não transcrito (NTS — *Non transcribed spacer*) (Sastri *et al.*, 1992). Alguns estudos têm demonstrado que o DNAr pode estar estruturalmente adjacente ou intercalado ao DNA telomérico, como em *Chrysanthemum segetum* L. Tal fato juntamente com variações nos tamanhos dos sítios de DNAr, sugere a ocorrência de recombinação homóloga nos terminais cromossômicos desta espécie (Li *et al.*, 2012).

O uso de sondas de DNAr em cromossomos de plantas tem revelado, para a maioria dos grupos vegetais, uma grande variação gênero-específica, com

alguns casos de variação intraespecífica. Variações intragenéricas foram descritas para espécies diploides nos gêneros *Lillium* L. (Liliaceae) com oito a 16 sítios de DNAr 45S (Lim *et al.*, 2001), *Pinus* L. (Pinaceae) com oito a 20 sítios (Liu *et al.*, 2003; Cai *et al.*, 2006) e *Aegilops* L. (Poaceae) com quatro a 20 sítios (Badaeva *et al.*, 1996; Kwiatek *et al.*, 2013). Adicionalmente, quando analisados gêneros com diferentes níveis de ploidia tem-se observado que o número de sítios de DNAr pode variar devido a duplicação do genoma, como ocorre em *Hepatica* Mill. (Ranunculaceae) (Weiss-Schneeweiss *et al.*, 2007) e *Agave* L. (Asparagaceae) (Robert *et al.*, 2008). Ou ainda, o número de sítios pode reduzir ou manter-se semelhante ao diploide, como parte do processo de diploidização, onde poliploides tendem a retomar o estado diploide ao longo da evolução cariotípica (Garcia *et al.*, 2017), como descrito para *Daucus* L. (Apiaceae) (Iovene *et al.*, 2008), *Iris* L. (Iridaceae) (Lim *et al.*, 2007) e *Fosterella* L.B.Sm. (Bromeliaceae) (Silva *et al.*, 2016).

Variação intraespecífica foi observada em análise de 37 cultivares de *Phaseolus vulgaris* L. (Fabaceae), em que foi observada uma variação de 12-18 sítios de DNAr 45S em acessos de origem Andina e de seis a oito sítios em acessos de origem Mesoamericana (Pedrosa-Harand *et al.*, 2006). Contudo, essa variação não foi observada quando avaliadas 17 cultivares de *P. lunatus* L. (Almeida e Pedrosa-Harand, 2011). Em *Amaranthus caudatus* L. e *A. cruentus* L. (Amaranthaceae) também foi observada variação intraespecífica, sendo sugerida uma grande mobilidade do DNAr na recente história evolutiva destas espécies (Kolano *et al.*, 2013). Em estudo com 20 acessos de *Triticum polonicum* L., também com grande variação intraespecífica, o mapeamento de sequências repetitivas, dentre elas o DNAr 45S, contribuiu para melhor entender a organização genômica da espécie, possibilitando o desenvolvimento de novas estratégias para o melhoramento do trigo (Kwiatek *et al.*, 2016).

Estudos recentes foram realizados para verificar se há uma preferência para o número e a localização dos genes de RNAr nos cromossomos de espécies de plantas, sendo revisadas análises de 846 angiospermas e gimnospermas (Roa e Guerra, 2012, 2015). Nas angiospermas, o número de sítios de DNAr 45S variou de um par por complemento cromossômico até 45 sítios em *Kyllinga brevifolia* Rottb. (Cyperaceae), sendo o número médio de sítios para espécies com cromossomos monocêntricos de 5,1 e para espécies com cromossomos

holocêntricos de 6,6. Por sua vez, nas gimnospermas, o número de sítios de DNAr 45S variou de dois até 34 em *Pinus taeda* L. (Pinaceae) e o número médio de sítios para as gimnospermas foi 10,4 (Roa e Guerra, 2012).

No que se refere à localização dos sítios de DNAr 45S, nas angiospermas a maior frequência de ocorrência foi observada para a região terminal do braço curto, enquanto que nas gimnospermas, a região intersticial do braço curto foi a mais comumente descrita (Roa e Guerra, 2012).

Com relação aos sítios de DNAr 5S, em angiospermas, o número de sítios variou de dois a 20, e de dois a oito em gimnospermas (Roa e Guerra, 2015). Para a localização do DNAr 5S, tanto angiospermas como gimnospermas apresentaram uma preferência pela localização proximal no braço curto (Roa e Guerra, 2015).

Adicionalmente, Garcia *et al.* (2017) compilaram dados de número e posição de sítios de DNAr localizados por meio de hibridização *in situ* nos cromossomos de diferentes espécies vegetais, havendo, até o momento, dados disponíveis para 2.949 cariótipos de plantas no banco de dados disponibilizado pelos autores (<http://www.plantrdnadatabase.com/>).

Diversos mecanismos relacionados à enorme variação no número e no padrão de distribuição dos sítios de DNAr em vegetais têm sido propostos (Hall e Parker, 1995; Takahashi, 2003; Raskina *et al.*, 2004ab; Kobayashi, 2006; Eickbush e Eickbush, 2007; Cohen *et al.*, 2008, 2010; Guo e Han, 2014; Dvořáková *et al.*, 2015). Dentre eles, destacam-se: (1) o modelo de amplificação, dispersão e deleção, proposto por Dubcovsky e Dvořák (1995) para explicar a variação das RONS em membros da tribo Triticeae; (2) ação de elementos transponíveis, tanto para variações no número de sítios ao nível intraespecífico quanto intragenérico (Raskina *et al.*, 2004ab; Kalendar *et al.*, 2008), e (3) a recombinação não homóloga, principalmente relacionada às posições terminais preferenciais nos cromossomos (Rosato *et al.*, 2017). O DNAr tem sido considerado um sítio frágil, devido a repetitividade de locus, resultando em hotspots para recombinação e para quebras seguidas de rearranjos cromossômicos, gerando por consequência alterações estruturais nos cromossomos e variações no número e localização de sítios de DNAr (Huang *et al.*, 2008, 2012; Singh e Barman, 2013; Tchurikov *et al.*, 2015; Lan *et al.*, 2016).

2.3.3 DNA telomérico

O DNA telomérico constitui as extremidades cromossômicas dos eucariotos e possui importantes funções: proteger os cromossomos de fusões aleatórias; ligar os cromossomos ao envelope nuclear definindo territórios cromossômicos para que os mesmos não fiquem soltos no núcleo; participar da regulação de genes localizados na região subtelomérica, e ainda prevenir o encurtamento dos cromossomos ao longo dos ciclos de divisão celular (Sykorova *et al.*, 2003a, b; Kupiec, 2014).

Na maioria das plantas, o motivo comum da sequência telomérica é TTTAGGG, o qual foi primeiramente identificado e isolado a partir de cromossomos de *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae) (Richards e Ausubel, 1988). Um outro padrão para a sequência telomérica tem sido relatado na literatura para as espécies da ordem Asparagales (monocotiledôneas), TTAGGG, que é um padrão também observado em vertebrados (Adams *et al.*, 2001; Sykorova *et al.*, 2003ab). Ainda, sequências teloméricas incomuns vêm sendo descritas, como observado em *Allium* L., cuja sequência telomérica é CTCGGTTATGGG (Fulneckova *et al.*, 2013; Fajkus *et al.*, 2016).

Apesar do DNA telomérico estar localizado nas extremidades cromossômicas na maioria dos cariótipos vegetais, algumas espécies apresentam sequências teloméricas intersticiais (ITR, *Interstitial telomeric repeats*), como observado em *Vicia faba* L. (Fabaceae) (Schubert *et al.*, 1992), *Eleocharis subarticulata* (Nees) Boeckl. (Cyperaceae) (Da Silva *et al.*, 2005), *Nothoscordum Kunth* (Amaryllidaceae) (Souza *et al.*, 2016), no híbrido intergenérico *Festuca pratensis* Huds. × *Lolium perenne* L. (Poaceae) (Majka *et al.*, 2018), bem como nas espécies de Araceae, *Anthurium leuconerum* (12 sinais), *Spathiphyllum tenerum* (4), *Typhonium laoticum* (2), *T. spec. H.AR. 664* (5) (Sousa *et al.*, 2014; Sousa e Renner, 2015). Tais ocorrências são indicativas de fusões cromossômicas ao longo da evolução cariotípica nos táxons para os quais foram observadas (Schubert *et al.*, 1992; Jones, 1998; Guerra, 2008), como também podem ser originadas a partir de diversos mecanismos durante o processo de replicação do DNA, pela ação incorreta das enzimas DNA polimerase e telomerase (Lin e Yan, 2008; Ruiz-Herrera *et al.*, 2008).

As fusões cromossômicas, muitas vezes detectadas com FISH de sondas teloméricas, sugerem eventos de dispoloidia descendente e foram inicialmente descritas como provenientes de translocações Robertsonianas, através da quebra e posterior junção de dois pares cromossômicos acrocêntricos ou telocêntricos, originando um cromossomo metacêntrico. Contudo, as dispoloidias também podem ser observadas a partir da fusão de um cromossomo inteiro em uma das extremidades de outro cromossomo não homólogo, denominada "*end-to-end*"; como também fusões do tipo "*Nested Chromosome Fusions* - NCF", definida pela existência de quatro pontos de quebra simultâneos seguido de inserção, onde um cromossomo inteiro (A) é inserido entre os braços cromossômicos de outro cromossomo (B), com perda do centrômero do cromossomo (B) (Lysak e Schubert, 2013). As NCFs foram relatadas como possíveis causas para a observação de eventos de dispoloidia em gramíneas (Luo *et al.*, 2009; International *Brachypodium* Initiative, 2010; Idziak *et al.*, 2014), Brassicaceae (Mandáková *et al.*, 2013) e mais recentemente em *Phaseolus* (predominantemente $2n = 22$), sendo sugerido a inserção do cromossomo 10 na região centromérica do cromossomo 11 em *P. leptostachyus* ($2n = 20$) seguido de vários rearranjos cromossômicos (Fonsêca *et al.*, 2016).

2.3.4 Elementos transponíveis

Os elementos transponíveis são sequências de DNA capazes de se mover dentro de um genoma e são apontados como responsáveis por grande parte da variação no tamanho do genoma de plantas (Bennetzen *et al.*, 2005; Sergeeva e Salina, 2011; Piégu *et al.*, 2015). Além disso, podem causar alterações, como a ocorrência de mutações que proporcionam a ativação ou o silenciamento de genes, como também a indução de rearranjos cromossômicos, sendo sugeridos como um dos principais responsáveis pela evolução dos genomas vegetais (Lisch, 2013). Devido a essas características, parte dos elementos transponíveis são silenciados por mutação, mecanismos epigenéticos com participação de pequenos RNAs de interferência, podendo também ser removidos dos genomas por recombinação desigual e recombinação ilegítima (Ma *et al.*, 2004; Rigal e Mathieu, 2011; Bucher *et al.*, 2012).

De acordo com o mecanismo realizado para sua transposição nos genomas, os elementos transponíveis foram divididos em duas classes. A classe I, que compreende os retroelementos, os quais utilizam um RNA intermediário durante o processo de replicação, podendo ser divididos em retrotransposons LTR e não LTR. Por sua vez, a classe II compreende os transposons que, para se moverem no genoma, utilizam um mecanismo do tipo "corta e cola". Essas classes de elementos transponíveis ainda foram agrupadas em diferentes superfamílias, famílias e linhagens, de acordo com a organização de suas sequências de DNA e a localização de seus domínios proteicos (Wicker e Keller 2007; Llorens *et al.*, 2011; Piégu *et al.*, 2015).

A fração repetitiva dos genomas vegetais é constituída principalmente por retrotransposons LTR (Piégu *et al.*, 2006; Neumann *et al.*, 2006; Novák *et al.*, 2014), destacando as superfamílias Ty1-*Copia* e Ty3-*Gypsy* como as mais abundantes (Wicker e Keller, 2007; Llorens *et al.*, 2011; Piégu *et al.*, 2015). Algumas linhagens de Ty1-*Copia* foram descritas como constituintes da fração repetitiva de genomas vegetais, como *Ale*, *Angela*, *Ivana*, *TAR*, *Tork* e *Maximus* (Wicker e Keller, 2007). O elemento *Angela* foi a sequência repetitiva predominante no genoma do milho (Wicker *et al.*, 2001), *Maximus* foi encontrado em abundância em espécies da família Musaceae (Novák *et al.*, 2014), em Fabaceae (Macas *et al.*, 2015), e também em *Helianthus annuus* L. (Asteraceae) (Mascagni *et al.*, 2015). Ainda, a linhagem *Ale* foi a prevalente dentre os elementos Ty1-*Copia* em *Populus trichocarpa* L. (Salicaceae) (Natali *et al.*, 2015). Essas sequências também foram identificadas e mapeadas nos cromossomos de *Coccinia* (Cucurbitaceae) (Sousa *et al.*, 2017) e *Hippophae rhamnoides* L. (Elaeagnaceae) (Puterova *et al.*, 2017).

Por outro lado, as linhagens Ty3-*Gypsy* predominantes em genomas de plantas são: *Athila* e *Chromovirus*, sendo descritos pela primeira vez, em *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh. (Brassicaceae) (Pelissier *et al.*, 1995; Marín e Llorens, 2000; Wright e Voytas, 2002) e ainda, *Ogre* identificado e descrito em *Pisum sativum* L. (Fabaceae) pela primeira vez (Neumann *et al.*, 2003). O elemento *Athila* codifica um suposto gene de envelope, sugerindo que estes são retrovírus infecciosos (Wright e Voytas 2002). Tal elemento está presente em cerca de 6% do genoma de *Hippophae rhamnoides* (Puterova *et al.*, 2017), sendo o elemento mais abundante em *Populus trichocarpa* (Natali *et al.*, 2015), presente

em baixa proporção em genomas de leguminosas (1,64%) (Macas *et al.*, 2015). Além disso, foi hibridizado *in situ* nos cromossomos de *Coccinia*, sendo observado em *C. grandis* (L.) Voigt um acúmulo em ambos os braços do cromossomo Y, em *C. trilobata* (Cogn.) C. Jeffrey nas regiões subteloméricas e um acúmulo diferenciado em um par cromossômico de células masculinas de *C. hirtella* Cogn. (Sousa *et al.*, 2017).

Retroelementos do tipo *Ogre*, foram apelidados de "gigantes", uma vez que estes podem ter um comprimento de até 25 kb e grandes LTRs com mais de 6 kb (Neumann *et al.*, 2003, 2006). São elementos com uma ORF a montante do gene GAG (Neumann *et al.*, 2003), sendo identificados nos genomas de Leguminosae, Solanaceae e Salicaceae, onde foi verificada pouca conservação de suas sequências de nucleotídeos, apesar de apresentar domínios de proteínas altamente conservados (Macas e Neumann, 2007). Como a maioria dos elementos transponíveis, *Ogre* foi localizado disperso ao longo dos braços cromossômicos nas espécies de Fabaceae, *Vicia pannonica* Crantz (Neumann *et al.*, 2006) e *Lathyrus sativus* L. (Ceccarelli *et al.*, 2013), como também em *Silene latifolia* Poir. (Caryophyllaceae) (Hobza *et al.*, 2015).

Os elementos classificados como *Chromovirus* são linhagens que carregam um chromodomínio na extremidade 5' e foram subdivididos em quatro grupos: *Galadriel*, *Tekay*, *CRM* e *Reina*, com base no tamanho do LTR, na posição do chromodomínio e do sítio PPT (Gorinsek *et al.*, 2004; Novikova, 2009; Weber *et al.*, 2013). Além de estarem localizados de forma dispersa nos cromossomos, podem também estar associados a heterocromatina centromérica, como relatado para *Beta vulgaris* L. (Amaranthaceae) (Weber *et al.*, 2013), *P. sativum* (Neumann *et al.*, 2011) e espécies de Ranunculaceae (Mlinarec *et al.*, 2016).

2.4 ANÁLISES CITOGENÉTICAS EM ARACEAE

Todos os gêneros de Araceae apresentam contagens cromossômicas, onde os números diploides variam de $2n = 10$ (*Typhonium jinpingense* Z.T. Wang, H.Li & F.H. Bian) a $2n = 168$ (*Arisaema heterophyllum* Blume) (Petersen, 1989; Grayum, 1990; Bogner e Petersen, 2007; Cusimano *et al.*, 2012). Apesar da ampla variação cromossômica observada na família, Larsen (1969) e Marchant

(1973) apontavam $x = 7$ como provável número básico para Araceae, sugerindo que os números cromossômicos mais elevados seriam derivados de antigos eventos de poliploidização e/ou dispoloidia ascendente. Posteriormente, observando-se cariótipos com $2n = 28$ como mais frequentes, passou-se a sugerir $x = 14$ como provável número básico (Grayum, 1990). Contudo, em uma análise mais robusta envolvendo reconstrução de números cromossômicos ancestrais em árvores filogenéticas, Cusimano *et al.* (2012) rejeitaram as hipóteses anteriores para os prováveis números básicos da família e sugeriram os números $x = 16$ e $x = 18$, havendo uma predominância para eventos de fusão cromossômica, além da ocorrência de poucos eventos de poliploidização. Adicionalmente, os tamanhos cromossômicos em Araceae também apresentam grande variação (1 a 17 μm), assim como os valores de conteúdo de DNA dos genomas analisados de espécies da família, os quais apresentam variação para valor 1C de 0,30 pg a 48,10 pg (ver Petersen, 1989,1993; Bennet e Leitch, 2012).

Análises envolvendo técnicas de bandeamento cromossômico ou de FISH são escassas para os membros da família Araceae. Bandeamento CMA₃/DAPI encontra-se disponível para seis espécies de Araceae: *Lasia spinosa* (L.) Thwaites (Sultana *et al.*, 2006); quatro espécies de *Philodendron* (Correia-da-Silva, 2007); *Typhonium trilobatum* L. (Huq *et al.*, 2007; Warasy e Ashma, 2009), e *Colocasia fallax* Schott (Begum e Alam, 2009). O primeiro trabalho publicado com análise de citogenética molecular investigou a possível origem de híbridos de *Colocasia* mediante hibridização *in situ* genômica (GISH — *Genomic in situ hybridization*), sendo confirmada a formação de híbridos entre *C. esculenta* e *C. gigantea* (Viêt, 2004).

Posteriormente, foram publicados outros trabalhos envolvendo a técnica de FISH em Araceae com sondas de DNAr 35S em *Anthurium gracile* (Rudge) Lundl. (Correia-da-Silva, 2007) e em outras seis espécies [*Anthurium andraeanum* Linden ex André, *Monstera deliciosa* Liebm., *Philodendron hederaceum* (Jacq.) Schott (sin. *P. scandens* Koch & Sello), *Spathiphyllum wallisii* Regel, *Syngonium auritum* (L.) Schott e *Zantedeschia elliottiana* (Knight) Engler] (Lakshmanan *et al.*, 2015). Trabalhos com hibridização *in situ* simultânea ou sequencial com sondas de DNAr 35S e 5S, além de telomérica, também foram realizados em espécies de *Typhonium* Schott (Sousa *et al.*, 2014) e em outras 12 espécies de Araceae, incluindo *Anthurium* Schott, *Cyrtosperma* Griff., *Englerarum* Nauheimer e

P.C.Boyce, *Rhaphidophora* Hassk., *Scindapsus* Schott, *Spathiphyllum* Schott, *Stenospermatium* Schott e *Ulearum* Engl. (Sousa e Renner, 2015), sendo observadas variações no número e localização dos sítios de DNAr, como também a presença de marcações teloméricas intersticiais nos cromossomos de algumas espécies.

2.4.1 Análises citogenéticas em *Philodendron s.l.*

Os dados citogenéticos para *Philodendron s.l.* são escassos e restritos a análises de contagens de números cromossômicos e de tamanho do genoma (Correia-da-Silva *et al.*, 2014). Os números cromossômicos são conhecidos apenas para cerca de 13% das espécies, variando de $2n = 26$ a $2n = 40$, um valor abaixo da média (26%) observada para a família Araceae (Muníán, 1988; Petersen, 1989; Bogner e Petersen, 2007; Correia-da-Silva *et al.*, 2014). Cariótipos com $2n = 32$ são mais frequentes, seguidos por $2n = 34$, sendo sugerido que $x = 16$ seria o número básico para o gênero e que eventos de dispoloidia estariam conduzindo às mudanças nos números cromossômicos ao longo da evolução cariotípica do grupo (Correia-da-Silva *et al.*, 2014). Com relação ao tamanho do genoma, em um estudo recente, Vasconcelos (2015) analisou por citometria de fluxo 141 espécies, cujos valores-2C de DNA variaram de 2,48 a 7,58 pg. Neste mesmo trabalho também foram observadas variações entre acessos diferentes de algumas espécies, como para *P. quinquenervium* (sin. *P. acutatum*; $4,26 \pm 0,09$; $4,66 \pm 0,14$ e $4,92 \pm 0,06$ pg).

Adicionalmente, os bandeamentos CMA₃/DAPI e bandeamento C-CMA₃/DAPI foram realizados em 12 espécies de *Philodendron*, embora tenham sido observadas regiões ricas em heterocromatina apenas para oito espécies: (1) *P. asplundii* Croat & M. L. Soares, que apresentou quatro pares de cromossomos com bandas DAPI⁺ nas regiões intersticiais e pericentroméricas; (2) *P. barrosoanum* G. S. Bunting, com oito a 10 pares de cromossomos com bandas CMA⁻/DAPI⁺⁺ e quatro pares com bandas C-CMA⁺⁺/DAPIⁿ nas regiões intersticiais e teloméricas; (3) *P. billietiae* Croat, que apresentou de dois a quatro pares cromossômicos com bandas CMA⁺/DAPI⁻ e oito pares com bandas C-CMA⁺⁺/DAPI⁻ localizadas nas regiões teloméricas, intersticiais e

pericentroméricas; (4) *P. linnaei* Kunth, com um par de cromossomos com bandas C-CMA⁺/ DAPIⁿ observadas nas regiões teloméricas e dois pares com bandas C-CMAⁿ/ DAPI⁺ nas regiões intersticiais; (5) *P. megalophyllum* Schott, com dois pares de cromossomos com bandas CMA⁺/ DAPIⁿ nas regiões intersticiais e teloméricas; (6) *P. melinonii* Brong. Ex Regel, com três pares de cromossomos com bandas C-CMA⁺/ DAPI⁻ nas regiões teloméricas; (7) *P. ornatum* Schott, com três pares de cromossomos com bandas C-CMA⁺/ DAPIⁿ nas regiões teloméricas e pericentroméricas; e (8) *P. quinquelobum* K. Krause, com três pares de cromossomos com bandas C-CMA⁺⁺/ DAPIⁿ nas regiões teloméricas (Correia-da-Silva, 2007). Mais recentemente, Lakshmanan *et al.* (2015) hibridizaram sonda de DNAr 45S em *P. hederaceum* (sin. *P. scandens*), as quais foram localizadas no braço curto e na região terminal de um par cromossômico.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Analisar os padrões de evolução dos arranjos de *clusters* de DNA repetitivo nos cariótipos de espécies de *Philodendron s.l.* (*Philodendron* + *Thaumatophyllum*), levando em consideração tanto a variação nos números cromossômicos quanto no tamanho dos genomas, visando um maior entendimento da evolução cariotípica e da organização genômica do grupo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Ampliar a análise do número cromossômico para espécies de *Philodendron s.l.*, a fim de contribuir para o entendimento da evolução cariotípica do grupo.
2. Verificar a distribuição de sequências de DNA repetitivo nos cromossomos de espécies de *Philodendron s.l.*, permitindo fazer inferências sobre a evolução cariotípica da heterocromatina do grupo.
3. Investigar a ocorrência de eventos de disploidia em espécies de *Philodendron s.l.* com menores números cromossômicos.
4. Identificar e quantificar os tipos de DNA repetitivo presentes nos genomas de espécies de *Philodendron s.l.*
5. Verificar possíveis correlações entre o DNA repetitivo, número cromossômico, complemento cromossômico/ tamanho do genoma e com a filogenia previamente publicada para o grupo.

4 ARTIGO I

Updating the list of chromosome numbers for *Philodendron* (Araceae)

Emanuelle V. Vasconcelos,¹ Ana C. Brasileiro-Vidal,¹ Ana M. Benko-Iseppon,¹ & Santelmo Vasconcelos^{1,2*}

¹Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco, Av. da Engenharia s/n, CEP 50740-600, Recife, Pernambuco, Brazil

²Department of Sustainable Development, Vale Institute of Technology, Rua Boaventura da Silva 955, CEP 66055-090, Belém, Pará, Brazil

* Author for correspondence: santelmo Vasconcelos@gmail.com

Received: December 6, 2016

Accepted: March 2, 2017

ABSTRACT

Aiming for a better understanding of karyotype evolution within *Philodendron*, we report chromosome counts for 23 species of the genus, of which 19 are being reported for the first time, thus increasing to 84 (ca. 17 % of the genus) the total number of species with available chromosome counts. The diploid numbers $2n = 32$ and $2n = 34$ were the most common, with 10 and 11 species, respectively, whereas only two species presented different chromosome numbers (*P. giganteum* with $2n = 30$ and *P. adamantinum* with $2n = 36$). The results are discussed in the context of previous analyses of karyotypes of *Philodendron* spp., taking into account bidirectional dysploidy as the main mechanism of chromosome number evolution within the genus.

Keywords: aroids, diploid number, dysploidy, karyotype, *Philodendron*

Philodendron (Araceae) is one of the most prominent monocot groups in the humid Neotropical forests, being composed mostly of lianescent species (Grayum 1996; Croat 1997). The genus is the second largest of the aroid family, comprising almost 500 species (Boyce & Croat 2016), which have been traditionally subdivided into three major groups: *P.* subgenus *Meconostigma* (21 spp.), *P.* subgenus *Pteromischum* (82 spp.) and *P.* subgenus *Philodendron* (ca. 380 spp. subdivided into 10 sections) (Sakuragui *et al.* 2005; Barbosa & Sakuragui 2014; Calazans *et al.* 2014). There is a considerable ecological variation within *Philodendron*, mainly observed among the species of *P.* subgenus *Philodendron*, which also presents the widest geographic distribution, ranging from Mexico to Uruguay (Croat 1997; Mayo *et al.* 1997).

Considering the proportion of 19 % of angiosperms with known chromosome numbers (Rice *et al.* 2015), the members of Araceae have been relatively well sampled in cytogenetic studies, with a coverage of 26 % of the approximately 3400 species (Bogner & Petersen 2007; Cusimano *et al.* 2012; Boyce & Croat 2016). Recently, Correia-da-Silva *et al.* (2014) reviewed the list of chromosome numbers previously published for *Philodendron* species, besides reporting new chromosome counts for the group. According to these authors, the coverage of the genus is considerably lower than the observed in other genera of Araceae, with only 13 % of the species with available chromosome counts (66 out of ca. 500). Although there is a certain degree of variation of chromosome numbers within the genus, ranging from $2n = 28$ to 40, most of the species present either $2n = 32$ (45.4 %; 30 spp.) or $2n = 34$ (27.3 %; 18 spp.) (Correia-da-Silva *et al.* 2014). Therefore, in order to increase the list of chromosome counts for *Philodendron*, as well as aiming for a better understanding of the karyotype evolution within the genus, we bring diploid numbers for 23 species, 19 of which are being reported for the first time.

All plant materials were obtained from the Araceae living collection held at the Royal Botanic Gardens, Kew, except for the accession of *P. mello-barretoanum* Burle-Marx ex G.M.Barroso, which is cultivated in the *Philodendron* living collection of the Department of Genetics of the Federal University of Pernambuco (Universidade Federal de Pernambuco – Recife, Brazil) (Tab. S1 in supplementary material).

Chromosome counts followed the procedures used by Correia-da-Silva *et al.* (2014), with some modifications. Root tips were collected, pre-treated with 2 mM 8-hydroxyquinoline at room temperature (ca. 25 °C) for 1 h and, and at 10 °C for 23 h, fixated in Carnoy (3:1 ethanol:acetic acid, v/v) at room temperature for 4-6 h and stored at -20 °C. Subsequently, root tips were digested for 24 h at 37 °C in an enzymatic solution containing 2 % (w/v) cellulase from *Aspergillus niger* Tiegh. (Sigma-Aldrich) and 20 % (v/v) pectinase from *A. niger* (Sigma-Aldrich) and squashed in a drop of 45 % acetic acid. Chromosome preparations were stained and mounted with a DAPI-glycerol solution (2 µg/mL 4',6-diamidino-2-phenylindole and glycerol; 1:1, v/v) for 10-15 min. Cell images were acquired with a Leica DMLB epifluorescence microscope and a Leica DFC 340FX camera with the Leica CW4000 software.

Among the analyzed karyotypes, the diploid numbers $2n = 32$ and $2n = 34$ were the most frequent, being observed for 10 (*P. annulatum*, *P. ernestii* (Fig. 1A), *P. glanduliferum* (Fig. 1B), *P. glaziovii*, *P. inconcinnum* (Fig. 1C), *P. jacquinii* (Fig. 1D), *P. lacerum* (Fig. 1E), *P. longilaminatum* (Fig. 1F), *P. schmidtiae* and *P. smithii* (Fig. 1G)) and 11 (*P. angustilobum*, *P. burle-marxii* (Fig. 1H), *P. cordatum*, *P. erubescens* (Fig. 1I), *P. krugii*, *P. maximum* (Fig. 1J), *P. mello-barretoanum* (Fig. 1K), *P. renauxii*, *P. tenue*, *P. tripartitum* and *P. uleanum* (Fig. 1L)) species, respectively (Tab. S1 in supplementary material). Only *P. giganteum* ($2n = 30$; Fig. 1M) and *P. adamantinum* ($2n = 36$) had different chromosome numbers. Therefore, we further confirm the numbers $2n = 32$ and $2n = 34$, particularly the first one, as the most important in the genus, although without any clear pattern of distribution among the different sections of *P.* subgenus *Philodendron* (Tab. S1 in supplementary material).

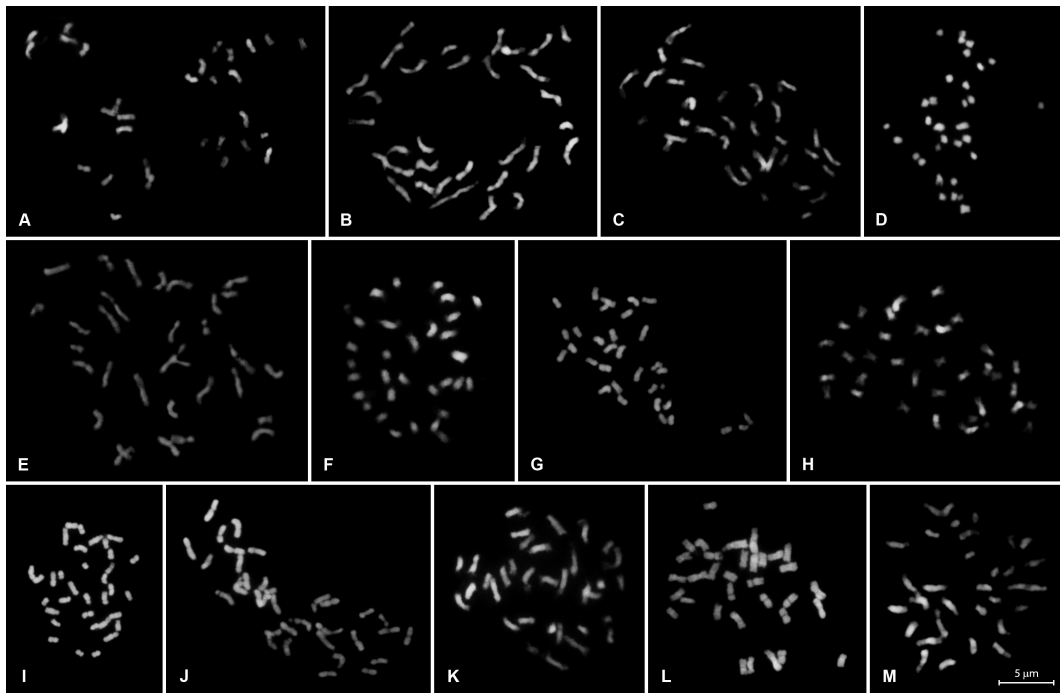


Figure 1. Mitotic chromosomes of *Philodendron* species stained with DAPI (4',6-diamidino-2-phenylindole). *Philodendron ernestii* ($2n = 32$; A); *P. glanduliferum* ($2n = 32$; B); *P. inconcinnum* ($2n = 32$; C); *P. jacquinii* ($2n = 32$; D); *P. lacerum* ($2n = 32$; E); *P. longilaminatum* ($2n = 32$; F); *P. smithii* ($2n = 32$; G); *P. burle-marxii* ($2n = 34$; H); *P. erubescens* ($2n = 34$; I); *P. maximum* ($2n = 34$; J); *P. mello-barretoanum* ($2n = 34$; K); *P. uleanum* ($2n = 34$; L); ; and *P. giganteum* ($2n = 30$; M).

Considering the two diverging counts previously published for *P. giganteum*, $2n = 30$ (Simmonds 1954) and $2n = 34$ (Jones 1957), we confirmed the data from the first analysis (Tab. S1 in supplementary material). As previously pointed out by Correia-da-Silva *et al.* (2014) for several other *Philodendron* species, this seems to be the case of a miscount by Jones (1957), instead of the existence of a chromosome number polymorphism within the species. Such likely miscounts may be linked to the use paraffin sections by the author to obtain the chromosome preparations for materials with small chromosomes such as *Philodendron* spp. (Jones 1957), instead of the most usual flattening of macerated meristems by squashing between slide and coverslip. Similarly, the data previously published by Sharma & Mukhopadhyay (1965) for *P. lacerum* ($2n = 36$) and *P. erubescens* ($2n = 32$) and were divergent from the chromosome numbers observed here, which were $2n = 32$ (Fig. 1E) and $2n = 34$ (Fig. 1I), respectively (Tab. S1 in supplementary material). On the other hand, for *P. cordatum*, the number $2n = 34$, which Jones (1957) had previously observed, was corroborated here (Tab. S1 in supplementary material).

Regarding the analyzed species of *P.* subgenus *Meconostigma*, *P. adamantinum*, showed a commonly observed number for eastern Brazilian species of the subgenus ($2n = 36$), as well as *P. corcovadense*, *P. saxicola* and *P. undulatum*, for instance (Correia-da-Silva *et al.* 2014), while *P. mello-barretoanum* showed $2n = 34$, which is being reported for the first time for the subgenus. As our new results for *P. lacerum* associates the species with a quite common diploid number for *P.* subgenus *Philodendron* ($2n = 32$), *P. rugosum* is currently the only species of the mentioned group with a double-checked diploid number of $2n = 36$ (Bogner & Bunting 1983; Petersen 1989). In addition, the number $2n = 36$ has been observed almost only in the heliophytes of *P.* subgenus *Meconostigma*, which has been indicated as a derivative habit within the group (Calazans *et al.* 2014; Loss-Oliveira *et al.* 2016). Thus, $x = 18$ may not be the primitive basic number in *Philodendron*, not representing the whole genus, as previously discussed by Correia-da-Silva *et al.* (2014). Instead, we suggest either $2n = 32$ or $2n = 34$ as the ancestral diploid number for the group, although further confirmation is necessary through an analysis of ancestral chromosome number reconstruction. Therefore, bidirectional dysploidy (starting from $2n = 32$ or $2n = 34$) could be regarded as the main cause of chromosome number variation among *Philodendron* species, as largely observed among Araceae genera, probably being the most significant events during the karyotype evolution within the family (see Sousa & Renner 2015), besides being frequently reported for other angiosperm groups, such as *Brachypodium* (Poaceae) (Idziak *et al.* 2014) and *Melampodium* (Asteraceae) (McCann *et al.* 2016), for instance.

Including the results presented here, chromosome counts are now available for 84 species of *Philodendron* (ca. 17 % of the ca. 500 species), excluding the findings for the cultivated hybrids presented by Catalano *et al.* (1964), Catalano & Landi (1966) and Jones (1957) (Tab. S1 in supplementary material). As previously mentioned, assumptions regarding the association between taxa and diploid numbers cannot be easily defined, due to the still low coverage of some groups, such as *P.* subgenus *Pteromischum*, for which there are chromosome counts for only two species (Tab. S1 in supplementary material; see Correia-da-Silva *et al.* 2014). On the other hand, only by increasing the knowledge on the cytogenetic features of the *Philodendron* species, one may understand the evolutionary

pathways of the karyotypes within the genus, as reported for *Typhonium* (Sousa *et al.* 2014), another aroid genus from the subfamily Aroideae.

Acknowledgements

This study was supported by CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico) and CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior). The authors are grateful to the Royal Botanic Gardens, Kew, especially to Dr. Ilia J. Leitch, Dr. Ralf Kynast, Dr. Simon J. Mayo and Marcelo Sellaro, for providing access to the sampled materials.

References

- Barbosa JF, Sakuragui CM. 2014. Taxonomy and conservation of the Brazilian extra-Amazonian species of *Philodendron* subg. *Pteromischum* (Araceae). *Phytotaxa* 191: 45-65.
- Bogner J, Bunting GS. 1983. A new *Philodendron* species (Araceae) from Ecuador. *Willdenowia* 13: 183-185.
- Bogner J, Petersen G. 2007. The chromosome numbers of the aroid genera. *Aroideana* 30: 82-90.
- Boyce PC, Croat TB. 2016. The Überlist of Araceae, totals for published and estimated number of species in aroid genera. <http://aroid.org/genera/140601uberlist.pdf>. 3 Nov. 2016.
- 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.
- 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.

- 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: 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.
- 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'. *Annals of Botany* 109: 681-692.
- Grayum MH. 1996. Revision of *Philodendron* subgenus *Pteromischum* (Araceae) for Pacific and Caribbean tropical America. *Systematic Botany Monographs* 47: 1-233.
- Idziak D, Hazuka I, Poliwczak B, Wiszynska A, Wolny E, Hasterok R. 2014. Insight into the karyotype evolution of *Brachypodium* species using comparative chromosome barcoding. *PLoS One* 9: e93503. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0093503>.
- Jones GE. 1957. Chromosome numbers and phylogenetic relationships in the Araceae. PhD Thesis, University of Virginia, Charlottesville.
- Loss-Oliveira L, Sakuragui C, Soares ML, Schrago CG. 2016. Evolution of *Philodendron* (Araceae) species in Neotropical biomes. *PeerJ* 4: e1744. <http://dx.doi.org/10.7717/peerj.1744>.
- Mayo SJ, Bogner J, Boyce PC. 1997. The genera of Araceae. Richmond, Kew Publishing.
- McCann J, Schneeweiss GM, Stuessy TF, Villaseñor JL, Weiss-Schneeweiss H. 2016. The impact of reconstruction methods, phylogenetic uncertainty and branch lengths on inference of chromosome number evolution in American daisies (*Melampodium*, Asteraceae). *PLoS One* 11: e0162299. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0162299>.
- Petersen G. 1989. Cytology and systematics of Araceae. *Nordic Journal of Botany* 9: 119-165.
- Rice A, Glick L, Abadi S, *et al.* 2015. The chromosome counts database (CCDB) – a community resource of plant chromosome numbers. *New Phytologist* 206: 19-26.

- Sakuragui CM, Mayo SJ, Zappi DC. 2005. Taxonomic revision of Brazilian species of *Philodendron* section *Macrobelum*. Kew Bulletin 60: 465-513.
- Sharma AK, Mukhopadhyay S. 1965. Cytological study on two genera of Araceae and correct assessment of their taxonomic status. Genetica Agraria 18: 603-616.
- Simmonds NW. 1954. Chromosome behaviour in some tropical plants. Heredity 8: 139-146.
- Sousa A, Cusimano N, Renner SS. 2014. Combining FISH and model-based predictions to understand chromosome evolution in *Typhonium* (Araceae). Annals of Botany 113: 669-680.
- Sousa A, Renner SS. 2015. Interstitial telomere-like repeats in the monocot family Araceae. Botanical Journal of the Linnean Society 177: 15-26.

Table S1. Karyotypic features of all species of *Philodendron* analyzed to date, including data from previous chromosome counts.

<i>Taxon</i> ^a	Accessions and provenances ^{b,c}	<i>2n</i> ^d	<i>n</i> ^d	Reference
<i>Philodendron</i> subgen. <i>Meconostigma</i> (Schott) Engler				
<i>P. adamantinum</i> Mart. ex Schott	Kew 1987-232 (BR)	36		Present work
<i>P. corcovadense</i> Kunth	-	36	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<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 & Takada (1962)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K.Koch]	-	(32)		Sharma & Battacharya (1966)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K.Koch]	-	(32)		Chaudhuri & Sharma (1979)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K.Koch]	-	(48)		Subramanian & Munian (1988)
<i>P. bipinnatifidum</i> Schott [as <i>P. selloum</i> K.Koch]	-	(32)		Mohamed <i>et al.</i> (2006)
<i>P. goeldii</i> G.M.Barroso	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. lundii</i> Warm.	-	36	-	Jones (1957)
<i>P. mello-barretoanum</i> Burle-Marx ex G.M.Barroso	S. Vasconcelos 95 (UFP); SV534PE (BR)	34		Present work
<i>P. saxicola</i> K.Krause	-	36	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. solimoesense</i> A.C.Smith	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. speciosum</i> Schott	-	36	-	Jones (1957)
<i>P. uliginosum</i> Mayo	-	28	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. undulatum</i> Engl.	-	36	-	Jones (1957)
<i>P. undulatum</i> Engl.	-	-	18	Pfitzer (1957)
<i>P. subgen. Philodendron</i> Engler				
sect. <i>Baursia</i> Reichb.				
<i>P. callosum</i> K.Krause	-	28	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. crassinervium</i> Lindl.	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. glaziovii</i> Hook.f.	Kew 1979-2436 (BR)	32		Present work
<i>P. insigne</i> Schott	-	30-32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)

<i>P. linnaei</i> Kunth	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. longilaminatum</i> Schott	Kew 1977-767 (BR)	32		Present work
<i>P. martianum</i> Engl. [as <i>P. cannifolium</i> (Rudge) Engl.] ^c	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. panduriforme</i> (Kunth) Kunth	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. renauxii</i> Reitz	Kew 1983-1988 (BR)	34	-	Present work
sect. <i>Macrobelum</i> (Schott) Sakur.				
<i>P. acutatum</i> Schott	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. acutatum</i> Schott [as <i>P. imbe</i> Schott]	-	(34)	-	Jones (1957)
<i>P. acutatum</i> Schott [as <i>P. imbe</i> Schott]	-	-	(17)	Pfitzer (1957)
<i>P. acutatum</i> Schott [as <i>P. imbe</i> Schott]	-	(34)	-	Tsuchiya & Takada (1962)
<i>P. acutatum</i> Schott [as <i>P. imbe</i> Schott]	-	32	-	Cotias-de-Oliveira <i>et al.</i> (1999)
<i>P. annulatum</i> Croat	Kew 1996-4421 (PA)	32		Present work
<i>P. bernardopazii</i> E.G.Gonç.	-	34	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. burle-marxii</i> G.M.Barroso	Kew 1975-98 (CO)	34		Present work
<i>P. cipoense</i> Sakuragui & Mayo	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. cordatum</i> Kunth ex Schott	Kew 1996-2103 *	34		Present work
<i>P. cordatum</i> Kunth ex Schott	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. erubescens</i> K.Koch & Augustin	Kew 2000-787 *	34	-	Present work
<i>P. erubescens</i> K.Koch & Augustin	-	(32)	-	Sharma & Mukhopadhyay (1965)
<i>P. eximium</i> Schott	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. hastatum</i> K.Koch & Sello	-	30	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. hastatum</i> K.Koch & Sello	-	(34)	-	Jones (1957)
<i>P. hastatum</i> K.Koch & Sello	-	30	-	Mohamed <i>et al.</i> (2006)
<i>P. hatschbachii</i> Nadruz & Mayo	-	34	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. inconcinnum</i> Schott	Kew 1981-3728 *	32	-	Present work
<i>P. krugii</i> Engl.	Kew 1980-1645 (TT)	34	-	Present work
<i>P. microstictum</i> Standl. & L.O.Williams [as <i>P. pittieri</i> Engl.] ^f	-	34		Jones (1957)
<i>P. pachyphyllum</i> K.Krause	-	34	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. pachyphyllum</i> K.Krause	-	34	-	Cotias-de-Oliveira <i>et al.</i> (1999)
<i>P. rhizomatosum</i> Sakur. & Mayo	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)

<i>P. smithii</i> Engl.	Kew 1980-1583 (MX)	32	-	Present work
<i>P. sphalerum</i> Schott	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. uleanum</i> Engl.	Kew 1982-1568 (EC)	34	-	Present work
<i>P. wendlandii</i> Schott	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. wendlandii</i> Schott	-	(54)	-	Subramanian & Munian (1988)
<i>P. wittianum</i> Engl.	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
sect. <i>Macrogynium</i> Engl.				
<i>P. jacquini</i> Schott	Kew 1980-1634 (MX)	32	-	Present work
sect. <i>Philodendron</i> (Jacq.) Schott				
<i>P. asplundii</i> Croat & M.L.Souares	-	34	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. billietiae</i> Croat	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. blanchetianum</i> Schott	-	34	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. blanchetianum</i> Schott	-	34	-	Cotias-de-Oliveira <i>et al.</i> (1999)
<i>P. brevispathum</i> Schott	-	40	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. devansayeanum</i> L.Linden	-	30	-	Mohamed <i>et al.</i> (2006)
<i>P. ernestii</i> Engl.	Kew 1982-5234 (EC)	32	-	Present work
<i>P. fragrantissimum</i> (Hook.) G.Don	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. giganteum</i> Schott	Kew 2011-1735 (MS)	30	-	Present work
<i>P. giganteum</i> Schott	-	30	-	Simmonds (1954)
<i>P. giganteum</i> Schott	-	(34)	-	Jones (1957)
<i>P. glanduliferum</i> Matuda	Kew 1981-3727 *	32	-	Present work
<i>P. grandifolium</i> (Jacq.) Schott	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott [as <i>P. cuspidatum</i> K.Koch & C.D.Bouché]	-	30	-	Sharma & Mukhopadhyay (1965)
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott [as <i>P. cuspidatum</i> K.Koch & C.D.Bouché]	-	36	-	Chaudhuri & 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 <i>et al.</i> (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 & Munian (1988)
<i>P. hopkinsianum</i> M.L.Souares & Mayo	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. maximum</i> K.Krause	Kew 1973-381 *	34	-	Present work

<i>P. megalophyllum</i> Schott	-	34	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. melanochrysum</i> Linden & André [as <i>P. andreanum</i> Devansaye]	-	34	-	Matsuura & Suto (1935)
<i>P. melanochrysum</i> Linden & André [as <i>P. andreanum</i> Devansaye]	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. melanochrysum</i> Linden & André [as <i>P. andreanum</i> Devansaye]	-	(32)	-	Sharma (1970)
<i>P. melinonii</i> Brongn. ex Regel	-	30	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. melinonii</i> Brongn. ex Regel	-	30	-	Jones (1957)
<i>P. ornatum</i> Schott	-	34	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. schmidtiae</i> Croat & C.E.Ceron	Kew 1982-1573 (EC)	32	-	Present work
<i>P. tenue</i> K.Koch. & Augustin	Kew 1984-612 (CR)	34	-	Present work
<i>P. toshibai</i> M.L.Souares & Mayo	-	34	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. verrucosum</i> L.Mathieu ex Schott	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. verrucosum</i> L.Mathieu ex Schott	-	-	17	Pfitzer (1957)
sect. <i>Philopsammos</i> G.S.Bunting				
<i>P. pulchrum</i> G.M.Barroso	-	26-28	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
sect. <i>Polytomium</i> (Schott) Engler				
<i>P. distantilobum</i> K.Krause	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. houlettianum</i> Engl.	-	32	-	Malvesin-Fabre (1945)
<i>P. lacerum</i> (Jacq.) Schott	Kew 1979-3173 (GY)	32	-	Present work
<i>P. lacerum</i> (Jacq.) Schott	-	(36)	-	Sharma & Mukhopadhyay (1965)
<i>P. radiatum</i> Schott	-	32	-	Mookerjee (1955)
<i>P. radiatum</i> Schott	-	(32 + 1B) ^g	-	Sharma (1956)
<i>P. tortum</i> M.L.Souares & Mayo	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. warszewiczii</i> K.Koch & C.D.Bouché	-	34	-	Jones (1957)
sect. <i>Schizophyllum</i> (Schott) Engler				
<i>P. bipennifolium</i> Schott	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. nadruzianum</i> Sakur.	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	-	32	-	Cotias-de-Oliveira <i>et al.</i> (1999)
<i>P. pedatum</i> (W. J. Hooker) Kunth [as <i>P. lacinosum</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	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)

<i>P. squamiferum</i> Poepp.	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. squamiferum</i> Poepp.	-	(34)	-	Jones (1957)
<i>P. squamiferum</i> Poepp.	-	32	-	Sharma & Mukhopadhyay (1965)
<i>P. squamiferum</i> Poepp.	-	(26)	-	Catalano & Landi (1966)
sect. <i>Tritomophyllum</i> Schott				
<i>P. angustilobum</i> Croat & Grayum	Kew 1996-4420 (CR)	34	-	Present work
<i>P. barrosoanum</i> G.S.Bunting	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. hylaeae</i> G.S.Bunting	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. tripartitum</i> (Jacq.) Schott	Kew 1980-1524 (MX)	34	-	Present work
Unplaced^f				
<i>P. elaphoglossoides</i> Schott	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. gloriosum</i> André	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. gloriosum</i> André	-	33	-	Sharma & Mukhopadhyay (1965)
<i>P. rugosum</i> Bogner & G.S.Bunting	-	36	-	Bogner & Bunting (1983)
<i>P. rugosum</i> Bogner & G.S.Bunting	-	36	-	Petersen (1989)
<i>P. sodiroi</i> Hort.	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. subgen. Pteromischum</i> (Schott) Mayo				
sect. <i>Fruticosa</i> Grayum				
<i>P. rudgeanum</i> Schott	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
<i>P. surinamense</i> (Miq.) Engl.	-	32	-	Correia-da-Silva <i>et al.</i> (2014)
Cultivated hybrids				
<i>P. × fosterianum</i>	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. × macneilianum</i>	-	36	-	Jones (1957)
<i>P. × mandanianum</i> × <i>P. wendlandii</i>	-	34	-	Jones (1957)
<i>P. × partenopaeum</i> (<i>P. erubescens</i> × <i>P. eximium</i>)	-	33	-	Catalano <i>et al.</i> (1964)
<i>P. × pausilypum</i> (<i>P. eximium</i> × <i>P. squamiferum</i>)	-	30	-	Catalano & Landi (1966)
<i>P. × wendimbe</i>	-	34	-	Jones (1957)

^aTaxonomic affiliations were based on Mayo (1986), Grayum (1996), Croat (1997) and Sakuragui *et al.* (2005). ^bAll samples were collected from the Araceae living collection at Royal Botanic Gardens, Kew (Richmond, United Kingdom), except for the accession of *P. mello-barretoanum*, which was collected from

the *Philodendron* living collection of the Department of Genetics, Universidade Federal de Pernambuco (Recife, Brazil). °Original country of provenance of the cultivated samples: (BR) Brazil; (CO) Colombia; (CR) Costa Rica; (EC) Ecuador; (GY) Guyana; (MS) Montserrat; (MX) Mexico; (TT) Trinidad and Tobago; * Unknown origin. ^dConfirmed chromosome numbers are in boldface; numbers in brackets were not yet confirmed and may be associated either to miscounts or misidentification of specimens. ^eAccording to Grayum (1996). ^fAccording to Croat (1997). ^gAccording to Marchant (1971), the occurrence of B chromosomes in karyotypes of *Philodendron* species seems to be very unlikely.

References

- Bogner J, Bunting GS. 1983. A new *Philodendron* species (Araceae) from Ecuador. *Willdenowia* 13: 183-185.
- Catalano M, Landi A. 1966. Dati citotassonomici su *Philodendron squamiferum* Poepp. et Endl., *Philodendron eximium* Schott e sul loro ibrido *Philodendron* $\times$ *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.* $\times$ *parthenopaeum* Landi. *Delpinoa* 5: 129-137.
- Chaudhuri JB, Sharma A. 1979. Chromosome studies in certain members of Araceae. *Genetica Iberica* 30: 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. Beijing, Science Press.
- 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: 1111-1122.

- Cotias-de-Oliveira ALP, Guedes MLS, Barreto EC. 1999. Chromosome numbers for *Anthurium* and *Philodendron* spp. (Araceae) occurring in Bahia, Brazil. *Genetics and Molecular Biology* 22: 237-242.
- Croat TB. 1997. A revision of *Philodendron* subgenus *Philodendron* (Araceae) for Mexico and Central America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84: 311-704.
- Grayum MH. 1996. Revision of *Philodendron* subgenus *Pteromischum* (Araceae) for Pacific and Caribbean tropical America. *Systematic Botany Monographs* 47: 1-233.
- Jones GE. 1957. Chromosome numbers and phylogenetic relationships in the Araceae. PhD Thesis, University of Virginia, Charlottesville.
- Malvesin-Fabre G. 1945. Contribution à la caryologie des aracées. PhD Thesis, University of Bordeaux, France.
- Marchant CJ. 1971. Chromosome variation in Araceae III. Philodendreae to Pythoneae. *Kew Bulletin* 25: 323-329.
- Matsuura H, Suto T. 1935. Contribution to the idiogram study in phanerogamous plants: 1. *Journal of the Faculty of Science, Hokkaido Imperial University. Series 5, Botany* 5: 33-75.
- Mayo SJ. 1986. Systematics of *Philodendron* Schott (Araceae) with special reference to inflorescence characters. PhD Thesis, University of Reading, UK.
- Mohamed TR, Khalifa SF, El-Dine RMS. 2006. Leaf protein electrophoretic profiles and chromosome numbers of some Araceae. *International Journal of Agriculture and Biology* 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.
- Petersen G. 1989. Cytology and systematics of Araceae. *Nordic Journal of Botany* 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 *Macrobium*. *Kew Bulletin* 60: 465-513.

- Sharma AK. 1956. A new concept of a means of speciation in plants. *Caryologia* 9: 93-130.
- Sharma AK. 1970. Annual report 1967-1968. *Research Bulletin (University of Calcutta)* 2: 1-50.
- Sharma AK, Bhattacharya UC. 1966. A cytotaxonomic study on some taxa of Araceae. *Genetica Iberica* 18: 237-262.
- Sharma AK, Mukhopadhyay S. 1965. Cytological study on two genera of Araceae and correct assessment of their taxonomic status. *Genetica Agraria* 18: 603-616.
- Simmonds NW. 1954. Chromosome behaviour in some tropical plants. *Heredity* 8: 139-146.
- Subramanian D, Munian M. 1988. Cytotaxonomical studies in South Indian Araceae. *Caryologia* 53: 59-66.
- Tsuchiya T, Takada M. 1962. Chromosome studies in five species of Araceae. *Chromosome Information Service* 3: 36-38.

5 ARTIGO II

Karyotype heterogeneity in *Philodendron* s.l. (Araceae) revealed by chromosome mapping of rDNA loci

Emanuelle V. Vasconcelos,¹ Santelmo Vasconcelos,^{1,2} Tiago Ribeiro,³ Ana M. Benko-Iseppon,¹ & Ana C. Brasileiro-Vidal,^{1*}

¹Departamento de Genética, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50740-600, Recife, PE, Brasil

²Instituto Tecnológico Vale, Desenvolvimento Sustentável, CEP 66055-090, Belém, PA, Brasil

³Departamento de Botânica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50740-600, Recife, Pernambuco, Brazil

* Autor para correspondência: brasileirovidal.ac@gmail.com

Abstract

Philodendron s.l. (Araceae) has been recently focused by taxonomic and phylogenetic studies, but karyotypic data are limited to chromosome numbers and a few published genome sizes. In this work, karyotypes of 34 species of *Philodendron* s.l. (29 *Philodendron* five *Thaumatophyllum*), ranging from $2n = 28$ to 36 chromosomes, were analyzed by fluorescence *in situ* hybridization (FISH) with rDNA and telomeric probes, aiming to understand the karyotype diversity of the group in a phylogenetic context. *Philodendron* presented a high number variation of 35S rDNA, ranging from two to 16 sites, which were mostly in the terminal region of the short arms, with nine species presenting heteromorphisms. In the case of *Thaumatophyllum* species, we observed a considerably lower variation, which ranged from two to four terminal sites. The distribution of the 5S rDNA clusters was more conserved, with two sites for most species, being preferably located interstitially in the long chromosome arms. For the telomeric probe, while exclusively terminal sites were observed for *P. giganteum* ($2n = 30$) chromosomes, *P. callosum* ($2n = 28$) presented an interstitial distribution associated with satellite DNA. rDNA sites of the analyzed *Philodendron* s.l. species were randomly distributed considering the phylogenetic context, probably due to rapid evolution and great diversity of these genomes. The observed heteromorphisms suggest the accumulation of repetitive DNA in the genomes of some species, while the occurrence of chromosomal rearrangements is possibly associated with natural hybridization events.

Introduction

Araceae (ca. 3600 species) is a widely distributed monocot family with high ecological diversity, occurring mainly in tropical regions [1, 2]. *Philodendron* s.l. Schott is the second largest group within the family (ca. 500 species), presents a wide Neotropical distribution, with the Amazon region as its probable center of origin [2-4]. The genus was traditionally divided into three monophyletic subgenera: *P.* subg. *Meconostigma* (now recognized as the genus *Thaumatophyllum*, with 21 species), mostly with the diploid number $2n = 36$; *P.* subg. *Pteromischum* (82 species), with chromosome counts only for two species (both with $2n = 32$); and *P.* subg. *Philodendron* (ca. 400 species), as the most morphologically diverse group, with chromosome number ranging from $2n = 26$ to 40 chromosomes, although $2n = 32$ and 34 have been reported as the most common numbers [5-10]. It is suggested that $x = 16$ is the basic number for *Philodendron* s.l. (including *Thaumatophyllum*) and that the karyotype evolution of the group has been driven by both ascending and descending dysploidy events, since no polyploidy was reported so far [8, 9].

The ribosomal RNA (rRNA) genes have been physically mapped in the chromosome of species of several plant groups [15-17], being useful for understanding the general patterns of karyotype evolution among related species and for cytotaxonomic approaches [18-20]. In Araceae, studies involving the physical location of 5S and 35S rDNA by FISH (Fluorescent *In Situ* Hybridization) are available for just a few species, including 10 species of *Typhonium* Schott [21] and 17 other species, such as *P. hederaceum* (Jacq.) Schott (as *P. scandens* Koch & Sello), two species of *Anthurium* Schott, three species of *Spathiphyllum* Schott and two species of *Ulearum* Engl. [22, 23]. Overall, all analyzed species presented only one pair of 5S rDNA sites, located in the subterminal and interstitial regions, whereas for 35S rDNA there was a predominance of four terminal sites, with few exceptions.

Thus, based on the chromosome number and genome size variation previously mentioned for *Philodendron* and *Thaumatophyllum* [8, 9, <http://www.kew.org/cvalues/>], we have addressed the following questions: (I) Is the distribution of rDNA sites in *Philodendron* and the sister genus *Thaumatophyllum* conserved? (II) Does the distribution pattern of rDNA sites agree with the available

phylogenetic data? (III) Is there a correlation between the number of rDNA sites and the size of the chromosomal complement, or between the number of rDNA sites and the chromosome number? To answer these questions, molecular cytogenetic data were generated for the first time for 29 *Philodendron* and five *Thaumatococcus* species by FISH with rDNA and telomeric probes. In addition, these data were plotted in a recently published phylogenetic tree of the group [11], aiming to a better understanding on the patterns of karyotype evolution of both genera.

Materials and Methods

Plant material and chromosomal preparations

Thirty-four species were analyzed by FISH. Sixteen species were sampled from the living collection kept at the Royal Botanic Gardens, Kew (Richmond, United Kingdom), and 18 were collected in different regions of Brazil and cultivated in the living collection of the Laboratory of Plant Genetics and Biotechnology, Department of Genetics, UFPE (Recife, Brazil). The provenance of the plants and accession numbers are shown in Table 1.

Root tips were pretreated in 2 mM 8-hydroxyquinoline at 8 °C for 24 h, fixed in Carnoy solution (ethanol:acetic acid, 3:1, v/v) at room temperature for 24 h, and stored at -20 °C. Subsequently, the fixed root tips were washed in distilled water and digested in an enzyme solution containing 2% cellulase (w/v) (Onozuka R-10, Serva) and 20% pectinase (v/v) (Sigma-Aldrich) overnight at 37 °C. Slides were prepared by squashing the meristematic tissue in 45% acetic acid. In addition, slides were stained in a solution of 2 µg mL⁻¹ DAPI (4', 6-diamidino-2-phenylindole) and glycerol (1:1, v/v) and then analyzed. Afterwards, the best slides were destained and fixed in Carnoy solution for 30 min and transferred to absolute ethanol for 1 h, both at room temperature. After air drying, the slides were stored at -20 °C.

Probes, fluorescent *in situ* hybridization and data analysis

The rDNA probes used for FISH were R2, a 6.5 kb fragment containing the 18S-5.8S-25S rDNA unit from *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh., and D2, a 400 bp

fragment containing two 5S rDNA units from *Lotus japonicus* (Regel) K.Larsen [24]. Labelling was performed by nick translation with digoxigenin-11-dUTP (Roche Diagnostics) and biotin-11-dUTP (Roche Diagnostics) for 35S and 5S rDNA, respectively. The telomeric probe was amplified by PCR according to Ijdo et al. [25], with the primers (TTTAGGG)₅ and (CCCTAAA)₅ and labeled with Cy3-dUTP (Jena Bioscience) as described before.

The FISH procedures followed Vasconcelos et al. [26], except for the chromosome denaturing, which occurred separately from the probe in 70% formamide in 2×SSC at 80-85 °C for 7 min, and then dehydrated for 5 min in an alcoholic series (ethanol 70% and 100%) at -20 °C. The stringency wash was performed in 0.1×SSC at 42 °C. The hybridization mix consisted of 50% (v/v) formamide, 10% (w/v) dextran sulfate, 2×SSC and 2-5 ng/μL of probe. Digoxigenin and biotin-labeled probes were detected using conjugated anti-digoxigenin rhodamine (Roche), and Alexa Fluor conjugated streptavidin (Invitrogen), respectively, in 1 % (w/v) BSA. Preparations were counterstained and mounted with 2 μg/mL DAPI in Vector's Vectashield (1:1; v/v).

Images were captured using a Leica DMLB epifluorescence microscope coupled with a Leica DFC 340FX camera, using the Leica CW 4000 software. Images were optimized for better brightness and contrast with Adobe Photoshop CS3 (Adobe Systems Incorporated). The 35S rDNA was pseudocolored in green, and the 5S rDNA was pseudocolored in red.

Chromosome sizes were measured using the MicroMeasure v3.3 software [27], and the Adobe Flash CS3 program (Adobe Systems Incorporated) was used for the elaboration of the idiograms. Also, for a better understanding of the karyotype evolution of the genus, chromosomes carrying rDNA sites of each species were plotted in the phylogenetic tree previously reported for the group [11]. In addition, to check for any correlation between the number of 35S rDNA sites and the diploid number ($2n$) and between number of sites and chromosome complement size, we used Pearson's test in the software BioEstat 5.0 [28].

Genomic DNA extraction, sequencing and satellite DNA analysis

Genomic DNA of *P. callosum* K.Krause was extracted from fresh leaves using the CTAB protocol described by Weising et al. [29]. The precipitation of contaminating

polysaccharides was performed according to Michaels et al. [30]. Genomic DNA was sequenced in Illumina MiSeq (2 × 250 pb). Clusterization and characterization of the repetitive genome fraction were performed on the *Galaxy/RepeatExplorer* platform using the Elixir-cerit server. The TAREAN tool was used to identify satellite DNA sequences (<https://repeatexplorer-elixir.cerit-sc.cz>) [31-33]. Cluster sharing similarity to the telomeric motif was manually checked and the contigs were used to reconstruct the monomer.

Results

Chromosome number ranged from $2n = 28$ to 36 considering the total of 34 analyzed species (Table 1): $2n = 28$ (*P. callosum*); $2n = 30$ (*P. giganteum* and *P. melinonii*), $2n = 32$ (*T. spruceanum* and 16 *Philodendron* species), $2n = 34$ (*T. mello-barretoanum* and 11 *Philodendron* species) and $2n = 36$ (*T. corcovadense*, *T. lundii* and *T. saxicola*).

In *Philodendron*, total chromosome complement varied from 88.46 μm (*P. callosum*) to 140.40 μm (*P. hederaceum*) with chromosome sizes ranging from 1.40 to 6.25 μm , in *P. quinquelobum* and *P. hederaceum*, respectively. For the five *Thaumatococcus* analyzed species, a large variation in chromosome complement size was also observed, ranging from 75.92 μm (*T. spruceanum*) to 114.98 μm (*T. saxicola*), with chromosome sizes ranging from 1.59 μm for *T. corcovadense* to 5.24 μm in *T. saxicola* (Table 1).

FISH using 35S rDNA probe showed a wide variation in both number and location of sites along the chromosomes (see Table 1, Fig 1-4). For *Philodendron* species, *P. billietiae* ($2n = 32$, Fig 1a) showed the highest number of sites (16 sites), followed by *P. quinquenervium* ($2n = 32$, Fig 1b) with 15 sites; *P. schmidtiae* ($2n = 32$, Fig 3) with 14 sites; *P. maximum* ($2n = 34$, Fig 1c), *P. megalophyllum* ($2n = 34$, Fig 3) and *P. uleanum* ($2n = 34$, Fig 1d) with 12 sites; and *P. burle-marxii* ($2n = 34$, Fig 4), *P. giganteum* ($2n = 30$, Fig 1e) and *P. lacerum* ($2n = 32$, Fig 3) with 10 sites. In the other 19 species (with chromosome numbers ranging from $2n = 30$ to 34), the number of sites varied from two to eight (Table 1, Fig 3). The lowest number of 35S rDNA sites was observed for seven species: *P. annulatum* (Fig 3), *P. distantilobum* (Fig 1f), *P. hederaceum* (Fig 3), *P. inconcinnum* (Fig 4), *P. krugii* (Fig 1g), *P. nadruzianum* (Fig 1h), and *P. fragrantissimum* (Fig 1i), which

presented only two sites. For the five *Thaumatophyllum* species, two presented four 35S rDNA sites (*T. corcovadense* and *T. spruceanum*, Fig 3), and the other three with two sites (*T. lundii*, Fig 2a; *T. mello-barretoanum*, Fig 2b, and *T. saxicola*, Fig 3).

In *Philodendron*, the 35S rDNA sites were predominantly located in the terminal region of the short arm (21 out of the 29 species, Fig 1-4), although subterminal, interstitial or proximal sites were also observed. In *Thaumatophyllum*, the 35S rDNA sites were located only in the terminal region, predominantly in the long arm (four out of the five species, Fig 2, 3). In addition, we did not observe a clear pattern of distribution of numbers of rDNA sites in the phylogenetic tree of *Philodendron* s.l. (Fig 3).

Heteromorphisms of number and distribution of 35S rDNA sites were identified in nine of the analyzed species. *Philodendron angustilobum*, for example, presented an odd number of 35S rDNA (three sites), hampering the identification of the homologous chromosomes (Fig 2c). Meanwhile, other species, as *P. eximium* and *P. smithii*, showed a chromosome pair bearing a 35S rDNA site in the terminal region of the short arm of one chromosome and in the proximal region of the short arm of the other one (Fig 3, 4); *P. lacerum* and *P. megalophyllum*, with sites located on opposite chromosome arms in supposed homologs (Fig 3); and *P. quinquenervium*, the only species with two 35S rDNA sites in the same chromosome (Fig 3).

In turn, for the 5S rDNA, most species showed two sites, except for *P. bipennifolium* (Fig 2d), which presented three sites. For *Philodendron*, we observed a high variation in the position of the 5S rDNA sites, although being most frequently observed in the interstitial position of the long arm (in 14 out of 29 analyzed species, Fig 1-4). For *Thaumatophyllum*, the 5S rDNA sites were located in the interstitial region predominantly in the long arm (four out of 5 species, Fig 2, 3).

Both species *P. bipennifolium* and *P. glaziovii* stood out due to 5S rDNA heteromorphisms. The first had three 5S rDNA sites, being two located in the subterminal region of the long arm and one in the proximal region of the short arm (Fig 2d). In turn, *P. glaziovii*, had two 5S rDNA clusters, as most of the analyzed species, but the chromosomes bearing those sites were heteromorphic in size and morphology (Fig 2e, 3).

The correlation analysis between the number of 35S rDNA sites and chromosome number, and between the number of rDNA sites and chromosomal complement size revealed no significant correlation for both cases ($r = 0.1357$; $p = 0.4514$, for number of sites and chromosome number; and $r = 0.1651$; $p = 0.3584$, for number of sites and chromosome complement) (Table 1).

The telomeric DNA used to identify some remaining evidence of chromosome number reduction by descending dysploidy, revealed no interstitial telomeric repeat (ITR) in *P. giganteum* ($2n = 30$), which exhibited only terminal marks in both extremities of all chromosomes (Fig 2f). In turn, *P. callosum* ($2n = 28$) presented no visible terminal hybridization signals but exhibited large pericentromeric marks in almost all chromosomes (Fig 2g). Analysis of the repetitive fraction of this species (Vasconcelos et al., in prep.) revealed the presence of one satellite DNA, among other families, which were related to the telomeric repeat. The manual inspection of the contigs that composed the cluster CL228 allowed the identification of *Arabidopsis*-like telomeric motifs within the sequence, henceforth called *PcSat1* satellite DNA. In all three monomers, the telomeric repeat was represented in variable amounts (unit 1 - U1, eight times; U2, 20 times; U3, nine times), making the monomer size slightly variable (Fig 5).

Discussion

The present work is the first extensive cytogenetic study analyzing the localization of rDNA sites in chromosomes of *Philodendron* and *Thaumatococcus* species, except for *P. hederaceum* [22]. The results revealed an enormous karyotypic variability in relation to the distribution of the 35S rDNA in *Philodendron* s.l., opposed to high stability in number and position of the 5S rDNA sites. These results are in consonance with the distribution pattern of rDNA sites in angiosperms and also confirm the lower dispersion capacity of 5 rDNA proposed by [15, 16]. The presence of only one chromosome pair bearing 5S rDNA as found here seems to be conserved for the Araceae family (51 out of 54 analyzed species), even though only 12 out of 144 genera were analyzed up to date [21, 23, present work].

Considering *P. subg. Philodendron* (with ca. 7,25% of its species analyzed), the amplification and distribution of 35S rDNA sites seem to occur frequently and independently along the different subgroups. The number of 35S rDNA sites (ranging from two to 16) varied significantly within and among the clades of the subg. *Philodendron*, with no clear phylogenetic pattern, considering the relationships presented by Vasconcelos et al. [11]. Also, there was not any correspondence of our data to the traditional subdivision of the subgenus in morphological sections.

Thaumatophyllum, although with fewer species analyzed (with a better representability, with ca. 23.8% of the species of the genus), presented a smaller variation in the number of rDNA sites (two to four sites), indicating a higher homogeneity among karyotypes. A similar homogeneity was observed in *Typhonium* (four 35S rDNA sites in eight out of 10 analyzed species), the aroid genus better studied cytogenetically until the moment [21].

In the present study, two of the 29 *Philodendron* species analyzed showed an odd number of rDNA sites, whereas for other 11 species, we observed heteromorphisms in site position or in the morphology of the chromosome bearing the rDNA. Similar polymorphisms have been previously described in Araceae and in other angiosperm families [23, 34, 35], considering that the rDNA sites are considered fragile, where recombination hotspots may occur due to the highly repetitive nature of the locus, resulting in breaks followed by chromosomal rearrangements [36-38]. This can also explain the interstitial position found for the 35S rDNA in some of our analyzed species, which is relatively uncommon in plant chromosomes [15]. Several hypotheses have been proposed for such polymorphisms, including the model of amplification, dispersion and deletion, the action of transposable elements, as well as non-homologous recombination, mainly related to the preferential terminal positions of the 35S rDNA sites on the chromosomes [37, 39-43]. The expansions and contractions of the repetitive DNA have frequently been associated to changes in the chromosome morphology, also resulting in changes in the position of rDNA sites [44], without necessarily changing the gene order [45].

Additionally, the diversity in the distribution of rDNA sites and the polymorphisms observed in *Philodendron* could be related to natural hybridizations that may have occurred throughout the evolutionary history of the group, although

none of the analyzed species has a recognized hybrid origin. In *Citrus* L. (Rutaceae) and related genera, heteromorphism of chromosomal types is considered to be a reliable indicator of interspecific crosses, where variation in the number and location of CMA positive bands and rDNA sites is related to the fact that most species are apomictic hybrids [20, 34, 46-48]. Rapid changes in 35S rDNA loci in response to interspecific or intergeneric hybridization, when comparing to the progenitors, have also been reported in *Potamogeton* L. (Potamogetonaceae) [49], *Rosa* L. (Rosaceae) [50] and *Lolium* L. × *Festuca* L. [51, 52] hybrids.

Aiming to test the hypothesis of the existence of descending dysploidy events in *Philodendron* species generating lower chromosome numbers ($2n = 28$; 30) associated with centric or *end-to-end* fusion [23, 53, 54], we applied telomeric DNA probes to verify the possible presence of ITRs. Such internal telomeres were observed in dysploid series in *Nothoscordum* Kunth and *Ipheion* Raf., both belonging to the family Amaryllidaceae [55], as well as in *Typhonium* [21, 23]. However, the expected ITRs were not visible in *P. giganteum* ($2n = 30$), thus suggesting that the remnants of ITRs were lost along the karyotype evolution of this species by losing the chromosome extremities in translocation events, or by elimination or dispersion after insertion, as a result of high recombination rates in these regions, as suggested for *Phaseolus leptostachyus* Benth. [56]. Another plausible hypothesis would be that the ITRs are present in short arrays not detectable by FISH, as reported for tomato and for the bat *Carollia perspicillata* L. [57, 58].

In addition, FISH with the telomeric probe in *P. callosum* revealed several pericentromeric blocks related to a satellite DNA sequence. Telomeric repeats within satellite DNA arrays are not uncommon, being also reported in *Rumex induratus* Boiss & Reuter (Polygonaceae), *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae), and in *Solanum lycopersicum* L., *S. tuberosum* L. and *S. melongena* L. (Solanaceae) [57, 59-61]. AT-rich degenerated telomeric repeats were identified in the repeat St49 of *Solanum* L. species, indicated as an ancient sat-DNA derived from a telomeric-like sequence identified in the telomeres and centromeres of tomato and potato chromosomes, respectively [57, 61].

On the other hand, the absence of signals at chromosome termini of *P. callosum* may be due to the presence of small standard telomere arrays

(TTTAGGG)_n not detected by FISH. However, the occurrence of a different telomere sequence in *P. callosum* chromosomes cannot be dismissed, as already described for several plant species [62-64]. This last scenario would imply in an interspecific variation within *Philodendron*, which was already reported for species of *Genlisea* A.St.-Hil. (Lentibulariaceae), a genus of carnivorous plants with a high variation level in the genome structures among species [62, 65].

Either the accumulation of distinct repetitive DNA sequences throughout evolution or a massive amplification burst of a specific element has been suggested as the main contributors to the increase in genome sizes in plants without reports of polyploidization [66-68], as in the case of *Philodendron*. The sizes of the chromosome complements in *Philodendron* and *Thaumatococcus* showed a considerable variation in ca. 52 μm (88.46 to 140.40 μm) and 39 μm (75.92 to 114.98 μm), respectively. However, there was no positive correlation between chromosome complement size and abundance of rDNA sites, similarly to the results reported by Rosato et al. [69] in the analysis involving genome size (pg) and the number of 35S rDNA genome copies in 106 basal terrestrial plants. On the other hand, when the same analysis was performed on 162 plant and animal species, a strong positive correlation was observed [70].

Conclusions

Our data revealed a substantial variation in the number and location of the 35S rDNA sites in *Philodendron* besides more homogeneous karyotypes in species of the sister genus *Thaumatococcus*, indicating a rapid karyotype evolution within *P. subg. Philodendron*. For this group, no clear trend regarding the 35S rDNA sites was evident, neither considering the traditional infrageneric taxonomy nor considering the most recent molecular phylogenetic data. Otherwise, the lack of correlation between the number of 35S rDNA sites and the chromosomal complement sizes indicates that the sizes of the genomes are not directly related to the variation in the number of 35S rDNA sites found in the group. In addition, the identification of heteromorphisms in the number and position of 35S rDNA sites suggests the occurrence of expansions and/or contractions of repetitive DNA in the genomes of some species, or chromosomal rearrangements, possibly associated with natural hybridization events.

Acknowledgments

The authors are grateful to the Royal Botanic Gardens, Kew, especially to Ilia J. Leitch, Ralf Kynast, Simon J. Mayo and Marcelo Sellaro for providing access to the sampled materials. We thank CNPq (National Council for Scientific and Technological Development), CAPES (Coordination of Higher Level Personnel), and FACEPE (Foundation for Support to Science and Technology of the State of Pernambuco) for financial support and fellowships.

References

1. Mayo SJ, Bogner J, Boyce PC. The genera of Araceae. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew, 1997; 370 p. <https://doi.org/10.2307/4110410>
2. Boyce PC, Croat TB. The Überlist of Araceae, totals for published and estimated number of species in aroid genera. 2018. <http://www.aroid.org/genera/180211uberlist.pdf> 11 Feb 2018.
3. Calazans LSB, Sakuragui CM, Mayo SJ. From open areas to forests? The evolutionary history of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae) using morphological data. *Flora*. 2014;209: 117-121. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2013.12.004>
4. Loss-Oliveira L, Sakuragui C, Soares ML, Schrago CG. Evolution of *Philodendron* (Araceae) species in Neotropical biomes. *PeerJ*. 2016;4: e1744. <https://doi.org/10.7717/peerj.1744>
5. Mayo SJ. A revision of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). *Kew Bulletin*. 1991;46: 601-681.
6. Grayum MH. Revision of *Philodendron* subgenus *Pteromischum* (Araceae) for Pacific and Caribbean tropical America. *Syst Bot Monogr*. 1996;47: 1-233. <https://doi.org/10.2307/25027858>
7. Croat TB. A revision of *Philodendron* subgenus *Philodendron* (Araceae) for Mexico and Central America. *Ann Mo Bot Gard*. 1997;84: 311-704. <https://doi.org/10.2307/2992022>
8. Correia-da-Silva M, Vasconcelos S, Soares MLC, Mayo SJ, Benko-Iseppon AM. Chromosomal diversity in *Philodendron* (Araceae): taxonomic significance

- and a critical review. *Plant Syst Evol.* 2014;300: 1111-1122. <https://doi.org/10.1007/s00606-013-0949-9>
9. Vasconcelos EV, Brasileiro-Vidal AC, Benko-Iseppon AM, Vasconcelos S. Updating the list of chromosome numbers for *Philodendron* (Araceae). *Acta Bot Bras.* 2017;31: 309-312. <http://doi.org/10.1590/0102-33062016abb0431>
 10. Sakuragui CM, Calazans LSB, Loss-Oliveira L, Morais EB, Benko-Iseppon AM, Vasconcelos S, Schrago CEG, Mayo SJ. Recognition of the genus *Thaumatophyllum* Schott – formerly *Philodendron* subg. *Meconostigma* (Araceae) – based on molecular and morphological evidence. *PhytoKeys.* 2018;98: 51-71. <https://doi.org/10.3897/phytokeys.98.25044>
 11. Vasconcelos S, Soares ML, Sakuragui CM, Croat TB, Oliveira G, Benko-Iseppon AM. New insights on the phylogenetic relationships among the traditional *Philodendron* subgenera and the other groups of the *Homalomena* clade (Araceae). *Mol Phylogenet Evol.* 2018;127: 168-178. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.05.017>
 15. Roa F, Guerra M. Distribution of 45S rDNA sites in chromosomes of plants: Structural and evolutionary implications. *BMC Evol Biol.* 2012;12: 225. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-12-225>
 16. Roa F, Guerra M. Non-Random Distribution of 5S rDNA Sites and Its Association with 45S rDNA in Plant Chromosomes. *Cytogenet Genome Res.* 2015;146: 243-249. <https://doi.org/10.1159/000440930>
 17. Garcia S, Kovařík A, Leitch AR, Garnatje T. Cytogenetic features of rRNA genes across land plants: analysis of the Plant rDNA database. *Plant J.* 2017;89: 1020-1030. <https://doi.org/10.1111/tpj.13442>
 18. Guerra M. Cytotaxonomy: the end of childhood. *Plant Biosyst.* 2012;146: 703-710. <http://dx.doi.org/10.1080/11263504.2012.717973>
 19. Siljak-Yakovlev S, Godelle B, Zoldos V, Vallès J, Garnatje T, Hidalgo O. Evolutionary implications of heterochromatin and rDNA in chromosome number and genome size changes during dysploidy: a case study in *Reichardia* genus. *PLoS One* 2017;12: e0182318. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182318>
 20. Yi KU, Kim HB, Song KJ. Karyotype diversity of Korean landrace mandarins by CMA banding pattern and rDNA loci. *Sci Hortic.* 2018;228: 26-32. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.10.001>

21. Sousa A, Cusimano N, Renner SS. Combining FISH and model-based predictions to understand chromosome evolution in *Typhonium* (Araceae). *Ann Bot.* 2014;113: 669-680. <https://doi.org/10.1093/aob/mct302>.
22. Lakshmanan PS, Laere KV, Eeckhaut T, Huylenbroeck JV, Bockstaele EV, Khrustaleva L. Karyotype analysis and visualization of 45S rRNA genes using fluorescence in situ hybridization in aroids (Araceae). *Comp Cytogenet.* 2015;9: 145-160. <https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v9i2.4366>
23. Sousa A, Renner SS. Interstitial telomere-like repeats in the monocot family Araceae. *Bot J Linn Soc.* 2015;177: 15-26. <https://doi.org/10.1111/boj.12231>
24. Pedrosa A, Sandal N, Stougaard J, Schweizer D, Bachmair A. Chromosomal map of the model legume *Lotus japonicus*. *Genetics.* 2002;161: 1661-1672.
25. Ijdo JW, Wells RA, Baldini A, Reeders ST. Improved telomere detection using a telomere repeat probe (TTAGGG)_n generated by PCR. *Nucleic Acids Res.* 1991;13: 17.
26. Vasconcelos EV, Fonsêca AFA, Pedrosa-Harand A, Bortoleti KCA, Benko-Iseppon AM, Costa AF, Brasileiro-Vidal AC. Intra- and interchromosomal rearrangements between cowpea [*Vigna unguiculata* (L.) Walp.] and common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) revealed by BAC-FISH. *Chromosome Res.* 2015;23: 253-266. <https://doi.org/10.1007/s10577-014-9464-2>.
27. Reeves A. MicroMeasure: a new computer program for the collection and analysis of cytogenetic data. *Genome.* 2001;44: 439-443. <https://doi.org/10.1139/g01-037>
28. Ayres M, Ayres DL, Santos dos Santos A. BioEstat 5.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Belém: MCT; IDSM; CNPq, 2007; 364 p.
29. Weising K, Nybom H, Wolff K, Kahl G. DNA Fingerprinting in plants, principles, methods, and applications. 2nd. Ed. Boca Raton: CRC Press, 2005; 444p.
30. Michaels SD, John MC, Amasino RM. Removal of polysaccharides from plant DNA by ethanol precipitation. *Biotechniques.* 1994;17: 274-276.
31. Novák P, Neumann P, Macas J. Graph-based clustering and characterization of repetitive sequences in next-generation sequencing data. *Bioinformatics.* 2010;11: 378. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-378>.
32. Novák P, Neumann P, Pech J, Steinhaisl J, Macas J. RepeatExplorer: a Galaxy-based web server for genome-wide characterization of eukaryotic

- repetitive elements from next-generation sequence reads. *Bionformatics*. 2013;29: 792-793. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt054>
33. Novák P, Ávila LR, Koblížková A, Vrbová I, Neumann P, Macas J. TAREAN: a computational tool for identification and characterization of satellite DNA from unassembled short reads. *Nucleic Acids Res.* 2017;45: e111. <https://doi.org/10.1093/nar/gkx257>.
 34. Barros e Silva AE, Dos Santos Soares Filho W, Guerra M. Linked 5S and 45S rDNA sites are highly conserved through the subfamily Aurantioideae (Rutaceae). *Cytogenet Genome Res.* 2013;140: 62-69. <https://doi.org/10.1159/000350695>
 35. Monkheang P, Chaveerach A, Sudmoon R, Tanee T. Karyotypic features including organizations of the 5S, 45S rDNA loci and telomeres of *Scadoxus multiflorus* (Amaryllidaceae). *Comp Cytogenet.* 2016;10: 637-646. <https://doi.org/10.3897/CompCytogen.v10i4.9958>
 36. Huang M, Li H, Zhang L, Gao F, Wang P, Hu Y, Yan S, Zhao L, Zhang Q, Tan J, Liu X, He S, Li L. Plant 45S rDNA clusters are fragile sites and their instability is associated with epigenetic alterations. *PLoS One.* 2012;7: e35139. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0035139>
 37. Dvořáčková M, Fojtová M, Fajkus J. Chromatin dynamics of plant telomeres and ribosomal genes. *Plant J.* 2015;83: 18-37. <https://doi.org/10.1111/tpj.12822>
 38. Lan H, Chen C-L, Miao Y, Yu C-X, Guo W-W, Xu Q, Deng X-X. Fragile Sites of 'Valencia' Sweet Orange (*Citrus sinensis*) Chromosomes Are Related with Active 45s rDNA. *PLoS One.* 2016;11: e0151512. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0151512>
 39. Hall KJ, Parker JS. Stable chromosome fission associated with rDNA mobility. *Chromosome Res.* 1995;3: 417-422. <https://doi.org/10.1007/BF00713891>
 40. Eickbush TH, Eickbush DG. Finely orchestrated movements: Evolution of the ribosomal RNA genes. *Genetics.* 2007;175: 477-485. <https://doi.org/10.1534/genetics.107.071399>
 41. Cohen S, Houben A, Segal D. Extrachromosomal circular DNA derived from tandemly repeated genomic sequences in plants. *Plant J.* 2008;53: 1027-1034. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2007.03394.x>

42. Kalendar R, Tanskanen J, Chang W, Antonius K, Sela H, Peleg O, Schulman AH. Cassandra retrotransposons carry independently transcribed 5S RNA. *Proc Natl Acad Sci.* 2008;105: 5833-5838. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709698105>
43. Rosato M, Ivarez I, Feliner GN, Rosselló JA. High and uneven levels of 45S rDNA site number variation across wild populations of a diploid plant genus (*Anacyclus*, Asteraceae). *PLoS One.* 2017;12: e0187131. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187131>
44. Mendes S, Moraes AP, Mirkov TE, Pedrosa-Harand A. Chromosome homeologies and high variation in heterochromatin distribution between *Citrus* L. and *Poncirus* Raf. as evidenced by comparative cytogenetic mapping. *Chromosome Res.* 2011;19: 521-530. <https://doi.org/10.1007/s10577-011-9203-x>.
45. Navratilova A, Neumann P, Macas P. Karyotype analysis of four *Vicia* species using in situ hybridization with repetitive sequences. *Ann Bot.* 2003;91: 921-929. <https://doi.org/10.1093/aob/mcg099>
46. Carvalho R, Soares Filho WS, Brasileiro-Vidal AC, Guerra M. The relationship among lemons, limes and citron: a chromosomal comparison. *Cytogenet Genome Res.* 2005;109: 276-282. <https://doi.org/10.1159/000082410>
47. Brasileiro-Vidal AC, dos Santos-Serejo JA, Soares Filho WS, Guerra M. A simple chromosomal marker can reliably distinguishes *Poncirus* from *Citrus* species. *Genetica.* 2007;129: 273-279. <https://doi.org/10.1007/s10709-006-0007-4>
48. Barros e Silva AE, Marques A, Santos KGB, Guerra M. The evolution of CMA bands in *Citrus* and related genera. *Chromosome Res.* 2010;18: 503-514. <https://doi.org/10.1007/s10577-010-9130-2>
49. Wan T, Zhang X-L, Gegan J, Zhang Y, Guo P, Guo Y-H. A dynamic evolution of chromosome in subgenus *Potamogeton* revealed by physical mapping of rDNA loci detection. *Plant Syst Evol.* 2012;298: 1195-1210. <https://doi.org/10.1007/s00606-012-0621-9>
50. Ding XL, Xu TL, Wang J, Luo L, Yu C, Dong GM, Pan HT, Zhang QX. Distribution of 45S rDNA in Modern Rose Cultivars (*Rosa hybrida*), *Rosa rugosa*, and Their Interspecific Hybrids Revealed by Fluorescence in situ

- Hybridization. Cytogenet Genome Res. 2016;149: 226-235.
<https://doi.org/10.1159/000448063>
51. Akiyama Y, Kimura K, Yamada-Akiyama H, Kubota A, Takahara Y, Ueyama Y. Genomic characteristics of a diploid F4 *Festulolium* hybrid (*Lolium multiflorum* × *Festuca arundinacea*). Genome. 2012;55: 599-603.
<https://doi.org/10.1139/g2012-048>
 52. Książczyk T, Zwierzykowska E, Molik K, Taciak M, Krajewski P, Zwierzykowski Z. Genome-dependent chromosome dynamics in three successive generations of the allotetraploid *Festuca pratensis* × *Lolium perenne* hybrid. Protoplasma. 2015;252: 985-996. <https://doi.org/10.1007/s00709-014-0734-9>
 53. Lysak MA, Schubert I. Mechanisms of chromosome rearrangements. Plant Genome Diversity 2013;2: 137-147. https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1160-4_9
 54. Bolzán AD. Interstitial telomeric sequences in vertebrate chromosomes: Origin, function, instability and evolution. Mutat Res. 2017;773: 51-65.
<https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2017.04.002>.
 55. Souza G, Vanzela ALL, Crosa O, Guerra M. Interstitial telomeric sites and Robertsonian translocations in species of *Ipheion* and *Nothoscordum* (Amaryllidaceae). Genetica. 2016;144: 157-166.
<https://doi.org/10.1007/s10709-016-9886-1>
 56. Fonsêca A, Ferraz ME, Pedrosa-Harand A. Speeding up chromosome evolution in *Phaseolus*: multiple rearrangements associated with a one-step descending dysploidy. Chromosoma. 2016;125: 413-421.
<https://doi.org/10.1007/s00412-015-0548-3>
 57. He L, Liu J, Torres GA, Zhang H, Jiang J, Xie C. Interstitial telomeric repeats are enriched in the centromeres of chromosomes in *Solanum* species. Chromosome Res. 2013;21: 5-13. <http://dx.doi.org/10.1007/s10577-012-9332-x>
 58. Calixto M da S, de Andrade IS, Cabral-de-Mello DC, Santos N, Martins C, Loreto V, de Souza MJ. Patterns of rDNA and telomeric sequences diversification: contribution to repetitive DNA organization in Phyllostomidae bats. Genetica. 2014;142: 49-58. <https://doi.org/10.1007/s10709-013-9753-2>
 59. Navajas-Pérez R, Schwarzacher T, Rejón MR, Garrido-Ramos MA. Characterization of RUSI, a telomere-associated satellite DNA, in the genus

- Rumex* (Polygonaceae). Cytogenet Genome Res. 2009;124: 81-89. <https://doi.org/10.1159/000200091>
60. Kikuchi S, Tsujimoto H, Sassa H, Koba T. JcSat1, a novel subtelomeric repeat of *Jatropha curcas* L. and its use in karyotyping. Chromosome Sci. 2010;13: 11-16. <https://doi.org/10.11352/scr.13.11>
 61. Gong ZY, Wu YF, Koblížková A, Torres GA, Wang K, Iovene M, Neumann P, Zhang WL, Novák P, Buell CR, Macas J, Jiang JM. Repeatless and repeat-based centromeres in potato: implications for centromere evolution. Plant Cell. 2012;24: 3559-3574. <https://doi.org/10.1105/tpc.112.100511>
 62. Tran TD, Cao HX, Jovtchev G, Neumann P, Novák P, Fojtová M, Vu GTH, Macas J, Fajkus J, Schubert I, Fuchs J. Centromere and telomere sequence alterations reflect the rapid genome evolution within the carnivorous plant genus *Genlisea*. Plant J 2015;84: 1087-1099. <https://doi.org/10.1111/tpj.13058>
 63. Fajkus P, Peska V, Sitová Z, Fulnecková J, Dvorácková M, Gogela R, Sykorová E, Hapala J, Fajkus J. *Allium* telomeres unmasked: the unusual telomeric sequence (CTCGGTTATGGG)_n is synthesized by telomerase. Plant J 2016;85: 337-347. <https://doi.org/10.1111/tpj.13115>
 64. Peška V, Sitová Z, Fajkus P, Fajkus J. BAL31-NGS approach for identification of telomeres de novo in large genomes. Methods 2017;114: 16-27. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2016.08.017>
 65. Veleba A, Bures P, Adamec L, Smarda P, Lipnerova I, Horova L. Genome size and genomic GC content evolution in the miniature genome-sized family Lentibulariaceae. New Phytol 2014;203: 22-28. <https://doi.org/10.1111/nph.12790>
 66. Grover C, Wendel JF. Recent insights into mechanisms of genome size change in plants. J Bot. 2010;2010: 382732. <https://doi.org/10.1155/2010/382732>
 67. Bennetzen JL, Wang H. The contributions of transposable elements to the structure, function and evolution of plant genomes. Ann Rev Plant Biol. 2014;65: 505-530. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050213-035811>
 68. Shcherban AB. Repetitive DNA Sequences in Plant Genomes. Russ J Genet Appl Res. 2015;5: 159-167. <https://doi.org/10.1134/S2079059715030168>

69. Rosato M, Kovařík A, Garilleti R, Rosselló JA. Conserved Organisation of 45S rDNA Sites and rDNA Gene Copy Number among Major Clades of Early Land Plants. *PLoS One*. 2016;11: e0162544. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0162544>
70. Prokopowich CD, Gregory TR, Crease TJ. The correlation between rDNA copy number and genome size in eukaryotes. *Genome*. 2002;46: 48-50. <https://doi.org/10.1139/g02-103>
71. Crooks GE, Hon G, Chandonia JM, Brenner SE. WebLogo: A sequence logo generator. *Genome Res*. 2004;14: 1188-1190. <https://doi.org/10.1101/gr.849004>

Table 1 Species of *Philodendron* and *Thaumatococcus* with their respective section and accession, chromosome complement size, chromosome range size, diploid number and number of rDNA sites.

Genus	Section	Species	Provenance and accession number	Chromosome complement size (µm)	Chromosome range size (µm)	2n	Number of rDNA sites	
							35S	5S
<i>Thaumatococcus</i>		<i>T. corcovadense</i> (Kunth) Sakur., Calazans & Mayo	Taquaritinga do Norte, Pernambuco, Brazil; Cultivated at LGBV; SV314	85.26	1.59 - 3.20	36	4	2
		<i>T. lundii</i> (Warm.) Sakur., Calazans & Mayo	Morro do Chapéu, Bahia, Brazil; cultivated at LGBV; SV089	92.03	1.79 - 3.30	36	2	2
		<i>T. mello-barretoanum</i> (Burle-Marx ex G.M. Barroso) Sakur., Calazans & Mayo	Recife, Pernambuco, Brazil; Cultivated at LGBV; SV534	111.80	1.78 - 4.66	34	2	2
		<i>T. saxicola</i> (Krause) Sakur., Calazans & Mayo	Mucugê, Bahia, Brazil; Cultivated at LGBV; SV539	114.98	1.99 - 5.24	36	2	2
		<i>T. spruceanum</i> Schott	Reserva Florestal Adolpho Ducke, Amazonas, Brazil; Cultivated at LGBV; SV063	75.92	1.78 - 3.24	32	4	2
<i>Philodendron</i> subg. <i>Philodendron</i>	<i>Baursia</i>	<i>P. callosum</i> K.Krause	Presidente Figueiredo, Amazonas, Brazil; Cultivated at LGBV; SV022	82.46	1.5 - 4.26	28	-	-
		<i>P. glaziovii</i> Hook.f.	Pedra Azul, Espírito Santo, Brazil; Cultivated at RBG Kew/ 1983-2011	87.15	1.62 - 4.16	34	6	2
		<i>P. renauxii</i> Reitz	Itapema, Santa Catarina, Brazil; Cultivated at RBG Kew/ 1983-1988	126.56	1.99 - 5.12	34	8	2
	<i>Macrobolium</i>	<i>P. annulatum</i> Croat	Cerro Jefe, Panamá; Cultivated at RBG Kew/ 1996-4421	98.15	1.69 - 4.83	32	2	2
		<i>P. barrosoanum</i> G.S.Bunting	Reserva Florestal Adolpho Ducke, Amazonas, Brazil; Cultivated at LGBV; MC107	104.50	1.89 - 5.12	32	8	2
		<i>P. burle-marxii</i> G.M.Barroso	Amazonas region, Colombia; Cultivated at RBG Kew/ 1975-98	111.70	2.05 - 5.05	34	10	2

<i>P. eximium</i> Schott	Taquaritinga do Norte, Pernambuco, Brazil; Cultivated at LGBV; SV293	88.17	1.81 - 3.79	32	6	2
<i>P. inconcinnum</i> Schott	Cultivated at RBG Kew/ 1981-3728	84.45	1.45 - 4.45	32	2	2
<i>P. krugii</i> Engl.	Trinidad and Tobago; Cultivated at RBG Kew/ 1980-1645	94.10	1.54 - 4.37	34	2	2
<i>P. quinquenervium</i> Schott	Uatumã, Amazonas, Brazil; Cultivated at LGBV; SV076	116.16	2.4 - 4.98	32	15	2
<i>P. smithii</i> Engl.	Tabasco, Mexico; Cultivated at RBG Kew/ 1980-1583	84.94	1.74 - 3.37	32	8	2
<i>P. uleanum</i> Engl.	Napo, Ecuador; Cultivated at RGB Kew/ 1982-1568	115.13	2.65 - 4.58	34	12	2
<i>P. billietiae</i> Croat	Cultivated at RBG Kew/ 2005-2363	101.18	1.89 - 4.44	32	16	2
<i>P. fragrantissimum</i> (Hook.) G.Don	Igarassu, Pernambuco, Brazil; Cultivated at LGBV; SV295	93.99	1.90 - 4.29	32	2	2
<i>P. giganteum</i> Schott	Oriole trail, Montserrat; Cultivated at RBG Kew/ 2011-1735	104.80	2.18 - 5.97	30	10	2
<i>P. hederaceum</i> (Jacq.) Schott	Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro, Brazil; Cultivated at LGBV; SV248	140.40	1.95 - 6.25	32	2	2
<i>P. maximum</i> K.Krause	Cultivated at RBG Kew/ 1973-381	124.67	2.20 - 5.12	34	12	2
<i>P. megalophyllum</i> Schott	Uatumã, Amazonas, Brazil; Cultivated at LGBV; SV320	85.17	1.52 - 3.53	34	12	2
<i>P. melinonii</i> Brongn.ex Regel	Reserva Florestal Adolpho Ducke, Amazonas, Brazil; Cultivated at LGBV; MC085	99.59	2.0 - 5.96	30	4	2
<i>P. schmidtiae</i> Croat & C.E.Ceron	Napo, Ecuador; Cultivated at RBG Kew/ 1982-1573	89.02	1.73 - 4.31	32	14	2
<i>P. tenue</i> K.Koch & Augustin	Costa Rica; Cultivated at RGB Kew/ 1984- 612	91.41	1.97 - 3.90	34	6	2

<i>Polytomium</i>	<i>P. distantilobum</i> K.Krause	Uatumã, Amazonas, Brazil; Cultivated at LGBV; SV318	128.10	2.65 - 6.17	32	2	2
	<i>P. lacerum</i> (Jacq.) Schott	Guiana; Cultivated at RBG Kew/ 1979-3173	117.45	2.33 - 4.67	32	10	2
<i>Schizophyllum</i>	<i>P. bipennifolium</i> Schott	INPA, Acre, Brazil; Cultivated at LGBV; SV307	100.20	2.26 - 4.02	32	8	3
	<i>P. nadruzianum</i> Sakur.	Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro, Brazil; Cultivated at LGBV; LSBC175	90.74	1.72 - 3.88	32	2	2
	<i>P. pedatum</i> (Hook.) Kunth	Floresta da Tijuca, Rio de Janeiro, Brazil; Cultivated at LGBV; MC081	85.74	1.48 - 3.50	32	4	2
	<i>P. quinquelobum</i> K.Krause	Urucu, Amazonas, Brazil; Cultivated at LGBV; MC080	77.60	1.40 - 3.19	32	4	2
<i>Tritomophyllum</i>	<i>P. angustilobum</i> Croat & Grayum	Heredia, Costa Rica; Cultivated at RBG Kew/ 1996-4420	88.27	1.55 - 4.23	34	3	2
	<i>P. tripartitum</i> (Jacq.) Schott	Chiapas, México; Cultivated at RBG Kew/ 1980-1524	100.20	1.86 - 4.38	34	6	2

Abbreviations: LGBV: Laboratory of Genetics and Plant Biotechnology, Federal University of Pernambuco (Recife, Brazil); RBG Kew: Royal Botanic Gardens, Kew (Richmond, United Kingdom).

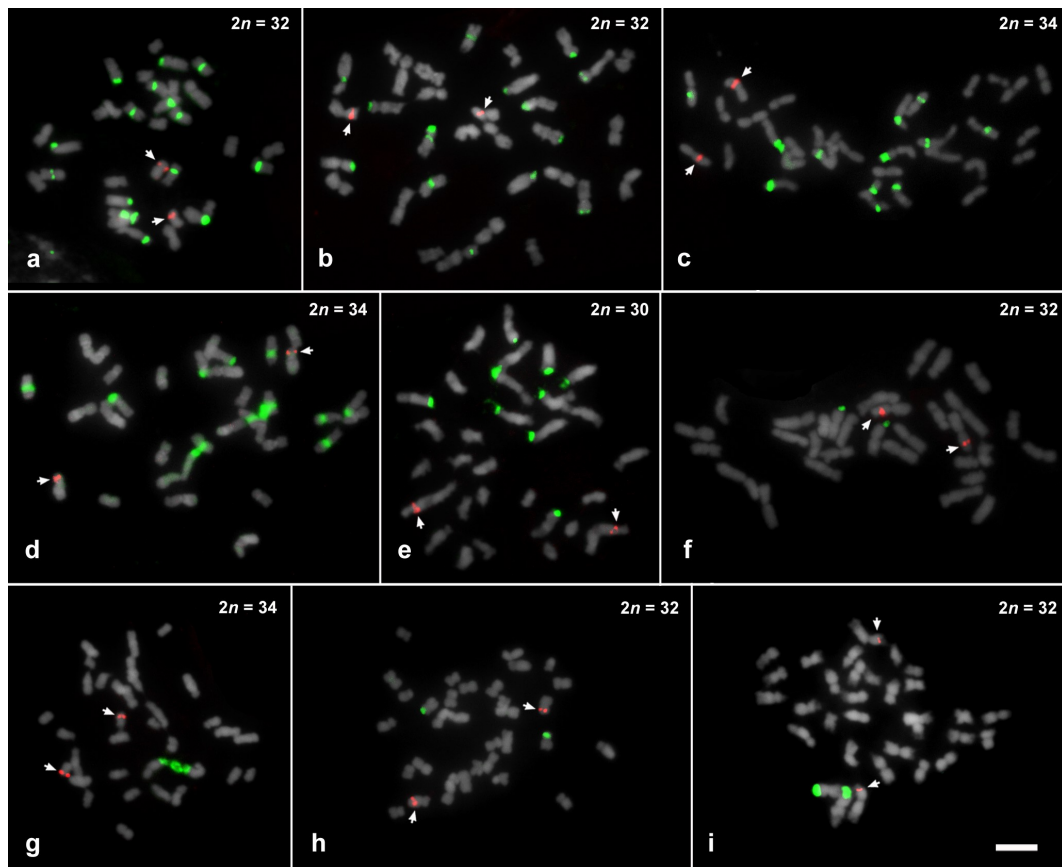


Figure 1. Fluorescent *in situ* hybridization of 35S (green) and 5S rDNA (red) on mitotic chromosomes of *Philodendron* species, counterstained with DAPI and pseudocolored in gray. a *Philodendron billietiae*; b *P. quinquenervium*; c *P. maximum*; d *P. uleanum*; e *P. giganteum*; f *P. distantilobum*; g *P. krugii*; h *P. nadruzianum*; i *P. fragrantissimum*. Bar in i represents 5 μ m.

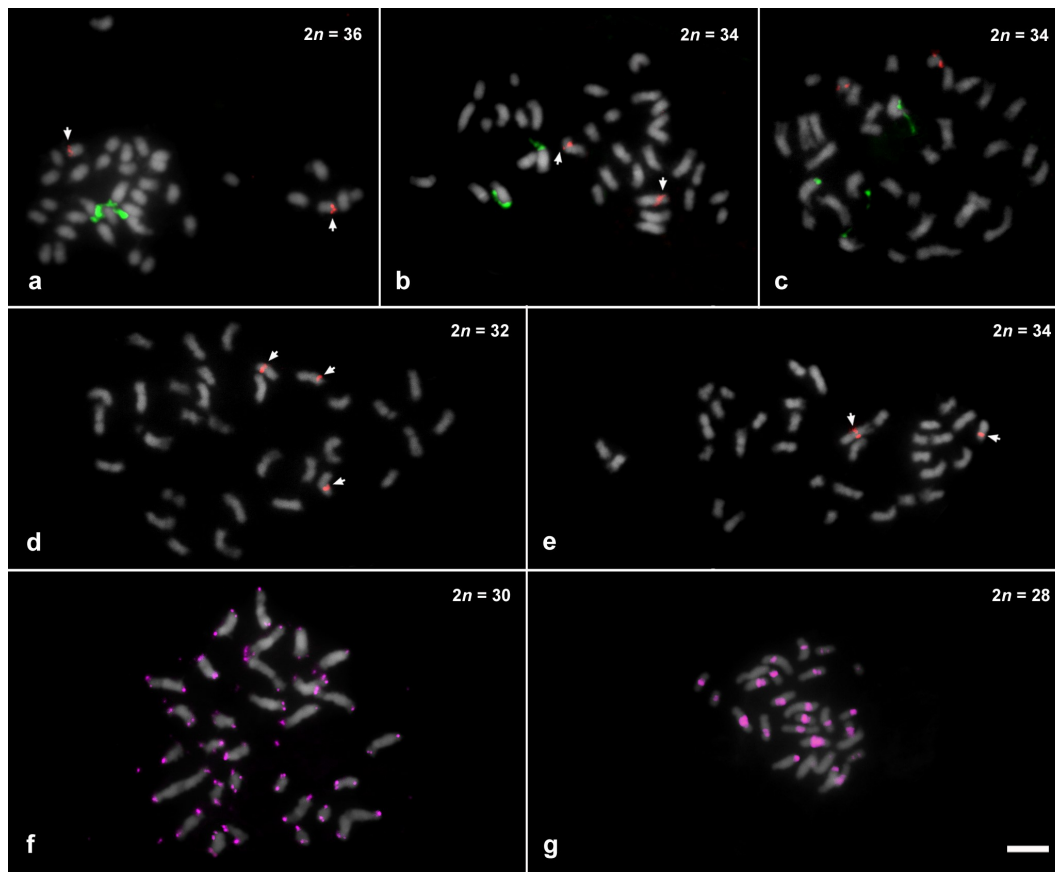


Figure 2. Distribution of repetitive sequences in species of *Thaumatophyllum* and *Philodendron* species, counterstained with DAPI and pseudocolored in gray (35S rDNA in green, 5S rDNA in red, and telomeric probe in pink). **a** *T. lundii*; **b** *T. mello-barretoanum*; **c** *P. angustilobum*; **d** *P. bipennifolium*; **e** *P. glaziovii*; **f** *P. giganteum*; **g** *P. callosum*. Bar in **g** represents 5 μ m.

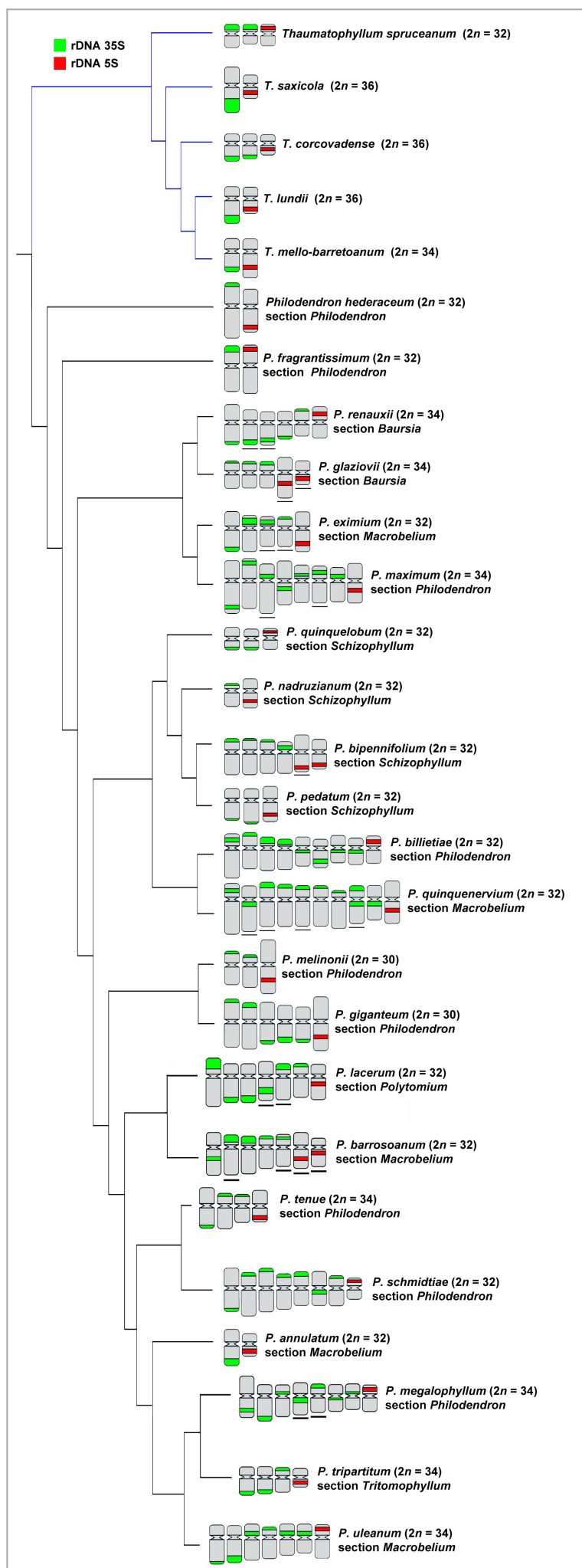


Figure 3. Chromosomal patterns for rDNA in 22 *Philodendron* and five *Thaumtophyllum* species plotted in a modified phylogeny based on Vasconcelos et al. [11]. The underlined chromosomes presented heteromorphism, and it was not possible to identify their respective homologs.

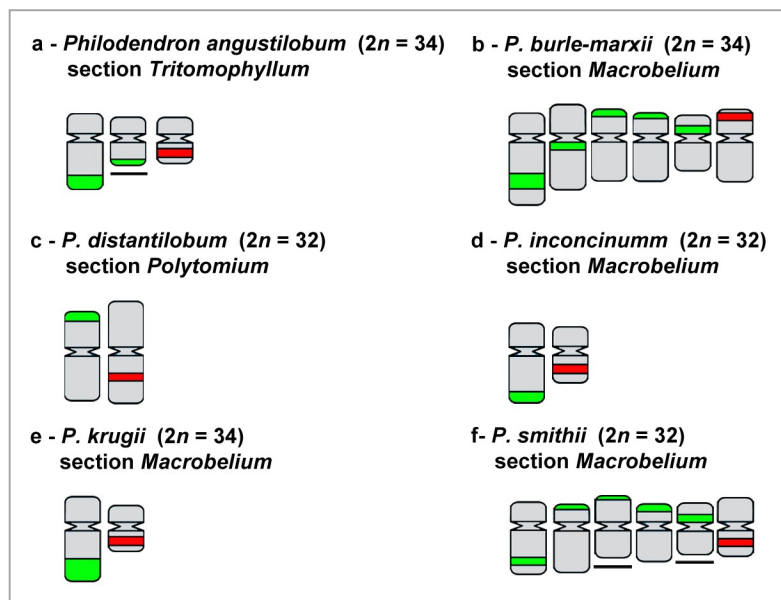


Figure 4. Chromosomes mapped with 35S (green) and 5S (red) rDNA probes in six species of *Philodendron* subgenus *Philodendron* not included on Vasconcelos et al. [11] phylogeny. Underlined chromosomes presented heteromorphism, and it was not possible to identify their respective homologs.

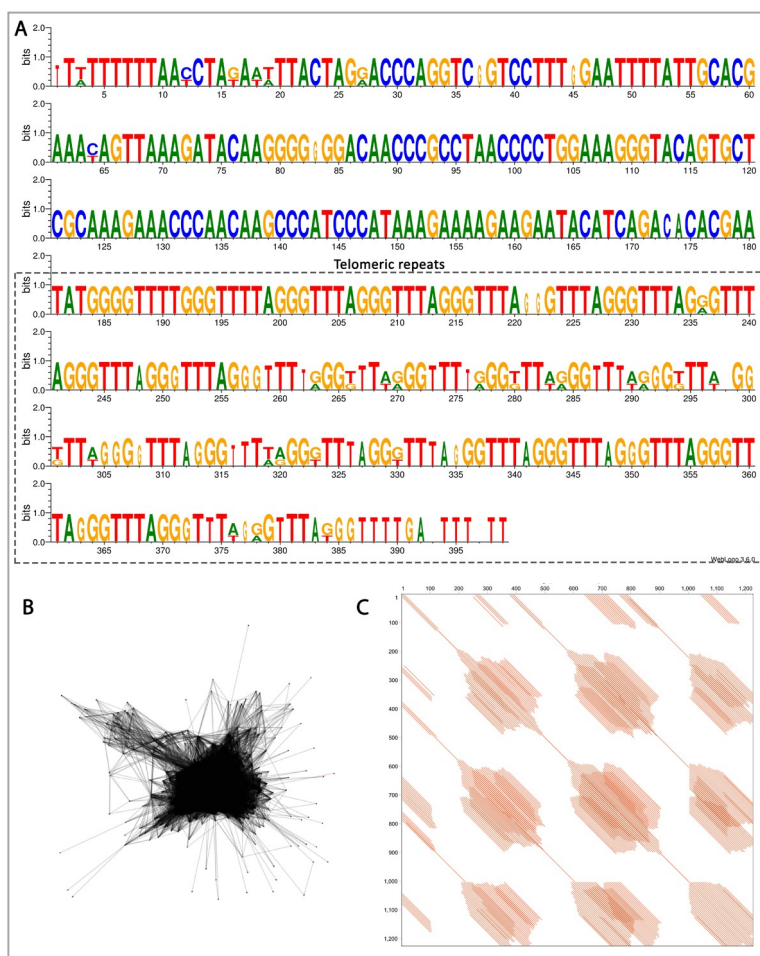


Figure 5. Features of the satellite DNA *PcSat1* from *Philodendron callosum*. **a** Reconstructed monomer using WebLogo [67]. A cluster of conserved and degenerated plant telomeric motifs is present at the repeat unit and represents more than half of its full size (box). **b** Layout of cluster 228 obtained from Repeat Explorer output (Vasconcelos et al. unpublished data) and **c** Dotplot graph showing the internal organization of the sequence.

6 ARTIGO III

DNA repetitivo em espécies de *Philodendron* (Araceae)

Emanuelle V. Vasconcelos¹, Santelmo Vasconcelos², Ana M. Benko-Iseppon¹, Mariana Baez³, Tiago Ribeiro³, Eder Soares Pires², Guilherme Oliveira² & Ana C. Brasileiro-Vidal^{1*}

¹Departamento de Genética, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50740-600, Recife, Pernambuco, Brazil

²Instituto Tecnológico Vale, Rua Boaventura da Silva 955, CEP 66055-090, Belém, Pará, Brazil

³Departamento de Botânica, Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco, CEP 50740-600, Recife, Pernambuco, Brazil

*Autor para correspondência: brasileirovidal.ac@gmail.com

Resumo

Para *Philodendron*, foram descritas variações no número cromossômico e no tamanho do genoma, o que indica que o DNA repetitivo parece ser um importante componente para a dinâmica da evolução cariotípica do táxon. Desta forma, o presente trabalho visou realizar uma análise comparativa das principais sequências repetitivas e do tamanho do genoma de seis espécies de *Philodendron*. DNAs genômicos de seis espécies foram extraídos e sequenciados em uma plataforma Illumina e analisados mediante plataforma *RepeatExplorer*. A fração repetitiva variou de 33,75% (*P. quinquelobum*; 2C/ 4,60 pg) a 67,71% (*P. melinonii*; 2C/ 4,20 pg), não sendo observada correlação entre a proporção de DNA repetitivo e o tamanho do genoma para a presente amostra. Os genomas foram compostos principalmente por retrotransposons LTR Ty3-Gypsy e Ty1-Copia, sendo as linhagens Chromovirus e Ogre-Tat, ambas Ty3-Gypsy, as mais abundantes. Além disso, 10 clusters de DNA satélite foram identificados e caracterizados. As sequências mais abundantes foram hibridizadas *in situ* nos cromossomos de *P. melinonii*, evidenciando distribuição dispersa para os retroelementos, preferencialmente localizados nas regiões pericentroméricas heterocromáticas visualizadas mediante coloração CMA/DAPI. Nosso trabalho mostra variações tanto na proporção total da fração repetitiva dos genomas de espécies de *Philodendron* quanto na abundância das linhagens identificadas, indicando uma ausência de correlação entre os tamanhos dos genomas e as frações do DNA repetitivo e uma rápida evolução da fração repetitiva desses genomas.

Palavras-chave: Composição genômica, elementos transponíveis, DNA repetitivo, DNA satélite, tamanho de genoma.

Introdução

Philodendron (Araceae) engloba espécies de monocotiledôneas que estão amplamente distribuídas no continente americano (Coelho *et al.*, 2015; Boyce e Croat, 2018). Atualmente as espécies são agrupadas em dois subgêneros: *Pteromischum* (81 spp.) e *Philodendron* (ca. 400 spp.) com base em caracteres morfológicos e moleculares (Grayum, 1996; Croat, 1997; Sakuragui *et al.*, 2018; Vasconcelos *et al.*, 2018). Dentre as 73 espécies de *Philodendron*, cujos números cromossômicos foram avaliados, foi observada uma variação de $2n = 26$ a $2n = 40$, sendo sugerido número básico primário de $x = 16$, com cromossomos relativamente pequenos e de morfologia bastante similar (Correia-da-Silva *et al.*, 2014; Vasconcelos *et al.*, 2017; Sakuragui *et al.*, 2018).

Adicionalmente, registros de tamanho de genoma foram descritos para 142 espécies (2,4 a 10,56 pg/2C) (Olszewska e Osiecka, 1982; Ghosh *et al.*, 2001; Zonneveld *et al.*, 2005; Lakshmanan *et al.*, 2015; Vasconcelos, 2015). Contudo, Vasconcelos (2015) sugere uma superestimativa dos valores encontrados para *P. erubescens* C.Koch. & Bousche (2C = 10,56 pg), *P. selloum* K.Koch (= *P. bipinnatifidum* Schott ex Endl., 2C = 10,0 pg), e *P. squamiferum* Poepp.& Endl. (2C = 9,30 pg) por Ghosh *et al.* (2001), sendo neste caso a variação do conteúdo 2C reduzida para 2,4 a 7,58 pg/2C. As referidas variações no tamanho dos genomas, associadas a diferentes quantidades de sítios de DNAr mapeados nos cromossomos de 28 espécies do gênero (dois a 16 sítios) (Vasconcelos *et al.*, em preparação), sugere forte influência do DNA repetitivo sobre estes genomas.

A fração repetitiva dos genomas é constituída principalmente por retrotransposons LTR, Ty1-*Copia* e Ty3-*Gypsy*, que se acumularam ao longo de eventos de amplificação (Piégu *et al.*, 2006; Neumann *et al.*, 2006; Novák *et al.*, 2014), bem como em menor proporção pelas sequências repetidas em tandem, conhecidas como DNA satélite (Wicker e Keller, 2007; Llorens *et al.*, 2011; Piégu *et al.*, 2015; Puterova *et al.*, 2017). Diversos estudos apontam que o balanço entre acúmulo e eliminação de sequências de DNA repetitivo (Bennetzen e Wang, 2014) influencia diretamente no genoma, sugerindo a presença de correlação entre o aumento/diminuição no tamanho do genoma e a dinâmica dessas sequências (Morgante *et al.*, 2007; Proost *et al.*, 2011; Jiao *et al.*, 2012). Um exemplo é o aumento proporcional na abundância de elementos Ty3-*Gypsy*

observado entre 10 espécies de *Helianthus* (Asteraceae) com genomas variando entre 6,94 a 24,23 pg (Tetreault e Ungerer, 2016; Qiu e Ungerer, 2018).

Devido ao avanço das ferramentas de bioinformática e ao barateamento dos custos de sequenciamento de nova geração, abordagens combinadas envolvendo identificação e classificação das porções repetitivas dos genomas, por meio de comparação par-a-par das sequências, vêm sendo publicadas com maior frequência (Novák *et al.*, 2010; 2013; 2017). Variações nas proporções das diferentes linhagens de DNA repetitivo têm observadas quando comparadas espécies proximamente relacionadas (Bilinski *et al.*, 2017) e mesmo quando comparados genomas de indivíduos de sexos diferentes de uma mesma espécie (Puterova *et al.*, 2017).

Desta forma, com base nas variações cariotípicas observadas em *Philodendron* subg. *Philodendron* até o momento, buscamos responder as perguntas a seguir: (i) qual a composição da fração repetitiva dos genomas no grupo? (ii) os genomas de espécies distantemente relacionadas seriam conservados em termos de sequências repetidas? (iii) a fração de DNA repetitivo está relacionada ao tamanho do genoma? Para responder a essas perguntas, foi realizado sequenciamento de baixa cobertura (~0,2×) e análise de agrupamento a fim de caracterizar a fração repetitiva dos genomas de seis espécies de *Philodendron* subg. *Philodendron* com conteúdos de DNA e números cromossômicos diferentes.

Materiais e Métodos

Material vegetal, extração do DNA genômico e sequenciamento

Os genomas de seis espécies de *Philodendron* pertencentes ao subgênero *Philodendron* foram analisados: *P. billietiae*, *P. blanchetianum*, *P. callosum*, *P. melinonii*, *P. quinquelobum* e *P. quinquenervium* (Tabela 1). O DNA genômico foi extraído a partir de folhas jovens, segundo o protocolo CTAB descrito por Weising *et al.* (2005). Adicionalmente, foi realizada uma etapa de precipitação de polissacarídeos contaminantes, de acordo com Michaels *et al.* (1994). Foram realizados sequenciamentos shotgun de bibliotecas paired end a partir de ~50 ng

de DNA usando duas plataformas Illumina diferentes: as bibliotecas de *P. callosum* e *P. melinonii* preparadas usando o kit Illumina NexteraDNA e sequenciadas em um MiSeq com v3 kit de 500 ciclos; as bibliotecas das demais espécies foram preparadas com o kit QXT SureSelect (Agilent Technologies), de acordo com as recomendações do fabricante, e sequenciadas em um NextSeq 500 com o kit NextSeq 500 v2 high-output de 300 ciclos.

Clusterização e caracterização das sequências repetitivas

A análise de agrupamento e caracterização da fração repetitiva dos genomas foi realizada na plataforma *Galaxy/RepeatExplorer*, utilizando o servidor Elixir-cerit (<https://repeatexplorer-elixir.cerit-sc.cz>). Primeiramente, as sequências foram filtradas por qualidade (limites de corte 10/95) e os reads foram pareados. A clusterização foi realizada com uma sobreposição mínima de 55% e similaridade de 90%. Para clusters não identificados pela plataforma, foram realizadas buscas usando bases de dados diferentes (NCBI, UniProt, Pfam).

Adicionalmente, foi utilizada a ferramenta TAREAN, incluída na plataforma *Galaxy/RepeatExplorer*, para a identificação das sequências de DNA satélite (Nóvak *et al.*, 2010; 2013; 2017). A organização em tandem foi checada manualmente por meio da observação da presença de subrepetições nas sequências dos contigs dos respectivos clusters, utilizando a ferramenta DOTTER (Sonnhammer e Durbin, 1995). Duas estratégias foram utilizadas para a caracterização dos elementos repetitivos: 1) inicialmente, os genomas foram analisados individualmente (cobertura $\sim 0,2\times$ para cada espécie, Tabela 1) para caracterização global da fração repetitiva; 2) posteriormente, uma análise comparativa foi realizada. As sequências de todas as espécies do estudo foram combinadas (cobertura de $0,1\times$ do genoma de cada), com o intuito de identificar e comparar clusters de DNA repetitivo compartilhados entre as distintas espécies. O tamanho do genoma em Mpb foi calculado tomando como base a relação 1 pg equivalendo a 978 Mpb (Dolezel *et al.*, 2003). Essa mesma relação foi utilizada para quantificação das proporções dos diferentes tipos de sequências repetitivas.

Adicionalmente, o teste de Pearson foi usado para correlacionar o

conteúdo de DNA 2C (ver Vasconcelos, 2015) e a fração do DNA repetitivo, com o BioEstat 5.0 software.

Desenho de primers e reação de PCR

Primers foram desenhados para o domínio da integrase de três elementos retrotransposons mais abundantes utilizando o programa Primer3 (Untergasser *et al.*, 2012) implementado no Geneious R7 (Biomatters). Para os elementos Ogre e Chromovirus, primers foram desenhados e amplificados a partir do genoma de *P. callosum*, enquanto que para o elemento Maximus foi utilizado o genoma de *P. melinonii* (Tabela S1). As reações PCR de um total de 50 µL continham 10 ng de DNA genômico, 0,2 mM de dNTP, 2,5 mM de MgCl₂, tampão de PCR 1x, 0,4 µM de cada primer e 1 U de enzima Taq polimerase. As reações incluíram 30 ciclos de amplificação (50 s a 94 °C para desnaturação, 1 min a 60 °C para anelamento e 1 min a 72 °C para alongamento). O DNA amplificado pela PCR foi sequenciado e comparado aos contigs correspondentes no Repeat Explorer, para confirmar as identidades.

Preparações cromossômicas, coloração CMA/DAPI e hibridização *in situ* fluorescente

Philodendron melinonii foi utilizada como modelo para as análises citogenéticas. Para a obtenção de metáfases mitóticas, root tips were pretreated at 8 °C for 24 h in 8-hydroxyquinoline (2 mM) and fixed in Carnoy at room temperature. Root were digested in enzyme solution containing 2% cellulase (w/v) (Onozuka R-10, Serva) and 20% pectinase (v/v) (Sigma-Aldrich) overnight at 37 °C and slides were made by crushing the meristematic tissue in 45% acetic acid. A coloração CMA/DAPI seguiu as recomendações descritas por Silva *et al.* (2016). A Hibridização *in situ* foi realizada de acordo com Vasconcelos *et al.* (2015), except for the chromosome denaturing which occurred separately from the probe in 70% formamide in 2xSSC at 80-85 °C for 7 min, and then dehydrated for 5 min in an alcoholic series (70% and 100%) at -20 °C. Stringency wash was performed in 40% de acordo com Ribeiro *et al.* (2017). As reações de PCR foram marcadas

por *nick translation* com digoxigenina-11-dUTP (Roche) e detectadas usando anti-digoxigenina conjugado com rodamina (Roche). As imagens foram capturadas utilizando um microscópio de epifluorescência Leica DMLB acoplado com uma câmera Leica DFC 340FX, usando o programa CW 4000 da Leica. As imagens foram otimizadas para melhor brilho e contraste com o Adobe Photoshop CS3 (Adobe Systems Incorporated).

Resultados

Caracterização genômica das espécies de *Philodendron*

Na análise dos genomas de seis espécies do subgênero *Philodendron*, uma pequena variação foi observada em relação ao tamanho dos genomas, com valores 2C variando de 4,20 pg (4107.6 Mbp), em *P. melinonii*, a 5,22 pg (5105.16 Mbp), em *P. callosum*. Entretanto, a fração de DNA repetitivo apresentou maior variação (cerca de duas vezes), observando-se uma proporção dos genomas analisados de 33,76% (1519 Mbp), em *P. quinquelobum*, a 67,72% (2782 Mbp), em *P. melinonii* (Figura 1, Tabela 2). Apenas *P. billietiae* e *P. quinquelobum* apresentaram genomas constituídos por menos de 40% de DNA repetitivo, enquanto as outras quatro espécies analisadas apresentaram uma fração de DNA repetitivo superior a 60% (*P. blanchetianum*, *P. callosum*, *P. melinonii* e *P. quinquenervium*). Contudo, não foi observada correlação significativa entre os tamanhos dos genomas e suas respectivas proporções de DNA repetitivo para a presente amostragem ($r = 0.3838$; $p = 0.4526$).

Os retrotransposons do tipo LTR foram os elementos mais abundantes, sendo as sequências do tipo Ty3-Gypsy de 1.96 a 5.27 vezes mais abundante que os elementos Ty1-Copia. A fração de elementos tipo Ty3-Gypsy variou de 18,56% (669 Mbp) a 63,14% (1684 Mbp), em *P. quinquelobum* e *P. melinonii*, respectivamente, enquanto que a proporção de Ty1-Copia variou de 2,99% (134 Mbp), em *P. quinquelobum*, a 20,85% (856 Mbp), em *P. melinonii* (Figura 1, Tabela 2).

Dentre os Ty3-Gypsy, a linhagem Chromovirus apresentou maior proporção em quase todos os genomas (variando de 2,99%, em *P. quinquelobum* a 29,89%

em *P. quinquenervium*), exceto para *P. quinquelobum* que apresentou em seu genoma uma maior quantidade do elemento Athila (8,40%). Adicionalmente, Ogretat foi encontrado em proporções variando de 3,47% em *P. quinquelobum* a 18,47% em *P. blanchetianum* (Tabela 2). Embora menos abundante, Ty1-Copia mostrou um maior número de linhagens, uma vez que seis diferentes tipos foram identificados (Ale, Angela, Ivana, Maximus, Tar e Tork), com destaque para Maximus e Angela, sendo mais abundante em *P. melinonii* (18,5%) e em *P. callosum* (8,44%), respectivamente. As demais linhagens identificadas, em geral, compuseram menos de 1% da fração repetitiva dos genomas dessas espécies (Tabela 2).

A análise comparativa, com pequenas exceções, não mostrou grande discrepância em relação às sequências identificadas na análise individual, mostrando que a grande maioria dos clusters é compartilhada entre as diferentes espécies (Figura 1, Tabela 2). Entretanto, a variação encontrada para *P. billietiae*, em especial na quantidade de elementos LTR, pode ser reflexo da grande quantidade de repeats não classificados na análise individualizada. Já para o genoma de *P. quinquelobum*, o maior percentual de elementos repetidos detectado na análise individual, em relação à comparativa, aponta para a presença de uma maior quantidade de sequências exclusivas para essa espécie (Figura 1, Tabela 2). Vale ressaltar que os repeats não classificados na análise individual incluem também os DNA satélites (Tabela 2), os quais foram identificados apenas na análise comparativa (Tabela 2).

A fração correspondente aos DNA satélites variou bastante nos genomas das espécies analisadas, embora não tenha ultrapassado 2,48% do DNA repetitivo total. Dez clusters foram identificados e mostraram abundância total variando de 0,02% a 2,48%, em em *P. callosum* e *P. quinquelobum*, respectivamente (Tabela 2). As unidades de repetição foram bastante distintas em tamanho e composição de sequência, variando de 14 a 1230 bp, sendo observada também a presença de subrepetições internas (Figura 2). Para *P. quinquelobum*, foram identificados quatro clusters de DNA satélite exclusivos dessa espécie, três dos quais parecem representar subfamílias de um mesmo DNA satélite (CL189, CL209 e CL247). Os demais DNAs satélites estavam presentes na maioria das espécies e variaram apenas em abundância (Tabela 3).

Análises citogenéticas

A dupla coloração CMA/DAPI, em *P. melinonii* ($2n = 30$), revelou regiões heterocromáticas que ocupam quase todo o cromossomo ou estão localizadas nas regiões pericentroméricas (Figura 3A). A FISH nessa mesma espécie, utilizando como sondas os três retroelementos mais abundantes, Chromovirus, Ogre-tat e Maximus, identificados nos genomas do gênero, revelou que estes elementos se distribuem nas regiões ricas em heterocromatina CMA⁺ (Figuras 3B-D), além de estarem localizados de forma dispersa ao longo dos cromossomos. Também pudemos evidenciar que os elementos presentes em menor proporção no genoma de *P. melinonii*, Maximus (18,5%) e Ogre-tat (11,02%), estão localizados mais dispersamente nos cromossomos, enquanto que Chromovirus (29,64%) foi localizado de forma mais concentrada em determinadas regiões cromossômicas, apresentando uma marcação de maior intensidade (Figura 3B).

Discussão

No presente trabalho, relatamos o primeiro estudo utilizando análise genômica *in silico* para identificação de sequências repetitivas em espécies de Araceae. As espécies do subgênero *Philodendron* analisadas apresentaram pequena variação nos tamanhos de genoma (4,20 a 5,22 pg), com valores próximos ao valor médio para o grupo, provavelmente correspondente ao valor ancestral (4,54 pg/2C; Vasconcelos, 2015). Na fração do DNA repetitivo, as linhagens de elementos encontradas foram em geral semelhantes, independente da distância filogenética entre as espécies (Vasconcelos *et al.*, 2018), diferindo principalmente em suas proporções nos genomas. Mesmo espécies proximamente relacionadas e com tamanhos de genomas similares, como *P. billietiae* (4,86 pg) e *P. quinquenervium* (4,66 pg), puderam apresentar proporções de sequências repetitivas bastante diferenciadas, apesar dos genomas de tamanhos similares. Possivelmente, diferentes famílias de DNA repetitivo estão sendo amplificadas e/ou eliminadas ao longo da divergência dessas espécies, indicando uma rápida evolução da fração repetitiva desses genomas. Tal fato é corroborado pela rápida evolução dos elementos de transposição observada nos

genomas vegetais como um todo, o que pode levar a enormes variações entre espécies proximamente e distantemente relacionadas (Du *et al.*, 2010).

A proporção de DNA repetitivo entre as espécies analisadas de 33,76 a 67,72%, com quatro das seis espécies com fração acima de 62%, evidenciando que grande parte dos genomas destas espécies é composta por sequências de DNA repetitivo. Contudo, não foi detectada correlação entre o tamanho dos genomas e a fração das sequências de DNA repetitivo total para as seis espécies analisadas, com valores 2C considerados intermediários para o grupo (4,20 a 5,22 pg). Por outro lado, vale ressaltar a pequena amostragem do presente trabalho, considerando a ampla variação de conteúdo de DNA para esse subgênero (2,97 a 7,07 pg, 96 espécies), sendo observada inclusive variação intraespecífica, como em *P. quinquenervium* (4,26 a 4,92 pg; Vasconcelos, 2015).

Altas frações de DNA repetitivo são muito comuns em plantas, como por exemplo, nos gêneros *Hippophae* (Elaeagnaceae; Puterova *et al.*, 2017), *Orobanche* (Orobanchaceae; Piednoël *et al.*, 2015) e *Posidonia* (Potamogetonaceae), destacando *P. oceanica* (L.) Delile (5,58 pg), com 97,9% de DNA repetitivo (Barghini *et al.*, 2015). Dentre os elementos repetitivos em genomas vegetais, os retrotransposons do tipo LTR são em geral os mais abundantes (Galindo-González *et al.*, 2017), sendo considerados como uma força direcionadora da evolução genômica (Kim e Choi, 2018; Qiu e Ungerer, 2018). Nas espécies analisadas, a abundância de retrotransposons LTR (18,56 a 63,14% da fração repetitiva), pode estar relacionada à divergência genômica entre as espécies do grupo.

Os elementos Ty3-Gypsy foram os mais abundantes, com proporção 1,96 a 5,27 vezes maior que os do tipo Ty1-Copia. São aparentemente responsáveis por grande parte da expansão dos genomas analisados, especialmente para as espécies *P. blanchetianum*, *P. callosum*, *P. melinonii* e *P. quinquenervium*, que apresentaram fração Ty3-Gypsy entre 41,0 a 44,36% do genoma total (2C variando de 4,20 a 5,22 pg). A elevada abundância de sequências Gypsy tem sido reportada com grande frequência para outros grupos de plantas (Zhu *et al.*, 2016; Feng *et al.*, 2017; Qiu e Ungerer, 2018), embora não seja universal (González e Deyholos, 2012; He *et al.*, 2015). Em espécies de *Helianthus*, por exemplo, uma forte correlação positiva foi observada entre a abundância de Gypsy e o tamanho do genoma nuclear (Qiu e Ungerer, 2018). Por outro lado, *P. billietiae* (2C = 4,86

pg) e *P. quinquelobum* (2C = 4,60 pg) apresentaram uma menor proporção de DNA repetitivo devido principalmente a uma menor abundância de elementos Ty3-Gypsy (17,84 e 14,87%, respectivamente). Para essas duas espécies, o relativo aumento do tamanho de seus genomas parece estar relacionado a um DNA repetitivo heterogêneo com abundância relativamente baixa, como sugerido para espécies de *Fritillaria* (Kelly *et al.*, 2015).

As linhagens Ty3-Gypsy Chromovirus e Ogre-tat foram as mais abundantes nos genomas das espécies de *Philodendron*. A linhagem Chromovirus é amplamente distribuída em gimnospermas e angiospermas, sendo relatada a associação de chromodomínios com modificações na cromatina (Kordis, 2005; Gao *et al.*, 2008; Novikova, 2009). Já os retroelementos do tipo Ogre-tat foram apelidados de “gigantes”, uma vez que estes podem ter um comprimento de até 25 kb e LTRs com mais de 6 kb (Neumann *et al.*, 2003, 2006), sendo identificados, por exemplo, nos genomas de Fabaceae, Solanaceae e Salicaceae, havendo pouca conservação de suas sequências de nucleotídeos, apesar de seus domínios de proteínas serem altamente conservados (Macas e Neumann, 2007).

Mudanças na dinâmica do DNA repetitivo durante o processo de especiação não são bem compreendidas. Sabe-se que as diferentes famílias de elementos transponíveis se expandem em diferentes períodos ao longo do processo evolutivo, uma vez que se tem verificado que algumas famílias são mais propícias a serem mais ativas do que outras (Baucom *et al.*, 2009; Vitte *et al.*, 2007; Wicker e Keller, 2007; Estep *et al.*, 2013). Em espécies portadoras do genoma tipo AA de *Oryza* (Poaceae), por exemplo, foram identificadas 790 famílias diferentes de retrotransposons LTR, com grandes ampliações associadas a altos níveis de retrotransposição para as diferentes espécies, provavelmente devido a grandes estresses ambientais ou a outros eventos aleatórios que ocorreram ao longo do tempo de divergência entre as espécies do grupo (Zhang e Gao, 2017).

Novas tecnologias têm permitido um aumento no número de informações a respeito da contribuição das sequências repetitivas na evolução dos cromossomos vegetais (Li *et al.*, 2017). De uma forma geral, as regiões heterocromáticas têm abundância de sequências repetitivas. Estes elementos estão localizados de forma mais pontual ou uniformemente distribuídos nos

genomas, como observado em *Anemone*, *Pulsatilla* e *Hepatica* (Ranunculaceae) (Mlinarec *et al.*, 2016), *Saccharum* (Poaceae) (Huang *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2017a) e *Oryza* (Zhang *et al.*, 2017b). Tem-se observado que em plantas com genomas maiores que 10 pg (2C), os elementos transponíveis possuem uma tendência de estarem localizados mais dispersamente, como ocorre nas Fabaceae *Vicia pannonica* Crantz (Neumann *et al.*, 2006) e *Lathyrus sativus* L. (Ceccarelli *et al.*, 2013). Em *P. melinonii* (2C = 4,2 pg), com tamanho de genoma intermediário, a localização cromossômica de três diferentes retroelementos evidenciou um acúmulo preferencial nas regiões pericentroméricas, com marcação dispersa adicional ao longo dos braços cromossômicos. Este acúmulo preferencial por determinadas regiões cromossômicas tem sido relatado tanto para plantas com genomas menores, como descrito para *Coffea arabica* L. (2C = 2,40 pg) e outras espécies do gênero (Rubiaceae) (Bennett e Leitch, 2012; Lopes *et al.*, 2013), localizados em *clusters* nas regiões terminais e intersticiais/proximais, e para *Manihot esculenta* Crantz (Euphorbiaceae, 2C = 1,66 pg) em *clusters* nas regiões proximais (Bennett e Leitch, 2012; Wang *et al.*, 2014), quanto para plantas com genomas intermediários, como observado em *Erianthus arundinaceus* (Retz.) Jeswiet (Poaceae, 2C = 7,26 pg) nas regiões subterminais (Bennett e Leitch, 2012; Huang *et al.*, 2017).

Nosso trabalho fornece uma visão geral acerca da proporção e da diversidade do DNA repetitivo dos genomas de espécies do subgênero *Philodendron* e sua relação com as regiões heterocromáticas. Variações tanto na proporção total da fração repetitiva quanto na abundância das linhagens identificadas foram observadas, sugerindo uma rápida evolução da fração repetitiva. Contudo, não foi detectada uma correlação entre a fração de DNA repetitivo e o conteúdo 2C para a presente amostra. Por outro lado, linhagens semelhantes puderam ser encontradas mesmo considerando espécies distantemente relacionadas, sendo as linhagens Chromovirus e Ogre-tat do grupo dos retrotransposons Ty3-Gypsy as mais abundantes na fração do DNA repetitivo das espécies do referido subgênero. Contudo, esse panorama da fração repetitiva de *Philodendron* pode variar à medida que mais espécies sejam analisadas, uma vez que o gênero é bastante diverso em número de espécies, com uma ampla distribuição geográfica, além do DNA repetitivo apresentar rápida evolução nos genomas vegetais.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao CNPq (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) e FACEPE (Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco) pelo apoio financeiro e bolsas de estudo.

Tabela 1. Espécies do subgênero *Philodendron* com suas respectivas procedências para valores de conteúdo de DNA (Vasconcelos, 2015) e sequenciamento do genoma.

Espécie	Procedência	2n¹	2C² (pg)	Cobertura do genoma sequenciado
<i>Philodendron billietiae</i>	Kew/1975-1460	32	4,88 ± 0,10	-
	Kew/2005-2363		4,86 ± 0,01	-
	Carajás/ITV1706		-	0,24×
<i>P. blanchetianum</i>	Kew/1977-581	34	4,29 ± 0,07	-
	³ FZBBH/JBI1769		4,27 ± 0,05	-
	Carajás/ITV1689		-	0,18×
<i>P. callosum</i>	Kew/1978-1657	28	5,25 ± 0,04	-
	⁴ LGBV/SV022PF		5,22 ± 0,04	0,23×
<i>P. melinonii</i>	Kew/1984-1079	30	4,20 ± 0,06	-
	Kew/1993-2030		4,26 ± 0,10	-
	LGBV/MC085		-	0,31×
<i>P. quinquenervium</i>	Kew/1979-3174	32	4,66 ± 0,14	-
	Kew/1980-1637		4,92 ± 0,06	-
	LGBV/SV076VR		4,26 ± 0,09	-
	FZBBH/ARA2001067		4,17 ± 0,02	-
	Carajás/ITV1753		-	0,22×
<i>P. quinquelobum</i>	FZBBH/ARA2000060	32	4,60 ± 0,04	-
	Carajás/ITV2202		-	0,21×

¹Valores 2n compilados de Vasconcelos *et al.* (2017).

²Valores 2C compilados de Vasconcelos (2015).

³Fundação Zoobotânica de Belo Horizonte.

⁴Laboratório de Genética e Biotecnologia Vegetal, UFPE.

Tabela 2. Proporção de sequências repetitivas (%) identificadas nos genomas de espécies do subgênero *Philodendron*, através de análise individual e comparativa dos genomas, utilizando a plataforma Galaxy/RepeatExplorer.

Classe de DNA repetitivo	Sequências repetidas (%)											
	<i>P. callosum</i> (5,22 ± 0,04) ^a		<i>P. quinquelobum</i> (4,60 ± 0,04) ^b		<i>P. billietiae</i> (4,86 ± 0,10) ^a		<i>P. quinquenervium</i> (4,66 ± 0,14) ^a		<i>P. melinonii</i> (4,20 ± 0,06) ^a		<i>P. blanchetianum</i> (4,29 ± 0,07) ^a	
	Individual	Comparativa	Individual	Comparativa	Individual	Comparativa	Individual	Comparativa	Individual	Comparativa	Individual	Comparativa
LTR Ty3-Gypsy	42,78	37,57	14,87	7,28	17,84	26,5	44,37	42,16	41,01	40,68	43,33	43,85
Athila	0,55	-	8,40	3,52	0,27	-	0,20	-	0,35	-	0,37	-
Chromo	29,11	26,33	2,99	0,86	13,46	18,36	29,89	29,89	29,64	29,59	24,49	26,99
Ogre-tat	13,12	11,24	3,47	2,90	4,11	8,16	14,27	12,27	11,02	11,09	18,47	16,86
LTR Ty1-Copia	15,64	14,41	2,99	1,53	4,37	5,86	8,43	8,25	20,85	19,21	7,74	8,73
Ale	0,19	0,15	0,73	0,29	-	0,05	0,15	0,11	0,15	0,09	0,22	0,19
Angela	8,44	8,07	0,09	-	0,99	1,42	2,02	2,29	2,03	1,99	2,02	2,01
Ivana	0,01	-	1,83	1,24	-	-	-	-	0,06	-	-	-
Maximus	6,61	5,97	0,14	-	3,38	4,37	6,23	5,81	18,50	17,04	5,48	6,48
Tar	0,19	0,16	-	-	-	0,01	0,03	0,02	0,11	0,07	0,01	0,02
Tork	0,20	0,06	0,21	-	-	0,01	-	0,02	-	0,02	0,01	0,03
LTR Não Classificado	0,38	0,44	0,69	1,25	0,14	0,75	0,79	1,05	1,28	0,26	0,59	0,57
LTR Total	58,80	52,42	18,56	10,06	22,35	33,13	53,59	51,46	63,14	60,15	51,66	53,15
Retrotransposon LINE	1,41	1,03	1,04	0,54	0,08	0,08	0,14	0,11	0,18	0,12	0,45	0,39
Transposon	2,22	1,80	0,37	0,92	0,43	0,73	0,76	1,16	0,81	0,83	1,94	1,13
rDNA	0,53	0,39	3,28	3,38	1,04	0,97	2,03	1,31	0,14	0,16	0,93	0,89
5S	0,06	0,06	0,27	0,27	0,16	0,17	0,17	0,16	0,01	0,06	0,04	0,09
45S	0,47	0,33	3,01	3,11	0,88	0,80	1,86	1,15	0,13	0,10	0,89	0,80
DNA Satélite	-	0,02	-	2,48	-	1,01	-	1,09	-	0,09	-	1,53
Repeats Não Classificado	4,52 ^c	2,83	10,51 ^c	2,09	15,11 ^c	1,44	5,85 ^c	2,32	3,45 ^c	1,65	8,12 ^c	2,63
DNA Repetitivo Total	67,48	58,49	33,76	19,47	39,01	37,36	62,37	57,45	67,72	63,00	63,10	59,72

^aMédia dos valores 2C, em pg, descritos anteriormente na literatura e compilados na Tabela 1.

^bValor de conteúdo de DNA 2C do acesso FZBBH/ARA2000060 (Tabela 1).

^cIncluso DNA satélite

Tabela 3. Proporção de DNAs satélites identificados no genoma de espécies do subgênero *Philodendron* (%) por meio de análise comparativa, utilizando a plataforma Galaxy/RepeatExplorer e a ferramenta TAREAN.

Satélite	Repeat (bp)	DNA satélite (%)					
		<i>P. billietiae</i>	<i>P. blanchetianum</i>	<i>P. callosum</i>	<i>P. melinonii</i>	<i>P. quinquenervium</i>	<i>P. quinquelobum</i>
CL36	45	0,50	0,37	0,017	0,014	0,61	-
CL100	155	0,026	1,06	-	0,032	0,044	-
CL115	14	0,058	0,013	-	-	0,019	0,84
CL145	1000 ^a	0,37	0,077	-	-	0,30	-
CL189	157 ^b	-	-	-	-	-	0,54
CL209	158 ^b	-	-	-	-	-	0,44
CL228	355 ^b	-	-	-	-	-	0,37
CL247	249 ^a	-	-	-	-	-	0,30
CL334	1230 ^a	0,02	-	-	0,047	0,063	-
CL367	Variável	0,02	-	-	-	0,05	-

^aPresença de subrepetições

^bSubfamílias

Tabela S4. Sequências de primers utilizados para amplificar retrotransposons do genoma do subgênero *Philodendron*, domínio de proteína usado como alvo, comprimento esperado do produto e temperatura de anelamento usada nas reações de PCR.

Retrotransposon	Sequências	Comprimento do produto/ espécie utilizada como alvo	Clusters, anotação e domínio usado para sonda	Temperatura de anelamento (° C)
Ogre-tat	F: CTTTGTGCGTCATTGCCACA R: GTTGGCTGCCGTTATTCGTC	765 bp/ <i>P. callosum</i>	CL8_contig256, Ty3/gypsy/Ogre/Tat (INT)	60
Chromovirus	F: GCTTTTGCCTTTGCTGAGCT R: ACTTCTGGTGGAGTGGCATG	843 bp/ <i>P. callosum</i>	CL2_contig59, Ty1/Copia/Chromovirus (INT)	60
Maximus	F: TCCACCACTCCGTTCTGTTG R: ACTTGTTGTGGCATAGGCG	715 bp/ <i>P. melinonii</i>	CL20_contig1, Ty1/Copia/Maximus (INT)	60

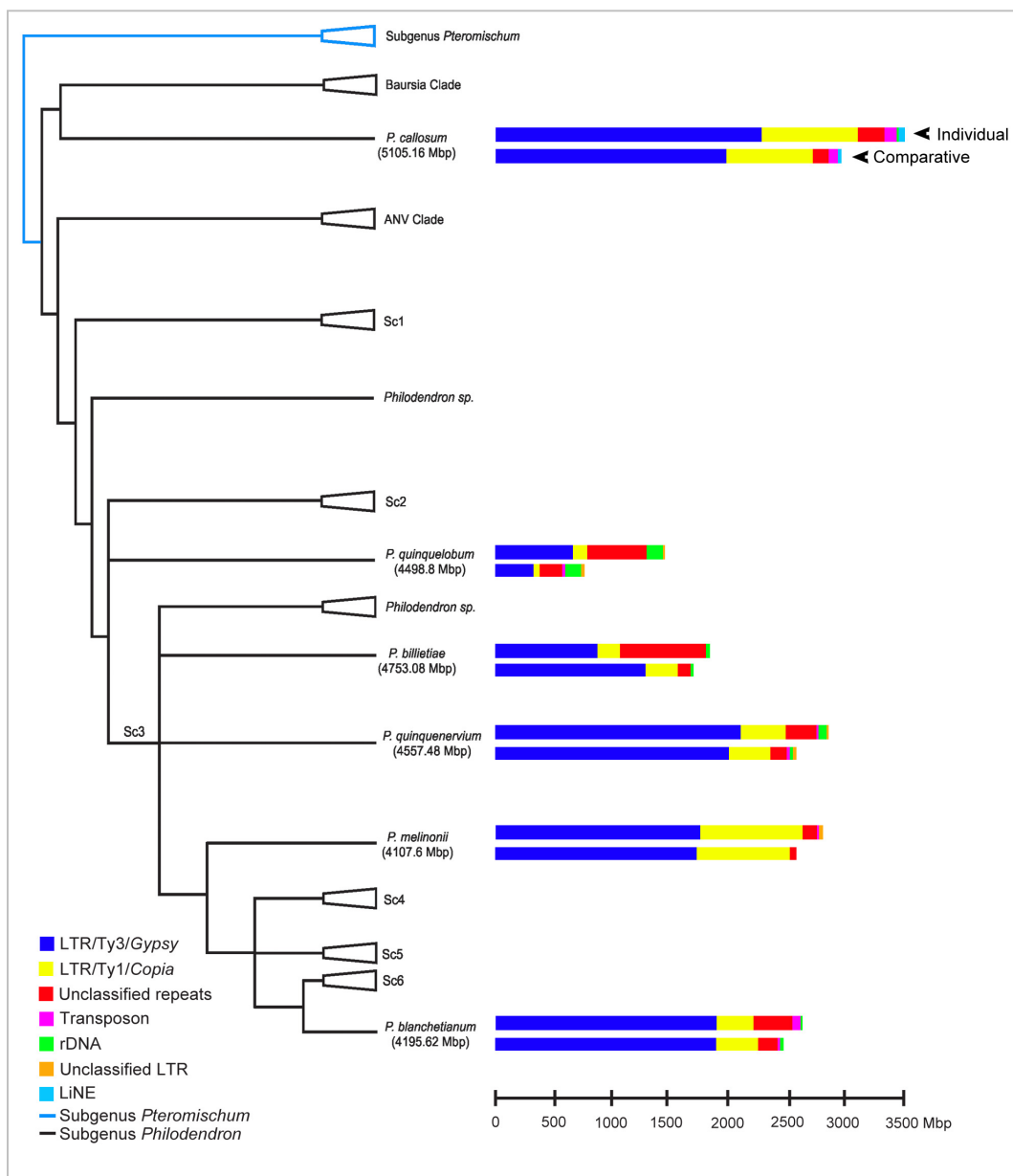


Figura 1. Abundância das principais classes de DNA repetitivo no genoma de espécies de *Philodendron*. Barras representam as proporções (em Mbp) dos elementos repetitivos obtidos na análise individual (superior) do genoma e na análise comparativa (barras inferiores). A representação esquemática das relações filogenéticas está baseada em Vasconcelos *et al.* (2018).

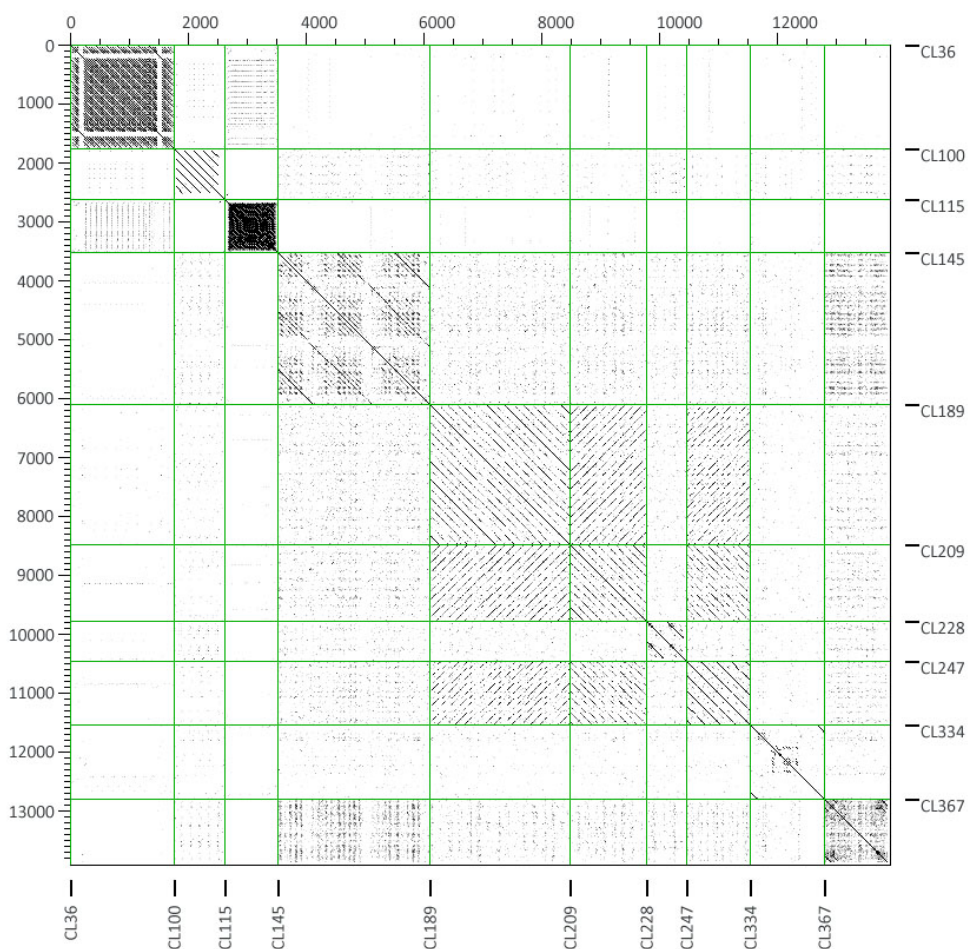


Figura 2. Análise por Dotplot dos satélites identificados em espécies de *Philodendron*. Linhas indicam compartilhamento por similaridade. Clusters CL189, CL209 e CL247 são semelhantes e representam subfamílias de um mesmo satélite.

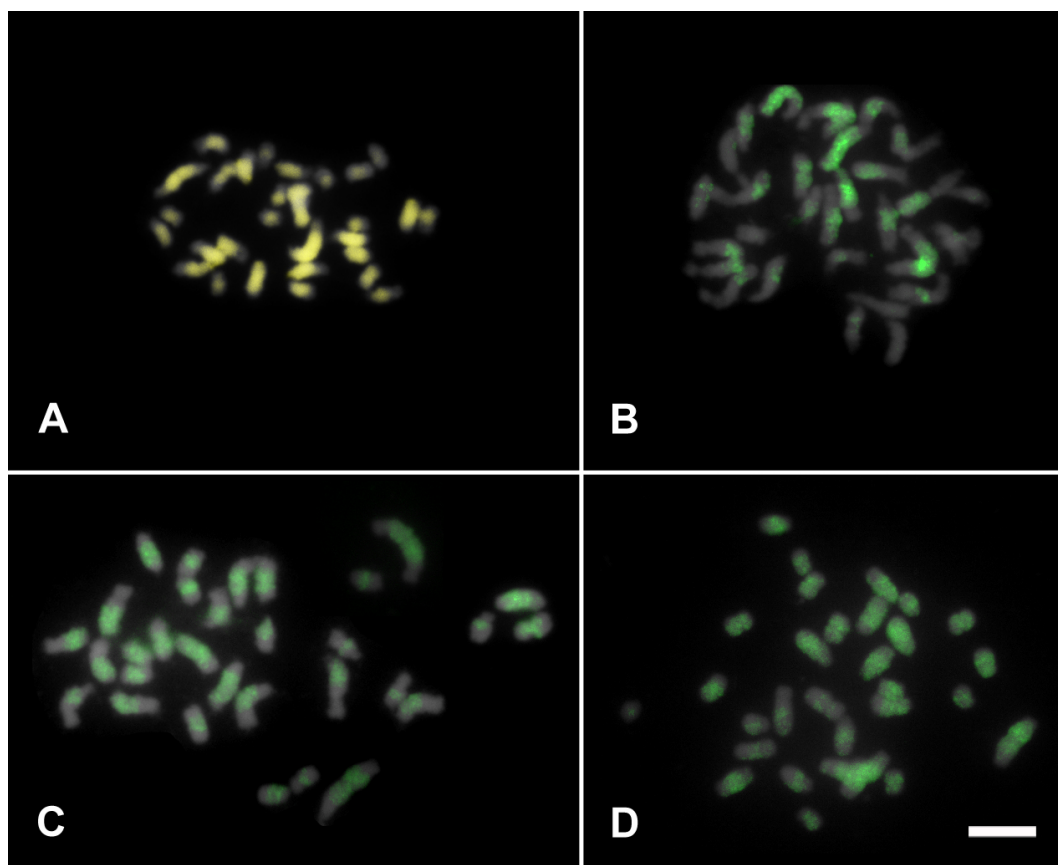


Figura 3. CMA/DAPI e hibridização *in situ* fluorescente em cromossomos mitóticos de *Philodendron melinonii*, corados com DAPI e pseudocolorados em cinza. (A) CMA/DAPI; (B) Chromovirus Ty3-Gpysy; (C) Ty3-Gpysy Ogre-tat; (D) Ty3-Gpysy Maximus. Barra em D representa 5 µm.

Referências Bibliográficas

- Adams SP, Hartman TPV, Lim KY, Chase MW, Bennett MD, Leitch IJ and Leitch AR (2001) Loss and recovery of *Arabidopsis*-type telomere repeat sequences 50-(TTAGGG)_n-30 in the evolution of a major radiation of flowering plants. *Proc R Soc Lond* 268:1541-1546.
- Baucom RS, Estill JC, Leebens-Mack J and Bennetzen JL (2009) Natural selection on gene function drives the evolution of LTR retrotransposon families in the rice genome. *Genome Res* 19:243-254.
- Barghini E, Mascagni F, Natali L, Giordani T and Cavallini A (2015) Analysis of the repetitive component and retrotransposon population in the genome of a marine angiosperm, *Posidonia oceanica* (L.) Delile. *Mar Genomics* 3:397-404.
- Bartos J, Alkhimova O, Dolezelova M, De Langhe E and Dolezel J (2005) Nuclear genome size and genomic distribution of ribosomal DNA in *Musa* and *Ensete* (Musaceae): taxonomic implications. *Cytogenet Genome Res* 109:50-57.
- Bennetzen JL and Wang H (2014) The contributions of transposable elements to the structure, function, and evolution of plant genomes. *Annu Rev Plant Biol* 65:505-30.
- Bilinski P, Han Y, Hufford MB, Lorant A, Zhang P, Estep MC, Jiang J and Ross-Ibarra J (2017) Genomic abundance is not predictive of tandem repeat localization in grass genomes. *PLoS One* 12:e0177896.
- Boyce PC and Croat TB (2018) The Überlist of Araceae, totals for published and estimated number of species in aroid genera. <http://www.aroid.org/genera/180211uberlist.pdf> 11 Feb 2018.
- Ceccarelli M, Sarri V, Polizzi E, Andreozzi G and Cionini PG (2013) Ogr retrotransposons in *Lathyrus* species. *Plant Biosyst* 147:99-104.
- Coelho M, Soares ML, Calazans LSB, Gonçalves EG, Andrade IM de, Pontes TA, Sakuragui CM, Temponi LG, Buturi C and Mayo S (2015) Araceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro.

- Correia-da-Silva M, Vasconcelos S, Soares MLC, Mayo SJ and Benko-Iseppon AM (2014) Chromosomal diversity in *Philodendron* (Araceae): taxonomic significance and a critical review. *Plant Syst Evol* 300:1111-1122.
- Croat TB (1997) A revision of *Philodendron* subgenus *Philodendron* (Araceae) for Mexico and Central America. *Ann Mo Bot Gard* 84:311-704.
- Dolezel J, Bartos J, Voglmayr H, Greilhuber J (2003) Nuclear DNA content and genome size of trout and human. *Cytometry A* 51:127-128.
- Du J, Tian Z, Hans CS, Laten HM, Cannon SB, Jackson SA, Shoemaker RC and Ma J (2010) Evolutionary conservation, diversity and specificity of LTR-retrotransposons in flowering plants: insights from genome-wide analysis and multi-specific comparison. *Plant J* 63:584-98.
- Estep MC, DeBarry JD and Bennetzen JL (2013) The dynamics of LTR retrotransposon accumulation across 25 million years of panicoid grass evolution. *Heredity* 110:194-204.
- Fajkus P, Peška V, Sitová Z, Fulnečková J, Dvořáčková M, Gogela R, Sýkorová E, Hapala J and Fajkus J (2016) *Allium* telomeres unmasked: the unusual telomeric sequence (CTCGGTTATGGG)_n is synthesized by telomerase. *Plant J* 85:337-347.
- Galindo-González L, Mhiri C, Deyholos MK and Grandbastien M-A (2017) LTR-retrotransposons in plants: Engines of evolution. *Gene* 626:14-25.
- Gao X, Hou Y, Ebina H, Levin HL and Voytas DF (2008) Chromodomains direct integration of retrotransposons to heterochromatin. *Genome Res* 18:359-369.
- Gauthier MPL, Barabe D and Bruneau A (2008) Molecular phylogeny of the genus *Philodendron* (Araceae): delimitation and infrageneric classification. *Bot J Linn Soc* 156:13-27.
- Ghosh P, Mukherjee S and Sharma AK (2001) Cytophotometric estimation of in situ DNA content in several species of Araceae. *Cytobios* 105:177-183.
- Gong ZY, Wu YF, Koblížková A, Torres GA, Wang K, Iovene M, Neumann P, Zhang WL, Novák P, Buell CR, Macas J and Jiang JM (2012) Repeatless and repeat-based centromeres in potato: implications for centromere evolution. *Plant Cell* 24:3559-3574.
- González LG and Deyholos MK (2012) Identification, characterization and distribution of transposable elements in the flax (*Linum usitatissimum* L.) genome. *BMC Genomics* 13:644.

- Grayum MH (1996) Revision of *Philodendron* subgenus *Pteromischum* (Araceae) for Pacific and Caribbean tropical America. Syst Bot Monogr 47:1-233.
- He L, Liu J, Torres GA, Zhang H, Jiang J and Xie C (2013) Interstitial telomeric repeats are enriched in the centromeres of chromosomes in *Solanum* species. Chromosome Res 21:5-13.
- He Q, Cai Z, Hu T, Liu H, Bao C, Mao W and Jin W (2015) Repetitive sequence analysis and karyotyping reveals centromere-associated DNA sequences in radish (*Raphanus sativus* L.). BMC Plant Biol 15: 105.
- Huang Y, Luo L, Hu X, Yu F, Yang Y, Deng Z, Wu J, Chen R and Zhang M (2017) Characterization, Genomic Organization, Abundance, and Chromosomal Distribution of Ty1-copia Retrotransposons in *Erianthus arundinaceus*. Front Plant Sci 7:924.
- Ijdo JW, Wells RA, Baldini A and Reeder ST (1991) Improved telomere detection using a telomere repeat probe (TTAGGG)_n generated by PCR. Nucleic Acids Res 13:17.
- Jiang J and Gill BS (2006) Current status and the future of fluorescence in situ hybridization (FISH) in plant genome research. Genome 49:1057-1068.
- Jiao Y, Leebens-Mack J, Ayyampalayam S, Bowers JE, McKain MR, McNeal J, Rolf M, Ruzicka DR, Wafula E, Wickett NJ et al. (2012) A genome triplication associated with early diversification of the core eudicots. Genome Biol 13:R3.
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran C, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A et al (2012) Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. Bioinformatics 28:1647-1649.
- Kikuchi S, Tsujimoto H, Sassa H and Koba T (2010) JcSat1, a novel subtelomeric repeat of *Jatropha curcas* L. and its use in karyotyping. Chromosome Science 13:11-16.
- Kim S and Choi D (2018) New Role of LTR-Retrotransposons for Emergence and Expansion of Disease-Resistance Genes and High-Copy Gene Families in Plants. BMB Rep 51:55-56.
- Kordis D (2005) A genomic perspective on the chromodomain-containing retrotransposons: Chromoviruses. Gene 347:161-173.

- Lakshmanan PS, Laere KV, Eeckhaut T, Huylenbroeck JV, Bockstaele EV and Khrustaleva L (2015) Karyotype analysis and visualization of 45S rRNA genes using fluorescence in situ hybridization in aroids (Araceae). *Comp Cytogenet* 9:145-160.
- Li SF, Su T, Cheng GQ, Wang BX, Li X, Deng CL and Gao WJ (2017) Chromosome Evolution in Connection with Repetitive Sequences and Epigenetics in Plants. *Genes* 24:10.
- Llorens C, Futami R, Covelli L, Domínguez-Escribá L, Viu JM, Tamarit D, Aguilar-Rodríguez J, Vicente-Ripolles M, Fuster G, Bernet GP, Maumus F, Munoz-Pomer A, Sempere JM, Latorre A and Moya A (2011) The Gypsy Database (GyDB) of mobile genetic elements: release 2.0. *Nucleic Acids Res* 39:D70-D74.
- Lopes FR, Jjingo D, da Silva CRM, Andrade AC, Marraccini P, Teixeira JB, Carazzolle MF, Pereira GA, Pereira LF, Vanzela AL, Wang L, Jordan IK and Carareto CM (2013) Transcriptional activity, chromosomal distribution and expression effects of transposable elements in *Coffea* genomes. *PloS ONE* 8:e78931.
- Loss-Oliveira L, Sakuragui C, Soares ML and Schrago CG (2016) Evolution of *Philodendron* (Araceae) species in Neotropical biomes. *PeerJ* 4:e1744.
- Lysak MA and Schubert I (2013) Mechanisms of chromosome rearrangements. *Plant Genome Diversity* 2:137-147.
- Macas J and Neumann P (2007) Ogre elements — a distinct group of plant Ty3/gypsy-like retrotransposons. *Gene* 390:108-116.
- Mandáková T, Pouch M, Harmanová K, Zhan SH, Mayrose I and Lysak MA (2017) Multispeed genome diploidization and diversification after an ancient allopolyploidization. *Mol Ecol* 26:6445-6462.
- Mayo SJ (1991) A revision of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). *Kew Bulletin*, 46:601-681.
- Michaels SD, John MC and Amasino RM (1994) Removal of polysaccharides from plant DNA by ethanol precipitation. *Biotechniques* 17:274-276.
- Mlinarec J, Franjevi D, Harapin J and Besendorfer V (2016) The impact of the Tekay chromoviral elements on genome organisation and evolution of *Anemone* s.l. (Ranunculaceae). *Plant Biology* 18:332-347.

- Morgante M, De Paoli E and Radovic S (2007) Transposable elements and the plant pan-genomes. *Curr Opin Plant Biol* 10:149-155.
- Navajas-Pérez R, Schwarzacher T, Rejón MR and Garrido-Ramos MA (2009) Characterization of RUSI, a telomere-associated satellite DNA, in the genus *Rumex* (Polygonaceae). *Cytogenet Genome Res* 124:81-89.
- Neumann P, Požarkova D and Macas J (2003) Highly abundant pea LTR retrotransposon *Ogre* is constitutively transcribed and partially spliced. *Plant Mol Biol* 53:399-410.
- Neumann P, Koblížková A, Navrátilová A and Macas J (2006) Significant expansion of *Vicia pannonica* genome size mediated by amplification of a single type of giant retroelement. *Genetics* 173:1047-56.
- Novák P, Neumann P and Macas J (2010) Graph-based clustering and characterization of repetitive sequences in next-generation sequencing data. *Bioinformatics* 11:378.
- Novák P, Hribová E, Neumann P, Koblížková A, Dolezel J and Macas J (2014) Genome-Wide Analysis of Repeat Diversity across the Family Musaceae. *PLoS ONE* 9:e98918.
- Novák P, Ávila LR, Koblížková A, Vrbová I, Neumann P and Macas J (2017) TAREAN: a computational tool for identification and characterization of satellite DNA from unassembled short reads. *Nucleic Acids Res* 45:e111.
- Novikova O (2009) Chromodomains and LTR retrotransposons in plants. *Commun Integr Biol* 2:158-162.
- Olszewska MJ and 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. *Biochem Physiol Pflanz* 177:319-336.
- Pellicer J, Kelly LJ, Magdalena C and 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.
- Piednoël M, Sousa A and Renner SS (2015) Transposable elements in a clade of three tetraploids and a diploid relative, focusing on Gypsy amplification. *Mobile DNA* 6:5.
- Piégu B, Bire S, Arensburger P and Bigot Y (2015) A survey of transposable element classification systems – A call for a fundamental update to meet

- the challenge of their diversity and complexity. *Mol Phylogenet Evol* 86:90-109.
- Piégu B, Guyot R, Picault N, Roulin A, Sanyal A, Saniyal A, Kim H, Collura K, Brar DS, Jackson S, Wing RA and Panaud O (2016) Doubling genome size without polyploidization: dynamics of retrotransposition-driven genomic expansions in *Oryza australiensis*, a wild relative of rice. *Genome Res* 16:1262-1269.
- Proost S, Pattyn P, Gerats T and Van de Peer Y (2011) Journey through the past: 150 million years of plant genome evolution. *Plant J* 66:58-65.
- Puterova J, Razumova O, Martinek T, Alexandrov O, Divashuk M, Kubat Z, Hobza R, Karlov G and Kejnovsky E (2017) Satellite DNA and Transposable Elements in Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*), a Dioecious Plant with Small Y and Large X Chromosomes. *Genome Biol Evol* 9:197-212.
- Qiu F and Ungerer MC (2018) Genomic abundance and transcriptional activity of diverse gypsy and copia long terminal repeat retrotransposons in three wild sunflower species. *BMC Plant Biol* 18:6.
- Ribeiro T, Dos Santos KG, Richard MM, Sévignac M, Thareau V, Geffroy V and Pedrosa-Harand A (2017) Evolutionary dynamics of satellite DNA repeats from *Phaseolus beans*. *Protoplasma* 254:791-801.
- Sakuragui CM, Calazans LSB, Loss-Oliveira L, Morais EB, Benko-Iseppon AM, Vasconcelos S, Schrago CEG and Mayo SJ (2018) Recognition of the genus *Thaumatococcus* Schott – formerly *Philodendron* subg. *Meconostigma* (Araceae) – based on molecular and morphological evidence. *PhytoKeys* 98:51-71.
- Silva HML, Vasconcelos EV, Benko-Iseppon AM, Wagner N, Weising K and Brasileiro-Vidal AC (2016) Chromosomal features of *Fosterella* species (Bromeliaceae, Pitcairnioideae). *Bot J Linn Soc* 181:532-541.
- Sonnhammer EL and Durbin R (1995) A dot-matrix program with dynamic threshold control suited for genomic DNA and protein sequence analysis. *Gene* 167:1-10.
- Sousa A, Cusimano N and Renner SS (2014) Combining FISH and model-based predictions to understand chromosome evolution in *Typhonium* (Araceae). *Ann Bot* 113:669-680.

- Sousa A and Renner SS (2015) Interstitial telomere-like repeats in the monocot family Araceae. *Bot J Linn Soc* 177:15-26.
- Souza G, Vanzela ALL, Crosa O and Guerra M (2016) Interstitial telomeric sites and Robertsonian translocations in species of *Ipheion* and *Nothoscordum* (Amaryllidaceae). *Genetica* 144:157-166.
- Sykorova E, Lim KY, Fajkus J and Leitch AR (2003a) The signature of the *Cestrum* genome suggests an evolutionary response to the loss of (TTTAGGG)_n telomeres. *Chromosoma* 112:164-172.
- Sykorova E, Lim KY, Kunicka Z, Chase MW, Bennett MD, Fajkus J and Leitch AR (2003b) Telomere variability in the monocotyledonous plant order Asparagales. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 270:1893-1904.
- Tetreault HM and Ungerer MC (2016) Long Terminal Repeat Retrotransposon Content in Eight Diploid Sunflower Species Inferred from Next-Generation Sequence Data. *G3* 6: 2299-2308.
- Untergasser A, Cutcutache I, Koressaar T, Ye J, Faircloth BC, Remm M and Rozen SG (2012) Primer3 - new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res* 40:e115.
- Vasconcelos S, Soares ML, Sakuragui CM, Croat TB, Oliveira G and Benko-Iseppon AM (2018) New insights on the phylogenetic relationships among the traditional *Philodendron* subgenera and the other groups of the *Homalomena* clade (Araceae). *Mol Phylogenet Evol* 127:168-178.
- Vasconcelos EV, Brasileiro-Vidal AC, Benko-Iseppon AM and Vasconcelos S (2017) Updating the list of chromosome numbers for *Philodendron* (Araceae). *Acta Bot Bras* 31:309-312.
- Vasconcelos EV, Ribeiro T, Vasconcelos S, Benko-Iseppon AM and Brasileiro-Vidal AC. Radom distribution of 35S rDNA in *Philodendron* Schott (Araceae) species, em preparação.
- Vitte C, Panaud O and Quesneville H (2007) LTR retrotransposons in rice (*Oryza sativa*, L.): recent burst amplifications followed by rapid DNA loss. *BMC Genomics* 8:218.
- Wang W, Feng B, Xiao J, Xia Z, Zhou X, Li P, Zhang W, Wang Y, Møller BL, Zhang P et al. (2014) Cassava genome from a wild ancestor to cultivated varieties. *Nat Commun* 10:5110.

- Weising K, Nybom H, Wolff K and Kahl G (2005) DNA Fingerprinting in plants, principles, methods, and applications. 2^a Edição. Boca Raton: CRC Press, 444p.
- Wicker T and Keller B (2007) Genome-wide comparative analysis of copia retrotransposons in Triticeae, rice, and *Arabidopsis* reveals conserved ancient evolutionary lineages and distinct dynamics of individual copia families. *Genome Res* 17:1072-1081.
- Wicker T, Sabot F, Hua-Van A, Bennetzen JL, Capy P, Chalhoub B, Flavell A, Leroy P, Morgante M, Panaud O, Paux E, SanMiguel P and Schulman AH (2007) A unified classification system for eukaryotic transposable elements. *Nat Rev Genet* 8:973-982.
- Zhang Q-J and Gao L-Z (2017) Rapid and Recent Evolution of LTR Retrotransposons Drives Rice Genome Evolution During the Speciation of AA-Genome *Oryza* Species. *G3* 7:1875-1885.
- Zhang W, Zuo S, Li Z, Meng Z, Han J, Song J, Pan YB and Wang K (2017a) Isolation and characterization of centromeric repetitive DNA sequences in *Saccharum spontaneum*. *Sci Rep* 30:41659.
- Zhang Y, Fan C, Li S, Chen Y, Wang RR-C, Zhang X, Han F and Hu Z (2017b) The Diversity of Sequence and Chromosomal Distribution of New Transposable Element-Related Segments in the Rye Genome Revealed by FISH and Lineage Annotation. *Front Plant Sci* 8:1706.
- Zhu Q, Cai Z, Tang Q and Jin W (2016) Repetitive sequence analysis and karyotyping reveal different genome evolution and speciation of diploid and tetraploid *Tripsacum dactyloides*. *Crop Journal* 4:247-255.
- Zonneveld BJM, Leitch IJ and Bennett MD (2005) First nuclear DNA amounts in more than 300 angiosperms. *Ann Bot* 96:229-244.

7 DISCUSSÃO GERAL

Neste trabalho foi realizado um estudo citogenômico envolvendo um total de 34 espécies ($2n = 28$ a 36), 29 espécies pertencentes ao gênero *Philodendron* e cinco a *Thaumatococcus*, a fim de auxiliar no entendimento da diversidade genética do grupo. Uma grande variabilidade cariotípica foi revelada em relação ao número e à distribuição dos sítios de DNAr 35S para *Philodendron* (dois a 16 sítios). O mesmo parece não ocorrer em *Typhonium*, o gênero de Araceae melhor estudado citogeneticamente até o momento. Dentre as 10 espécies analisadas por Sousa *et al.* (2014), oito apresentaram quatro sítios. Apenas *T. circinnatum* Hett. & J.Mood e *T. laoticum* Gagnep apresentaram 16 e dois sítios de DNAr 35S, respectivamente. Por outro lado, *Thaumatococcus* apresentou menor variação (dois ou quatro sítios terminais), indicando maior homogeneidade entre os cariótipos. Adicionalmente, para ambos os gêneros foi observada maior estabilidade quanto aos sítios de DNAr 5S. Apesar de existirem poucos trabalhos publicados com FISH utilizando sondas de DNAr em espécies da família Araceae (16 gêneros), pôde-se observar uma conservação no número de sítios de DNAr 5S dentro do grupo, uma vez que as espécies analisadas até o momento apresentaram, em sua maioria, um par de cromossomos portador de DNAr 5S localizados principalmente nas regiões subterminal e intercalar (Sousa *et al.*, 2014; Sousa e Renner, 2015).

Em *Philodendron*, embora apenas duas das 29 espécies analisadas tenham apresentado número ímpar de sítios para DNAr, 11 espécies apresentaram heteromorfismos de posição de sítios ou de tipos cromossômicos portadores, de modo semelhante ao observado em *Scadoxus multiflorus* Martyn (Amaryllidaceae) (Monkheang *et al.*, 2016). Números ímpares de sítios de DNAr em espécies consideradas diploides têm sido observados em menor proporção em cariótipos de plantas. Em Araceae, a presença de três sítios também foi relatada para DNAr 5S [*Cyrtosperma merkusii* e *Englerarum hypnosum* (Sousa e Renner, 2015)] e para DNAr 35S [*C. merkusii* e *Spathiphyllum pygmaeum* (Sousa e Renner, 2015)], assim como observado, no presente trabalho em *P. bipennifolium* e *P. angustilobum*, respectivamente. Heteromorfismo de número de sítios de DNAr também foi observado na espécie de Rutaceae *Murraya koenigii* (L.) Spreng (como *Berberis koenigii* L.), que apresentou cinco sítios de DNAr 35S

(Barros e Silva *et al.*, 2013). A presença de heteromorfismos para os tipos cromossômicos é considerado um possível indício de cruzamentos interespecíficos (Carvalho *et al.*, 2005; Brasileiro-Vidal *et al.*, 2007; Barros e Silva *et al.*, 2010, 2013; Yi *et al.*, 2018).

A fim de tentar elucidar os diversos mecanismos que proporcionam a enorme variação no padrão de distribuição dos sítios de DNAr em vegetais, várias hipóteses têm sido propostas (Hall e Parker, 1995; Takahashi, 2003; Raskina *et al.*, 2004ab; Kobayashi, 2006; Eickbush e Eickbush, 2007; Cohen *et al.*, 2008, 2010; Guo *et al.*, 2014; Dvořáková *et al.*, 2015). Uma das hipóteses mais antigas é a do modelo de dispersão, amplificação e deleção, proposto por Dubcovsky e Dvořák (1995). Outros mecanismos foram sugeridos para explicar a variação dos sítios de DNAr, como a recombinação não homóloga, principalmente relacionada às posições terminais destes sítios nos cromossomos (Rosato *et al.*, 2017). O DNAr tem sido considerado um sítio frágil, devido a repetitividade de locus, resultando em *hotspots* para recombinação e para quebras seguidas de rearranjos cromossômicos, gerando por consequência alterações estruturais nos cromossomos e variações no número e localização de sítios de DNAr (Huang *et al.*, 2008, 2012; Singh e Barman, 2013; Tchurikov *et al.*, 2015; Lan *et al.*, 2016).

Por outro lado, mudanças no número de sítios de DNAr por ação de retrotransposons que são acumulados nas proximidades dos loci de DNAr, têm sido relatados tanto para variações ao nível intraespecífico quanto intragenérico (Raskina *et al.*, 2004ab; Kalendar *et al.*, 2008). Em uma análise de 50 espécies de plantas, incluindo o grupo das samambais e angiospermas, por exemplo, a atividade de um retrotransposon não autônomo, nomeado *Cassandra*, que transporta sequências de RNAr 5S conservadas, parece estar parcialmente relacionada à distribuição variável do DNAr 5S (Kalendar *et al.*, 2008). Adicionalmente, em *Allium cernuum* Roth (Amaryllidaceae), o segmento de um retrotransposon do tipo *copia-like* denominado “relíquia” e localizado na região IGS do DNAr 35S, parece estar relacionado ao aumento no número de cópias e à dispersão deste DNAr via mecanismos de homogeneização (Chester *et al.*, 2010).

Retrotransposons foram abundantes nos genomas de seis espécies de *Philodendron* analisadas através da plataforma RepeatExplorer. Diferentes proporções foram observadas para as linhagens das superfamílias Ty1-*Copia* e Ty3-*Gypsy*, com a fração de DNA repetitivo destes genomas variando em torno

de 55,6%. Proporções superiores foram observadas para genomas vegetais com maiores conteúdos de DNA, 80-85% em *Helianthus annuus* L. (Asteraceae) e *Zea luxurians* (Durieu & Asch.) R.M.Bird (Poaceae) (Tenaillon *et al.*, 2011; Staton *et al.*, 2012). Quando comparadas as proporções de DNA repetitivo descritas para plantas com tamanhos de genoma menores, como *H. rhamnoides*, foi verificado que 58,5% de seu genoma é constituído por sequências repetitivas (Puterova *et al.*, 2017), semelhante ao observado no gênero *Philodendron*. Adicionalmente, a abundância de retrotransposons LTR, que representa 80,2 % em média da fração repetitiva do gênero, é uma característica comum em plantas, uma vez que esta classe de elementos transponíveis foi indicada como a força que direciona a evolução dos genomas vegetais (Kim e Choi, 2018; Qiu e Ungerer, 2018).

Philodendron callosum, *P. melinonii*, *P. blanchetianum* e *P. quinquenervium* apresentaram proporções de DNA repetitivo em torno de 62-67% apesar de estarem agrupadas em diferentes clados dentro do subgênero *Philodendron* (Vasconcelos *et al.*, 2018). Neste caso, a semelhança na proporção da fração repetitiva se opõe as diferentes proporções observadas quando avaliadas as linhagens Angela, Maximus (Ty1-*Copia*) e Ogre (Ty3-*Gypsy*). Quando avaliados em conjunto, estes resultados sugerem que diferentes famílias de DNA repetitivo estão sendo amplificadas e/ou eliminadas ao longo do tempo de divergência dessas espécies, indicando uma rápida evolução desses genomas, o que parece ser uma característica de plantas com genomas menores onde a amplificação de algumas famílias de DNA repetitivo parece ser o principal contribuidor para a evolução desses genomas (Bennetzen e Wang, 2014; Macas *et al.*, 2015). Diferentemente, para plantas com genomas maiores a evolução genômica parece ocorrer devido a relativa ausência de deleções e baixo *turnover* do DNA repetitivo (Kelly *et al.*, 2015).

Ainda, para detectar traços remanescentes de disploidia no gênero, sondas de DNA telomérico foram utilizadas, a fim de verificar a possível presença de sinais intersticiais (ITRs, *Interstitial telomeric repeats*) comuns em séries disploides, como observado para *Nothoscordum* Kunth e *Ipheion* Raf., ambos pertencentes à família Amaryllidaceae (Souza *et al.*, 2016), como também em *Typhonium* (Souza *et al.*, 2014; Sousa e Renner, 2015). Esses ITRs podem ser oriundos de eventos de fusão (Fuchs *et al.*, 1995), inversão (Fuchs *et al.*, 1995; He *et al.*, 2013), amplificações e transposições (Souza *et al.*, 2016) ou erros

durante o processo de replicação do DNA (Lin e Yan, 2008; Ruiz-Herrera *et al.*, 2008). Os ITRs não foram observados em *P. giganteum* ($2n = 30$), sugerindo que os resquícios de sequências teloméricas intersticiais teriam se perdido ao longo da evolução cariotípica do grupo ou estariam presentes em curtos arranjos não detectáveis por FISH (He *et al.*, 2013; Calixto *et al.*, 2014). Adicionalmente, identificamos que os sinais teloméricos pericentroméricos observados em *P. callosum* ($2n = 28$) estão relacionados à presença de DNA satélite, como relatado para *Rumex induratus* Boiss & Reuter (Polygonaceae), *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae), e para acessos de tomate, berinjela e batata (Solanaceae) (Navajas-Pérez *et al.*, 2009; Kikuchi *et al.*, 2010; Gong *et al.*, 2012; He *et al.*, 2013).

Nosso trabalho fornece uma visão geral da composição e da diversidade da fração de DNA repetitivo do genoma de espécies de *Philodendron* e de *Thaumatococcus*, contudo esse panorama pode variar na medida que mais espécies sejam analisadas, uma vez que o gênero possui ampla distribuição geográfica e o DNA repetitivo possui rápida evolução nos genomas vegetais.

8 CONCLUSÕES

1. Nossos dados de contagens cromossômicas corroboram os números diploides previamente publicados para *Philodendron* e para *Thaumatococcus*, com exceção de *P. erubescens* e *P. lacerum*.
2. De acordo com os dados de contagem, não há indicativo de eventos de poliploidia no grupo, mas possivelmente eventos de disploidia estejam envolvidos nas diferenças de números cromossômicos (não comprovados com uso de sonda telomérica *Arabidopsis-like*).
3. Há grande variabilidade para número e localização de sítios de DNAr 35S em *Philodendron s.l.*, o que sugere a ocorrência de expansões e/ou contrações do DNA repetitivo nos genomas de algumas espécies, ou de rearranjos cromossômicos, associados possivelmente a eventos de hibridização interespecífica.
4. Os tamanhos dos genomas não estão diretamente relacionados à variação no número de sítios de DNAr 35S.
5. A distribuição aleatória dos sítios de DNAr 35S, independente das seções propostas previamente na filogenia para o subgênero, corrobora o não monofiletismo desses grupos.
6. Chromovirus e Ogre-tat, do grupo dos retrotransposons Ty3-Gypsy parecem ser os responsáveis pela diversidade genômica do DNA repetitivo em *Philodendron*.

REFERÊNCIAS

- Adams, S.P. et al. Loss and recovery of Arabidopsis-type telomere repeat sequences 50-(TTAGGG)_n-30 in the evolution of a major radiation of flowering plants. **Proc R Soc Lond**, v. 268, p. 1541-1546, 2001.
- Almeida, C.; Pedrosa-Harand, A. Contrasting rDNA evolution in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and common bean (*P. vulgaris* L., Fabaceae). **Cytogenet Genome Res**, v. 132, p. 212-217, 2011.
- Badaeva, E.D.; Friebe, B.; Gill, B.S. Genome differentiation in *Aegilops*. 2. Physical mapping of 5S and 18S-26S ribosomal RNA gene families in diploid species. **Genome**, v. 39, p. 1150-1158, 1996.
- Barros e Silva, A.E. et al. The evolution of CMA bands in *Citrus* and related genera. **Chromosome Res**, v. 18, p. 503-514, 2010.
- Barros e Silva, A.E.; dos Santos Soares Filho, W.; Guerra, M. Linked 5S and 45S rDNA Sites Are Highly Conserved through the Subfamily Aurantioideae (Rutaceae). **Cytogenet Genome Res**, v. 140, p. 62-69, 2013.
- Begum, K.N.; Alam, S.S. Karyotype Analysis in Three Morphological Forms of *Colocasia fallax* Schott. **Cytologia**, v. 74, p. 209-214, 2009.
- Belyayev, A.A.; Raskina, O.M. Dynamics of Highly Repetitive DNA Fraction as Indicator of Speciation in Species of the Family Poaceae. **Russ J Genet**, v. 46, p. 1122-1124, 2010.
- Bennett, M.D.; Leitch, I.J. Plant DNA C-values database (Release 8.0). Disponível em: <http://data.kew.org/cvalues/>. 2012.
- Bennetzen, J.L.; Ma, J.; Devos, K.M. Mechanisms of Recent Genome Size Variation in Flowering Plants. **Ann Bot**, v. 95, p. 127-132, 2005.
- Bennetzen, J.L.; Wang, H. The contributions of transposable elements to the structure, function, and evolution of plant genomes. **Annu Rev Plant Biol**, v. 65, p. 505-530, 2014.
- Biscotti, M.A.; Olmo, E.; Heslop-Harrison, J.S. (Pat) Repetitive DNA in eukaryotic genomes. **Chromosome Res**, v. 23, p. 415-420, 2015.
- Bogner, J.; Petersen, G. The chromosome numbers of the aroid genera. **Aroideana**, v. 30, p. 82-90, 2007.
- Bown, D. Aroids: plants of the Arum family. Oregon, tiber press, Portland. 2000.
- Boyce, P.C.; Croat, T.B. *The Überlist of Araceae*, totals for published and estimated number of species in aroid genera. Disponível em: <http://www.aroid.org/genera/180211uberlist.pdf>. 2018.

Brammer, S.P.; Toniazzo, C.; Poersch, L.B. Dyes usually employed in plant cytogenetics. *Biotechnology / Scientific Communication in Arquivos do Instituto Biológico, São Paulo*, v. 82, p. 1-8, 2015.

Brasileiro-Vidal, A.C. et al. A simple chromosomal marker can reliably distinguishes *Poncirus* from *Citrus* species. **Genetica**, v. 129, p. 273-279, 2007.

Bucher, E.; Reinders, J.; Mirouze, M. Epigenetic control of transposon transcription and mobility in *Arabidopsis*. **Curr Opin Plant Biol**, v. 15, p. 503-510, 2012.

Cai, Q. et al. Chromosomal localization of 5S and 18S rDNA in five species of subgenus *Strobilus* and their implications for genome evolution of *Pinus*. **Ann Bot**, v. 97, p. 715-722, 2006.

Calixto, M. et al. Patterns of rDNA and telomeric sequences diversification: contribution to repetitive DNA organization in Phyllostomidae bats. **Genetica**, v. 142, p. 49-58, 2014.

Caperta, A.D. et al. Relationships between transcription, silver staining, and chromatin organization of nucleolar organizers in *Secale cereale*. **Protoplasma**, v. 232, p. 55-59, 2007.

Carvalho, R. The relationship among lemons, limes and citron: a chromosomal comparison. **Cytogenet Genome Res**, v. 109, p. 276-282, 2005.

Castellar, A. Essential oil from *Philodendron fragrantissimum*, an aromatic Araceae from Amazonia, Brazil. **J Essent Oil Res**, v. 25, p. 194-197, 2013.

Castro, C. et al. Nucleolar activity and physical location of ribosomal DNA loci in *Vitis vinifera* L. by silver staining and sequential FISH. **Sci Hort**, v. 232, p. 57-62, 2018.

Ceccarelli, M. et al. Ogre retrotransposons in *Lathyrus* species. **Plant Biosyst**, v. 147, p. 99-104, 2013.

Chester, M. et al. Single integration and spread of a copia-like sequence nested in rDNA intergenic spacers of *Allium cernuum* (Alliaceae). **Cytogenet Genome Res**, v. 129, p. 35-46, 2010.

Coelho, M. et al. Araceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015.

Cohen, S.; Houben, A.; Segal, D. Extrachromosomal circular DNA derived from tandemly repeated genomic sequences in plants. **Plant J**, v. 53, p. 1027-1034, 2008.

Cohen, S. et al. Extrachromosomal circles of satellite repeats and 5S ribosomal DNA in human cells. **Mobile DNA**, v. 1, p. 11, 2010.

Correia-da-silva, M. Caracterização genética de Araceae, com ênfase em espécies da amazônia brasileira. Tese - Universidade Federal de Pernambuco, 202 p. 2007.

Correia-da-Silva, M. et al. Chromosomal diversity in *Philodendron* (Araceae): taxonomic significance and a critical review. **Plant Syst Evol**, v. 300, p. 1111-1122, 2014.

Croat, T.B. A revision of *Philodendron* subgenus *Philodendron* (Araceae) for Mexico and Central America. **Ann Mo Bot Gard**, v. 84, p. 311-704, 1998.

Cuadrado, A.; Jouve, N. Evolutionary trends of different repetitive DNA sequences during speciation in genus *Secale*. **J Hered**, v. 93, p. 339-345, 2002.

Cusimano, N. et al. Relationships within the Araceae: comparison of morphological patterns with molecular phylogenies. **Am J Bot**, 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'. **Ann Bot**, v. 109, p. 681-692, 2012.

Da Silva, C.R.; Gonzalez-Elizondo, M.S.; Vanzela, A.L. Reduction of chromosome number in *Eleocharis subarticulata* (Cyperaceae) by multiple translocations. **Bot J Linn Soc**, v. 149, p. 457-464, 2005.

Dubcovsky, J.; Dvořák, J. Ribosomal RNA multigene loci: Nomads of the triticeae genomes. **Genetics**, v. 140, p. 1367-1377, 1995.

Dvořáčková, M.; Fojtová, M.; Fajkus, J. Chromatin dynamics of plant telomeres and ribosomal genes. **Plant J**, v. 83, p. 18-37, 2015.

Eickbush, T.H.; Eickbush, D.G. Finely orchestrated movements: Evolution of the ribosomal RNA genes. **Genetics**, v. 175, p. 477-485, 2007.

Emadzade, K. et al. Differential amplification of satellite PaB6 in chromosomally hypervariable *Prospero autumnale* complex (Hyacinthaceae). **Ann Bot**, v. 114, p. 1597-1608, 2014.

Espíndola, A. et al. New insights into the phylogenetics and biogeography of *Arum* (Araceae): unravelling its evolutionary history. **Bot J Linn Soc**, v. 163, p. 14-32, 2010.

Fajkus, P. et al. *Allium* telomeres unmasked: the unusual telomeric sequence (CTCGGTTATGGG)_n is synthesized by telomerase. **Plant J**, v. 85, p. 337-347, 2016.

Fonsêca, A.; Ferraz, M.E.; Pedrosa-Harand, A. Speeding up chromosome evolution in *Phaseolus*: multiple rearrangements associated with a one-step descending dysploidy. **Chromosoma**, v. 125, p. 413-421, 2016.

French, J.C.; Chung, M.; Hur, Y. Chloroplast DNA phylogeny of the Ariflorae. In: Rudall PJ, Cribb PJ, Cutler DF, Humphries CJ, eds. Monocotyledons: systematics and evolution. Richmond: Royal Botanical Garden, Kew, 255-275. 1995.

Fuchs, J.; Brandes, A.; Schubert, I. Telomere sequence localization and karyotype evolution in higher plants. **Plant Syst Evol**, v. 196, p. 227-241, 1995.

Fulnecková, J. et al. A broad phylogenetic survey unveils the diversity and evolution of telomeres in eukaryotes. **Genome Biol Evol**, v. 5, p. 468-483, 2013.

Garcia, S. et al. Cytogenetic features of rRNA genes across land plants: analysis of the Plant rDNA database. **Plant J**, v. 89, p. 1020-1030, 2017.

Garrido-Ramos, M.A. Satellite DNA in Plants: More than Just Rubbish. **Cytogenet Genome Res**, v. 146, p.153-170, 2015.

Garrido-Ramos, M.A. Satellite DNA: An Evolving Topic. **Genes**, v. 8, p. 230, 2017.

Gauthier, M.P.L.; Barabe, D. Bruneau, A. Molecular phylogeny of the genus *Philodendron* (Araceae): delimitation and infrageneric classification. **Bot J Linn Soc**, v. 156, p. 13-27, 2008.

Gong, Z.Y. et al. Repeatless and repeat-based centromeres in potato: implications for centromere evolution. **Plant Cell**, v. 24, p. 3559-3574, 2012.

González, M.L.; Chiapella, J.O.; Urdampilleta, J.D. Characterization of some satellite DNA families in *Deschampsia antarctica* (Poaceae). **Polar Biol**, v. 41, p. 457-468, 2018.

Gorinsek, B.; Gubensek, F.; Kordis, D. Evolutionary Genomics of Chromoviruses in Eukaryotes. **Mol Biol Evol**, v. 21, p. 781-798, 2004.

Grayum, M.H. Evolution and phylogeny of the Araceae. **Ann Mo Bot Gard**, v. 77, p. 628-297, 1990.

Grayum, M.H. Revision of *Philodendron* subgenus *Pteromischum* (Araceae) for Pacific and Caribbean tropical America. **Syst Bot Monogr**, v. 47, p. 1-233, 1996.

Grundler, P. et al. rDNA intergenic region from *Arabidopsis thaliana*: structural analysis, intraspecific variation and functional implications. **J Mol Biol**, v. 221, p. 1209-1222, 1991.

Guerra, M. Introdução a citogenética geral. editora guanabara, Rio de Janeiro, 154p. 1998.

Guerra, M. Hibridização *in situ*: Princípios Básicos. In: Guerra M (ed) FISH: Conceitos e Aplicações na Citogenética. Sociedade Brasileira de Genética: Ribeirão Preto, p. 1-32, 2004.

Guerra, M. Chromosome numbers in plant cytotaxonomy: concepts and implications. **Cytogenet Genome Res**, v. 120, p. 339-350, 2008.

Guerra, M. Cytotaxonomy: the end of childhood. **Plant Biosyst**, v. 146, p. 703-710, 2012.

Guo, X.; Han, F. Asymmetric epigenetic modification and elimination of rDNA sequences by polyploidization in wheat. **Plant Cell**, v. 26, p. 4311-4327, 2014.

Hall, K.J.; Parker, J.S. Stable chromosome fission associated with rDNA mobility. **Chromosome Res**, v. 7, p. 417-422, 1995.

He, L. et al. Interstitial telomeric repeats are enriched in the centromeres of chromosomes in *Solanum* species. **Chromosome Res**, v. 21, p. 5-13, 2013.

Hembelen, V. et al. Plant highly repeated satellite DNA: molecular evolution, distribution and use for identification of hybrids. **Syst Biodivers**, v. 5, p. 277-289, 2007.

Heslop-Harrison, J.S.; Schwarzacher, T. Organisation of the plant genome in chromosomes. **Plant J**, v. 66, p. 18-33, 2011.

Hobza, R. et al. Impact of repetitive DNA on sex chromosome evolution in plants. **Chromosome Res**, v. 23, p. 561-570, 2015.

Huang, J. et al. 45S rDNA regions are chromosome fragile sites expressed as gaps in vitro on metaphase chromosomes of root-tip meristematic cells in *Lolium spp.* **Plos One**, v. 3, p. e2167, 2008.

Huang, M. et al. Plant 45S rDNA Clusters Are Fragile Sites and Their Instability Is Associated with Epigenetic Alterations. **Plos One**, v. 7, p. e35139, 2012.

Huq, S. et al. Comparative Karyotype Analysis of *Typhonium trilobatum* L. and its two Morphological Forms. **Cytologia**, v. 72, p. 233-238, 2007.

Idziak, D. et al. Insight into the Karyotype Evolution of *Brachypodium* Species Using Comparative Chromosome Barcoding. **Plos One**, v. 9, p. e93503, 2014.

International Brachypodium Initiative. Genome sequencing and analysis of the model grass *Brachypodium distachyon*. **Nature**, v. 463, p. 763-768, 2010.

Iovene, M. et al. Major cytogenetic landmarks and karyotype analysis in *Daucus carota* and other Apiaceae. **Am J Bot**, v. 95, p. 793-804, 2008

Irume, M.V. et al. Floristic composition and community structure of epiphytic angiosperms in a terra firme forest in central Amazonia. **Acta Bot Bras**, v. 27, p. 378-393, 2013.

Jones, K. Robertsonian fusion and centric fission in karyotype evolution of higher plants. **Bot Rev**, v. 64, p. 273-289, 1998.

Kalendar, R. et al. Cassandra retrotransposons carry independently transcribed 5S RNA. **Proc Natl Acad of Sci**, v. 105, p. 5833-5838, 2008.

Kelly, L.J. et al. Analysis of the giant genomes of *Fritillaria* (Liliaceae) indicates that a lack of DNA removal characterizes extreme expansions in genome size. **New Phytol**, v. 208, p. 596-607, 2015.

Khemlebenb, V. et al. Satellite DNAs. **Uspekhi Biologicheskoi Khimii**, v. 43, p. 267-306, 2003.

Kikuchi, S. et al. JcSat1, a novel subtelomeric repeat of *Jatropha curcas* L. and its use in karyotyping. **Chromosome Sci**, v. 13, p. 11-16, 2010.

Kim, S.; Choi, D. New Role of LTR-Retrotransposons for Emergence and Expansion of Disease-Resistance Genes and High-Copy Gene Families in Plants. **BMB Reports**, v. 51, p. 55-56, 2018.

Kit, S. Equilibrium sedimentation in density gradients of DNA preparations from animal tissues. **J Mol Biol**, v. 3, p. 711-716, 1961.

Kobayashi, T. Strategies to maintain the stability of the ribosomal RNA gene repeats—collaboration of recombination, cohesion, and condensation. **Genes Genet Syst**, v. 81, p. 155-161, 2006.

Kolano, B. et al. Localization of ribosomal DNA and CMA₃/DAPI heterochromatin incultivated and wild *Amaranthus* species. **Sci Hortic**, v. 164, p. 249-255, 2013.

Köster, N.; Croat, T.B. A new section and a new species of *Philodendron* (Araceae) from Ecuador. **Willdenowia**, v. 41, p. 119-124, 2011.

Krause, K. Araceae-Philodendroideae-Phibdendreae-Philodendrinae. In: A. Engler (ed.), *Pflanzenr.* 60 (IV.23Db): p. 1-143. 1913.

Kupiec, M. Biology of telomeres: lessons from budding yeast. **FEMS Microbiol Rev**, v. 38, p. 144-171, 2014.

Kwiatek, M.; Wiśniewska, H.; Apolinarska, B. Cytogenetic analysis of *Aegilops* chromosomes, potentially usable in triticales (X Triticosecale Witt.) breeding. **J Appl Genet**, v. 54, p. 147-155, 2013.

Kwiatek, M. et al. Intraspecific Polymorphisms of Cytogenetic Markers Mapped on Chromosomes of *Triticum polonicum* L. **Plos One**, v. 11, p. e0158883, 2016.

Lakshmanan, P.S. et al. Karyotype analysis and visualization of 45S rRNA genes using fluorescence in situ hybridization in aroids (Araceae). **Comp Cytogenet**, v. 9, p. 145-160, 2015.

- Lan, H. et al. Fragile sites of 'Valencia' sweet orange (*Citrus sinensis*) chromosomes are related with active 45S rDNA. **Plos One**, v. 11, p. e0151512, 2016.
- Larsen, K. Cytology of vascular plants III. A study of thai Aroids. **Dansk Botanisk Arkiv**, v. 27, p. 39-59, 1969.
- Li, J. et al. Telomere and 45S rDNA sequences are structurally linked on the chromosomes in *Chrysanthemum segetum* L. **Protoplasma**, v. 249, p. 207-215, 2012.
- Li, S-F et al. Chromosome Evolution in Connection with Repetitive Sequences and Epigenetics in Plants. **Genes**, v. 8, p. 290, 2017.
- Lim, K.B. et al. Karyotype analysis of *Lilium longiflorum* and *Lilium rubellum* by chromosome banding and fluorescence in situ hybridisation. **Genome**, v. 44, p. 911-918, 2001.
- Lim, K.Y. et al. Parental origin and genome evolution in the allopolyploid *Iris versicolor*. **Ann Bot**, v. 100, p. 219-224, 2007.
- Lin, K.W.; Yan, J. Endings in the middle: current knowledge of interstitial telomeric sequences. **Mutat Res**, v. 658, p. 95-110, 2008.
- Lisch, D. How important are transposons for plant evolution? *Nature Reviews, Genetics*, v. 14, p. 49-61, 2013.
- Liu, Z.L. et al. Chromosomal localization of 5S and 18S-5.8S-25S ribosomal DNA sites in five Asian pines using fluorescence in situ hybridization. **Theor Appl Genet**, v. 106, p. 198-204, 2003.
- Llorens, C. et al. The Gypsy Database (GyDB) of mobile genetic elements: release 2.0. **Nucleic Acids Res**, v. 39, p. D70-D74, 2011.
- Lorenzi, H.; Souza, H.M. Plantas ornamentais no Brasil – arbustivas, herbáceas e trepadeiras. 3ª Edição. São Paulo: Instituto Plantarum, 1120 p. 2001.
- Loss-Oliveira, L. et al. Evolution of *Philodendron* (Araceae) species in Neotropical biomes. **PeerJ**, v. 4, p. e1744, 2016.
- Lower, S.S. et al. Satellite DNA evolution: old ideas, new approaches. **Curr Opin Genet Dev**, v. 49, p. 70-78, 2018.
- Luo, M.C. et al. Genome comparisons reveal a dominant mechanism of chromosome number reduction in grasses and accelerated genome evolution in Triticeae. **PNAS**, v. 106, p. 15780-15785, 2009.
- Lysak, M.A.; Schubert, I. Mechanisms of chromosome rearrangements. **Plant Genome Diversity**, v. 2, p. 137-147, 2013.

- Ma, J.; Devos, K.M.; Bennetzen, J.L. Analyses of LTR-retrotransposon structures reveal recent and rapid genomic DNA loss in rice. **Genome Res**, v. 14, p. 860-869, 2004.
- Macas, J.; Navrátilová, A.; Koblížková, A. Sequence homogenization and chromosomal localization of VicTR-B satellites differ between closely related *Vicia* species. **Chromosoma**, v. 115, p. 437-447, 2006.
- Macas, J.; Neumann, P. Ogre elements—a distinct group of plant Ty3/gypsy-like retrotransposons. **Gene**, v. 390, p. 108-116, 2007.
- Macas, J.; Mészáros, T.; Nouzová, M. PlantSat: a specialized database for plant satellite repeats. **Bioinformatics**, v. 18, p. 28-35, 2002.
- Macas, J. et al. In depth characterization of repetitive DNA in 23 plant genomes reveals sources of genome size variation in the legume Tribe *Fabeae*. **Plos One**, v. 10, p. e0143424, 2015.
- Majka, J. et al. Karyotype reshufflings of *Festuca pratensis* × *Lolium perenne* hybrids. **Protoplasma**, v. 255, p. 451-458, 2016.
- Mandáková, T. et al. The more the merrier: recent hybridization and polyploidy in *Cardamine*. **Plant Cell**, v. 25, p. 3280-3295, 2013.
- Marchant, C.J. Chromosome variation in Araceae V. Acoreae to Lasiae. **Kew Bull**, v. 28, p. 199-210, 1973.
- Marín, I.; Lloréns, C. Ty3/Gypsy Retrotransposons: Description of New *Arabidopsis thaliana* Elements and Evolutionary Perspectives Derived from Comparative. **Mol Biol Evol**, v. 17, p. 1040-1049, 2000.
- Mascagni, F. et al. Repetitive DNA and Plant Domestication: Variation in Copy Number and Proximity to Genes of LTR-Retrotransposons among Wild and Cultivated Sunflower (*Helianthus annuus*) Genotypes. **Genome Biol Evol**, v. 7, p. 3368-3382, 2015.
- Mayo, S.J. A revision of *Philodendron* subgenus *Meconostigma* (Araceae). **Kew Bull**, v. 46, p. 601-681, 1991.
- Mayo, S.J.; Bogner, J.; Boyce, P.C. The genera of Araceae. Richmond: Royal Botanic Gardens, Kew, 370 p. 1997.
- Mehrotra, S.; Goyal, V. Repetitive Sequences in Plant Nuclear DNA: Types, Distribution, Evolution and Function. **Genomics Proteomics Bioinformatics**, v. 12, p. 164-171, 2014.
- Meštrovic, N. et al. Structural and functional liaisons between transposable elements and satellite DNAs. **Chromosome Res**, v. 23, p. 583-596, 2015.

Mlinarec, J. et al. The impact of the Tekay chromoviral elements on genome organisation and evolution of *Anemone* s.l. (Ranunculaceae). **Plant Biol**, v. 18, p. 332-347, 2016.

Monkheang, P. et al. Karyotypic features including organizations of the 5S, 45S rDNA loci and telomeres of *Scadoxus multiflorus* (Amaryllidaceae). **Comp Cytogenet**, v. 10, p. 637-646, 2016.

Natali, L. et al. A survey of Gypsy and Copia LTR-retrotransposon superfamilies and lineages and their distinct dynamics in the *Populus trichocarpa* (L.) genome. **Tree Genet Genomes**, v. 11, p. 107, 2015.

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 Phytol**, v. 195, p. 938-950, 2012.

Navajas-Pérez, R. et al. Characterization of RUSI, a telomere-associated satellite DNA, in the genus *Rumex* (Polygonaceae). **Cytogenet Genome Res**, v. 124, p. 81-89, 2009.

Neumann, P. et al. Significant Expansion of *Vicia pannonica* Genome Size Mediated by Amplification of a Single Type of Giant Retroelement. **Genetics**, v. 173, p. 1047-1056, 2006.

Neumann, P. et al. Plant centromeric retrotransposons: a structural and cytogenetic perspective. **Mobile DNA**, v. 2, p. 4, 2011.

Neumann, P.; Požarkova, D.; Macas, J. Highly abundant pea LTR retrotransposon *Ogre* is constitutively transcribed and partially spliced. **Plant Mol Biol**, v. 53, p. 399-410, 2003.

Novák, P.; Neumann, P.; Macas, J. Graph-based clustering and characterization of repetitive sequences in next-generation sequencing data. **BMC bioinformatics**, v. 11, p. 378, 2010.

Novák, P. et al. RepeatExplorer: a Galaxy-based web server for genome-wide characterization of eukaryotic repetitive elements from next-generation sequence reads. **Bioinformatics**, v. 29, p. 792-793, 2013.

Novák, P. et al. Genome-wide analysis of repeat diversity across the family Musaceae. **Plos One**, v. 9, p. e98918, 2014.

Novák, P. et al. TAREAN: a computational tool for identification and characterization of satellite DNA from unassembled short reads. **Nucleic Acids Res**, v. 45, p. e111, 2017.

Novikova, O. Chromodomains and LTR retrotransposons in plants. **Commun Integr Biol**, v. 2, p. 158-162, 2009.

- Ohi-Toma, T. et al. An updated genus-wide phylogenetic analysis of *Arisaema* (Araceae) with reference to sections. **Bot J Linnean Soc**, v. 182, p. 100-114, 2016.
- Oliveira, R.F.M. Aspectos etnobotânicos e taxonômicos de Araceae Juss. na comunidade Santa Maria, Baixo Rio Negro – AM. Dissertação – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 119 p. 2011.
- Pedrosa-Harand, A. et al. Extensive ribosomal DNA amplification during Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) evolution. **Theor Appl Genet**, v. 112, p. 924-933, 2006.
- Pelissier, et al. *Athila*, a new retroelement from *Arabidopsis thaliana*. **Plant Mol Biol**, v. 29, p. 441-452, 1995.
- Petersen, G. Cytology and systematics of Araceae. **Nordic J Bot**, v. 9, p. 119-166, 1989.
- Petersen, G. New Chromosome Numbers in Araceae. **Willdenowia**, v. 23, p. 239-244, 1993.
- Piégu, B. et al. A survey of transposable element classification systems – A call for a fundamental update to meet the challenge of their diversity and complexity. **Mol Phylogenet Evol**, v. 86, p. 90-109, 2015.
- Piégu, B. et al. Doubling genome size without polyploidization: Dynamics of retrotransposition-driven genomic expansions in *Oryza australiensis*, a wild relative of rice. **Genome Res**, v. 16, p. 1262-1269, 2006.
- Puterova, J. et al. Satellite DNA and Transposable Elements in Seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*), a Dioecious Plant with Small Y and Large X Chromosomes. **Genome Biol Evol**, v. 9, p. 197-212, 2017.
- Qiu, F.; Ungerer, M.C. Genomic abundance and transcriptional activity of diverse gypsy and copia long terminal repeat retrotransposons in three wild sunflower species. **BMC Plant Biol**, v. 18, p. 6, 2018.
- Raskina, O. et al. Repetitive DNA and chromosomal rearrangements: Speciation-related events in plant genomes. **Cytogenet Genome Res**, v. 120, p. 351-357, 2008.
- Raskina, O.; Belyayev, A.; Nevo, E. Quantum speciation in *Aegilops*: Molecular cytogenetic evidence from rDNA cluster variability in natural populations. **Proc Natl Acad Sci**, v. 101, p. 14818-14823, 2004a.
- Raskina, O.; Belyayev, A.; Nevo, E. Activity of the En/Spm-like transposons in meiosis as a base for chromosome repatterning in a small, isolated, peripheral population of *Aegilops speltoides* Tausch. **Chromosome Res**, v. 12, p. 153-161, 2004b.

Richards, E.J.; Ausubel, F.M. Isolation of a higher eukaryote telomere from *Arabidopsis thaliana*. **Cell**, v. 53, p. 127-136, 1988.

Rigal, M.; Mathieu, O.A. “mille-feuille” of silencing: Epigenetic control of transposable elements. **BBA Gene Regul Mec**, v. 1809, p. 452-458, 2011.

Roa, F.; Guerra, M. Distribution of 45S rDNA sites in chromosomes of plants: Structural and evolutionary implications. **BMC Evol Biol**, v. 12, p. 225, 2012.

Roa, F.; Guerra, M. Non-Random Distribution of 5S rDNA Sites and Its Association with 45S rDNA in Plant Chromosomes. **Cytogenet Genome Res**, v. 146, p. 243-249, 2015.

Robert, M.L. et al. Wild and agronomically important *Agave* species (Asparagaceae) show proportional increases in chromosome number, genome size, and genetic markers with increasing ploidy. **Bot J Linnean Soc**, v. 158, p. 215-222, 2008.

Rosato, M. et al. High and uneven levels of 45S rDNA site number variation across wild populations of a diploid plant genus (*Anacyclus*, Asteraceae). **Plos One**, v. 12, p. e0187131, 2017.

Roudier, F. et al. Integrative epigenomic mapping defines four main chromatin states in *Arabidopsis*. **EMBO J**, v. 30, p. 1928-1938, 2011.

Ruiz-Herrera, A.; Robinson, T.J. Evolutionary plasticity and cancer breakpoints in human chromosome 3. **Bio Essays**, v. 30, p. 1126-1137, 2008.

Saha, S. et al. Empirical comparison of *ab initio* repeat finding programs. **Nucleic Acids Res**, v. 36, p. 2284-2294, 2008.

Sakuragui, C.M. et al. Diversity and conservation of *Philodendron* SCHOTT (Araceae) in Atlantic Forest of Rio de Janeiro State, Brazil. **Feddes Repert**, v. 122, p. 472- 496, 2011.

Sakuragui, C.M.; Mayo, S.J.; Zappi, D.C. Taxonomic revision of Brazilian species of *Philodendron* section *Macrobium*. **Kew Bull**, v. 60, p. 465-513, 2005.

Sakuragui, C.M. et al. Recognition of the genus *Thaumatophyllum* Schott – formerly *Philodendron* subg. *Meconostigma* (Araceae) – based on molecular and morphological evidence. **PhytoKeys**, v. 98, p. 51-71, 2018.

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.

Santos-Serejo, J.A. et al. Alterations in Heterochromatic Knobs in Maize Callus Culture by Breakage-Fusion-Bridge Cycle and Unequal Crossing Over. **Cytogenet Genome Res**, v. 154, p. 107-118, 2018.

Sastri, D.C. et al. An overview of evolution in plant 5S DNA. **Plant Syst Evol**, v. 183, p. 169-181, 1992.

Satovic, E. et al. Adjacent sequences disclose potential for intra-genomic dispersal of satellite DNA repeats and suggest a complex network with transposable elements. **BMC Genomics**, v. 17, p. 997, 2016.

Schmidt, T.; Heslop-Harrison, J.S. Genomes, genes and junk: the large-scale organization of plant chromosomes. **Trends Plant Sci**, v. 3, p. 195-199, 1998.

Schubert, I. et al. Telomeric signals in Robertsonian fusion and fission chromosomes: implications for the origins of pseudoaneuploidy. **Cytogenet Genome Res**, v. 59, p. 6-9, 1992.

Schwarzacher; Wachtler. Nucleolus organizer regions and nucleolus. **Human Genetics**, v. 63, p. 89-99, 1983.

Schweizer, D. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. **Chromosoma**, v. 58, p. 307-324, 1976.

Sergeeva, E.M.; Salina, E.A. Transposable Elements and Plant Genome Evolution. **Russ J Genet: Appl Res**, v. 1, p. 565-576, 2011.

Shcherban, A.B. Repetitive DNA Sequences in Plant Genomes. **Russ J Genet: Appl Res**, v. 5, p. 159-167, 2015.

Silva, H.M.L. et al. Chromosomal features of *Fosterella* species (Bromeliaceae, Pitcairnioideae). **Bot J Linnean Soc**, v. 181, p. 532-541, 2016.

Singh, M.; Barman, A.S. Chromosome breakages associated with 45S ribosomal DNA sequences in spotted snakehead fish *Channa punctatus*. **Mol Biol Rep**, v. 40, p. 723-729, 2013.

Singh, R. Plant Cytogenetics, Third Edition. Boca Raton: CRC Press. 2016.

Sousa, A.; Renner, S.S. Interstitial telomere-like repeats in the monocot family Araceae. **Bot J Linnean Soc**, v. 177, p. 15-26, 2015.

Sousa, A.; Cusimano, N.; Renner, S.S. Combining FISH and model-based predictions to understand chromosome evolution in *Typhonium* (Araceae). **Ann Bot**, v. 113, p. 669-680, 2014.

Sousa, A.; Fuchs, J.; Renner, S.S. Cytogenetic comparison of heteromorphic and homomorphic sex chromosomes in *Coccinia* (Cucurbitaceae) points to sex chromosome turnover. **Chromosome Res**, v. 25, p. 191-200, 2017.

Souza, G. et al. Interstitial telomeric sites and Robertsonian translocations in species of *Ipheion* and *Nothoscordum* (Amaryllidaceae). **Genetica**, v. 144, p. 157-166, 2016.

Staton, S.E. et al. The sunflower (*Helianthus annuus* L.) genome reflects a recent history of biased accumulation of transposable elements. **Plant J**, v. 72, p. 142-53, 2012.

Sultana, S.; Rahman, R.B.; Alam, S.S. Karyotype Analysis in Three Morphological Forms of *Lasia spinosa* (L.) Thwaites (Araceae). **Cytologia**, v. 71, p. 359-364, 2006.

Sumner, A.T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. **Exp Cell Res**, v. 75, p. 304-306, 1972.

Sumner, A.T. Chromosomes: organization and function. Malden: Blackwell Science Ltd, 287 p. 2003.

Sykorova, E. et al. The signature of the Cestrum genome suggests an evolutionary response to the loss of (TTTAGGG)_n telomeres. **Chromosoma**, v. 112, p. 164-172, 2003a.

Sykorova, E. et al. Telomere variability in the monocotyledonous plant order Asparagales. **Proc R Soc Biol Sci**, v. 270, p. 1893-1904, 2003b.

Takahashi, C. Physical mapping of rDNA sequences in four karyotypes of *Ranunculus silerifolius* (Ranunculaceae). **J Plant Res**, v. 116, p. 331-336, 2003.

Tchurikov, N.A. et al. Hot spots of DNA double-strand breaks and genomic contacts of human rDNA units are involved in epigenetic regulation. **J M Cell Biol**, v. 7, p. 366-382, 2015.

Tenaillon, M.I. et al. Genome size and transposable element content as determined by high-throughput sequencing in maize and *Zea luxurians*. **Genome Biol Evol**, v. 3, p. 219-229, 2011.

Vasconcelos S. Filogenia e Evolução Cariotípica do Gênero *Philodendron* (Araceae), com Ênfase para Espécies da Amazônia Brasileira. Tese – Universidade Federal de Pernambuco, 118p. 2015.

Vasconcelos, S. et al. 2018. New insights on the phylogenetic relationships among the traditional *Philodendron* subgenera and the other groups of the *Homalomena* clade (Araceae). **Mol Phylogenet Evol**, v. 127, p. 168-178, 2018.

Viêt, N.X. Identification of the parental origin of the chromosomes in the natural interspecific hybrids in *Colocasía* using cytogenetic and molecular cytogenetic techniques. **Tap Chi Sinh Hoc**, v. 26, p. 43-47, 2004.

Volkov, R.A. et al. Molecular cell biology: Organization and molecular evolution of rDNA, nucleolar dominance, and nucleolus structure. In: Esser K, Luttge U, Beyschlag W and Murata J, Eds., Progress in. 2004.

Wallace, R.; Ferreira, E. Extractive exploitation of cipó titica (*Heteropsis flexuosa* (H.B.K.) Bunt., araceae in Acre: Management and market potential. Floristics and

Economics of Acre, Brazil, The New York Botanical Garden, on line publication. 2002.

Warasy, A.A.; Alam, S.S. Comparison of Orcein and CMA Stained Karyotypes in Three Morphological Forms of *Typhonium trilobatum* L. (Araceae). **Cytologia**, v. 74, p. 311-316, 2009.

Weber, B. et al. Highly diverse chromoviruses of *Beta vulgaris* are classified by chromodomains and chromosomal integration. **Mobile DNA**, v. 4, p. 8, 2013.

Weiss-Schneeweiss, H. et al. Chromosomal stasis in diploids contrasts with genome restructuring in auto- and allopolyploid taxa of *Hepatica* (Ranunculaceae). **New Phytol**, v. 174, p. 669-682, 2007.

Wheeler, T.J. et al. Dfam: a database of repetitive DNA based on profile hidden Markov models. **Nucleic Acids Res**, v. 41, p. D70-82, 2013.

Wicker, T.; Keller, B. Genome-wide comparative analysis of *copia* retrotransposons in Triticeae, rice, and *Arabidopsis* reveals conserved ancient evolutionary lineages and distinct dynamics of individual *copia* families. **Genome Res**, v. 17, p. 1072-1081, 2007.

Wicker, T. et al. Analysis of a contiguous 211 kb sequence in diploid wheat (*Triticum monococcum* L.) reveals multiple mechanisms of genome evolution. **Plant J**, v. 26, p. 307-316, 2001.

Wright, D.A.; Voytas, D.F. *Athila4* of *Arabidopsis* and *Calypso* of Soybean Define a Lineage of Endogenous Plant Retroviruses. **Genome Res**, v. 12, p. 122-131, 2002.

Yi, K.U.; Kim, H.B.; Song, K.J. Karyotype diversity of Korean landrace mandarins by CMA banding pattern and rDNA loci. **Sci Hortic**, v. 228, p. 26-32, 2018.

Younis, A. et al. FISH and GISH: molecular cytogenetic tools and their applications in ornamental plants. **Plant Cell Report**, v. 34, p. 1477-1488, 2015.

Zhu, Q. et al. Repetitive sequence analysis and karyotyping reveal different genome evolution and speciation of diploid and tetraploid *Tripsacum dactyloides*. **Crop J**, v. 4, p. 247-255, 2016.