



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

DISSERTAÇÃO

**CITOTAXONOMIA E EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA EM
BIGNONIACEAE**

JOEL MACIEL PEREIRA CORDEIRO

2015



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
AGRONOMIA**



**CITOTAXONOMIA E EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA EM
BIGNONIACEAE**

JOEL MACIEL PEREIRA CORDEIRO

Sob a Orientação do Professor

Leonardo Pessoa Felix

e Co-orientação do professor

Luiz Gustavo Rodrigues de Souza

Dissertação submetida como requisito para obtenção do grau de **Mestre em Agronomia**, no Programa de Pós-Graduação em Agronomia.

Areia, PB
Junho de 2015

Ficha Catalográfica Elaborada na Seção de Processos Técnicos da
Biblioteca Setorial do CCA, UFPB, Campus II, Areia – PB.

C794c Cordeiro, Joel Maciel Pereira.
Citotaxonomia e evolução cariotípica em Bignoiaceae / Joel Maciel Pereira
Cordeiro. - Areia: UFPB/CCA, 2015.
64 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Centro de Ciências Agrárias.
Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2015.

Bibliografia.

Orientador: Leonardo Pessoa Felix.

Coorientador: Luiz Gustavo Rodrigues de Souza

1. Plantas 2. Citotaxonomia 3. Filogenia I. Felix, Leonardo Pessoa (Orientador) II.
Título.

UFPB/CCA

CDU: 582(043.3)

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

TÍTULO: CITOTAXONOMIA E EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA EM
BIGNONIACEAE

AUTOR: JOEL MACIEL PEREIRA CORDEIRO

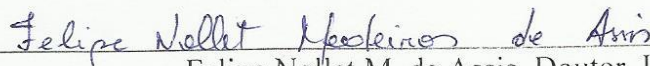
Aprovado como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE em
AGRONOMIA (Agricultura Tropical) pela comissão Examinadora:



Leonardo Pessoa Felix. Doutor, UFPB
(Orientador)



Andrea Pedrosa-Harand. Doutora, UFPE
(Avaliador)



Felipe Nollat M. de Assis. Doutor, UFPB
(Avaliador)

Data da realização: 26 de junho de 2015.

Presidente da Comissão Examinadora
Dr. Leonardo Pessoa Felix
Orientador

Aos meus pais Creuza e Morais Cordeiro, minha esposa Tatiana Renata e aos demais amigos, parentes e familiares que me apoiam nos desafios que a vida impõe

AGRADECIMENTOS

Ao CNPQ (Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico), CAPES (Conselho de Auxílio à Pesquisa) pelo financiamento da pesquisa e concessão de bolsas de mestrado e produtividade em pesquisa, ao INSA (Instituto Nacional do Semiárido) pelo apoio institucional e cessão de equipamentos, e ao Laboratório de Citogenética Vegetal da UFPE (Universidade Federal de Pernambuco) pelo uso constante do laboratório.

Aos membros do laboratório de Citogenética vegetal da UFPB, e a equipe do herbário professor Jayme Coelho de Moraes (EAN) pelo suporte à pesquisa.

Aos professores Leonardo Pessoa Felix (orientador) Luiz Gustavo Rodrigues de Souza (coorientador), Felipe Nollet e Andrea Pedrosa pelo auxílio no trabalho.

Aos amigos Erton Mendonça, Sarah Nascimento, Angeline Maria, Bruno Cesar, Aquiles Neves, Saulo Alves, Enoque Medeiros Neto, Amanda Santos, Taís, Sócrates Torres, Leydiane, Lânia Isis, Luciana Ledra, Normanda, Ana Emília Barros e Silva, Marcelo Guerra, Josenildo Paulino, Thiago Esposito, Bruno das Myrtaceae, Larisse, Rodrigo, Cláudio, Maria Clara, Hellen, Íngrid, Rogério e Tatiana Renata pelo companheirismo e apoio no decorrer dos estudos e pesquisas.

CORDEIRO, Joel Maciel Pereira. **Citotaxonomia e evolução cariotípica em Bignoniaceae**. 2015. 64 f. Dissertação. Mestrado em Agronomia, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba.

RESUMO

Bignoniaceae é uma das mais diversas famílias de plantas entre as Angiospermas e ocupa uma diversidade de habitats nas regiões Neotropicais e Paleotropicais. O clado *Tabebuia* alliance é um dos mais representativos da família Bignoniaceae com 14 gêneros e 147 espécies. Na citogenética da família Bignoniaceae, e consequentemente no clado *Tabebuia* alliance, predominam cariótipos simétricos e cromossomos pequenos, o que dificulta sua utilização citotaxonômica. Embora haja o predomínio de $2n = 40$ cromossomos para a maioria das espécies, observa-se o registro de variações no nível de ploidia ($2n = 80, 120$), assim como possíveis aneuploidias ou disploidias ($2n = 22, 30, 36, 38$) em determinadas linhagens da família. O presente trabalho objetivou estabelecer a caracterização citotaxonômica em espécies do clado Neotropical *Tabebuia* alliance, e algumas espécies relacionadas, com o uso dos fluorocromos Cromomicina A3 (CMA) e 4'6-diamino-2-fenilindol (DAPI). Além disso, informações de contagens cromossômicas foram relacionadas com dados de filogenia molecular obtidos a partir dos genes de cloroplastos *ndhF* e *rbcL* e da sequência não codificante *trnL-F* para entender os mecanismos envolvidos na evolução cariotípica do clado *Tabebuia* alliance, assim como para a família Bignoniaceae como um todo. Foram analisadas 16 espécies, sendo registradas novas contagens para *Jacaranda jasminoides* ($2n = 36$), *Tabebuia elliptica* ($2n = 40$) e *Sparatosperma leucanthum* ($2n = 40$). No clado *Tabebuia* alliance, nas espécies com $2n = 40$, observa-se o predomínio de um par de bandas CMA⁺ terminal e um par de bandas proximais, enquanto as espécies poliploides apresentaram entre duas a três bandas terminais e uma ou duas bandas proximais por conjunto monoploide. Nas espécies dos clados Jacarandae, Tecomeae e clado Paleotropical analisadas observa-se a ocorrência de pequenas bandas CMA⁺ terminais (*J. mimosifolia*, *J. jasminoides*, *S. campanulata*, *P. ricasoliana*), assim como bandas proximais (*T. stans*). As análises de filogenia molecular aliadas com contagens cromossômicas para a família Bignoniaceae demonstram que $x = 18$ possivelmente seria o número básico ancestral da família. As espécies que apresentam $2n = 40, 80$ e 120 cromossomos do clado *Tabebuia* alliance derivariam de um ancestral que teria $n = 20$. Determinadas espécies com $2n = 22, 30, 36, 38$ e 42 cromossomos (Tecomeae, *Argylia*, *Delostoma*) fariam parte de uma linhagem de transição entre espécies basais com $n = 18$ (Jacarandae) e espécies onde se estabilizaram com $n = 20$ (Crescentiina, Catalpeae, Bignoniaceae).

Palavras-chave: Heterocromatina, Poliploidia, Filogenia molecular.

CORDEIRO, Joel Maciel Pereira. **Cytotaxonomy and karyotype evolution in Bignoniaceae**. 2015. 64f. Dissertation in Agronomy, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal da Paraíba.

ABSTRACT

Bignoniaceae is one of the most various families of plants among the Angiosperms, occupying a variety of habitats in the Neotropical and Paleotropical regions. The clade *Tabebuia* alliance is one of the most representative of the Bignoniaceae with 14 genera and 147 species. In cytogenetic the Bignoniaceae, and consequently the clade *Tabebuia* alliance, predominate symmetrical karyotypes and small chromosomes, making it difficult to use in cytotaxonomy. Although there is the predominance of $2n = 40$ chromosomes for most species, there is the record of changes in ploidy level ($2n = 80, 120$) as well as possible aneuploidy or disploidy ($2n = 22, 30, 36, 38$) in certain family lineages. This study aimed to establish the cytotaxonomy characterization of Neotropical clade *Tabebuia* alliance, and some related species, with the use of fluorochromes Chromomycin A3 (CMA) and 4'6-diamino-2-phenylindol (DAPI). In addition, chromosome numbers were related with information Molecular phylogeny of data obtained from the chloroplast gene *rbcL*, and *ndhF* and non-coding sequence *trnL-F* for understand the mechanisms involved in karyotypic evolution of clade *Tabebuia* alliance, well as to the family Bignoniaceae as a whole. 16 species were analyzed, and recorded new scores for *Jacaranda jasminoides* ($2n = 36$), *Tabebuia elliptica* ($2n = 40$) and *Sparatosperma leucanthum* ($2n = 40$). In clade *Tabebuia* alliance, in species with $2n = 40$, there is a predominance of a pair of CMA⁺ terminal bands and a pair of proximal bands, while polyploid species showed two to three terminal bands and one or two proximal bands per set monoploid. In the species of clades Jacarandae, Tecomeae and Paleotropical clade analyzed observed the occurrence of small CMA⁺ terminal bands (*J. mimosifolia*, *J. jasminoides*, *S. campanulata* and *P. ricasoliana*) and proximal bands (*T. stans*). Analyses of molecular phylogeny allied with chromosomal counts for the family Bignoniaceae demonstrate that $x = 18$ would be possibly the ancestral basic number of the family. The species with $2n = 40, 80$ and 120 chromosomes from *Tabebuia* alliance clade derive from an ancestor who would have $n = 20$. Certain species with $2n = 22, 30, 36, 38$ and 42 chromosomes (Tecomeae, argylia, Delostoma) would be part a transition line between basal species with $n = 18$ (Jacarandae) and species which have stabilized with $n = 20$ (Crescentiina, Catalpeae, Bignonieae).

Keywords: Heterochromatin, Polyploidy, Molecular Phylogeny.

LISTA DE FIGURAS E TABELAS

Figura 1: Aspectos morfológicos e reprodutivos em diferentes espécies de Bignoniaceae	20
Figura 2: Distribuição geográfica de Bignoniaceae	21
Figura 3. Metáfases mitóticas e respectivos kariogramas das espécies da tribo Jacarandae e Tecomeae	38
Figura 4. Metáfases mitóticas e respectivos kariogramas das espécies do clado Paleotropical, <i>Tabebuia</i> alliance e da tribo Crescentieae	39
Figura 5. Metáfases mitóticas e respectivos kariogramas ds espécies do gênero <i>Tabebuia</i> , clado <i>Tabebuia</i> alliance	40
Figura 6. Metáfases mitóticas e respectivos kariogramas de espécies do gênero <i>Handroanthus</i> , clado <i>Tabebuia</i> alliance	41
Figura 7. Árvore filogenética de representantes da família Bignoniaceae com base na análise combinada das regiões <i>ndhF</i> , <i>rbcL</i> e <i>trnL-F</i>	43
Figura 8. Evolução kariotípica da família Bignoniaceae baseada nas regiões <i>ndhF</i> , <i>rbcL</i> e <i>trnL-F</i> aliadas com informações de contagens cromossômicas das espécies	44
Figura 9. Padrão de bandas heterocromáticas nas espécies de Bignoniaceae analisadas	47
Tabela 1. Número cromossômico em espécies da família Bignoniaceae	26
Tabela 2. Lista de espécies de Bignoniaceae analisadas, coletores, números cromossômicos, tamanho médio dos cromossomos e tipos de bandas fluorescentes mais evidentes	36
Anexo A. Lista de espécies da família Bignoniaceae usadas nas análises de evolução kariotípica, códigos das sequências de DNA no GenBank, números cromossômicos e referências das contagens cromossômicas	61

LISTA DE SIGLAS E ABREVIACOES

8-HQ – 8-hidroxiquinoleína

APG – Angiosperm Phylogeny Group

CMA – Cromomicina A3

DAPI – 4'6-diamino-2-fenilindol

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

EAN – Escola Agronômica do Nordeste

EMA – Erton Mendonça de Almeida

JMPC – Joel Maciel Pereira Cordeiro

LPF – Leonardo Pessoa Felix

mg – Miligrama

ml – Mililitro

SAAL – Saulo Antônio Alves de Lima

µm – Micrômetro

µL – Microlitro

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	12
CAPÍTULO I: Citotaxonomia e Evolução Cariotípica de Bignoniaceae com ênfase no clado Neotropical <i>Tabebuia</i> alliance	14
RESUMO	15
ABSTRACT	16
1 INTRODUÇÃO	17
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Aspectos morfológicos e reprodutivos	19
2.2 Distribuição geográfica	21
2.3 Importância econômica de Bignoniaceae	21
2.4 Filogenia e classificação da família Bignoniaceae	22
2.5 Citogenética	24
3 MATERIAL E MÉTODOS	33
3.1 Material vegetal	33
3.2 Análise citogenética	33
3.3 Reconstrução da filogenia e evolução cariotípica	34
4 RESULTADOS	34
4.1 Análises citogenéticas	34
4.2 Reconstrução da filogenia e inferências sobre a evolução cariotípica	42
5 DISCUSSÃO	44
5.1 Variação cromossômica numérica	44
5.2 Padrões de distribuição de heterocromatina	46
5.3 Evolução cariotípica	48
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
REFERÊNCIAS	51
CONCLUSÕES GERAIS	60
ANEXOS	61

INTRODUÇÃO GERAL

A família Bignoniaceae inclui 82 gêneros e 827 espécies (LOHMANN; ULLOA, 2013), sendo um importante componente das florestas Neotropicais, com menor ocorrência nas florestas tropicais africanas e do sudeste asiático (OLMSTEAD et al., 2009). O Brasil é um dos centros de diversidade da família, com 32 gêneros e 391 espécies, sendo 177 destas consideradas endêmicas do país (LOHMANN, 2013; LOHMANN et al., 2013).

Sistematicamente, Bignoniaceae pertence à ordem Lamiales e ocupa uma posição próxima à Acanthaceae, Verbenaceae, Schlegeliaceae e Paulowniaceae (APG III, 2009). A mais recente classificação de Bignoniaceae divide a família em oito tribos: Bignonieae, Catalpeae, Coleeae, Crescentieae, Jacarandaeae, Oroxyleae, Tecomeae e Tourrettieae (OLMSTEAD et al., 2009). Dois grandes clados dentro da família Bignoniaceae, Bignonieae e Crescentiina, abrigam cerca de 80% das espécies da família. Crescentiina é formado por dois clados distintos: um estritamente Paleotropical e outro predominantemente Neotropical (*Tabebuia* alliance). O clado *Tabebuia* alliance contém 14 gêneros e 147 espécies de árvores ou arbustos que compartilham como característica principal as folhas compostas e palmadas (GROSE; OLMSTEAD, 2007a,b; OLMSTEAD et al., 2009). Este clado é formado especialmente por espécies pertencentes ao gênero *Tabebuia* e outras espécies arbóreas comumente conhecidas como “Ipês” ou “Pau d’arcos”.

Análises filogenéticas realizadas por Grose e Olmstead (2007a) demonstraram que o gênero *Tabebuia sensu lato* não é monofilético. Desta forma, Grose e Olmstead (2007b) revisaram o gênero e propuseram a disjunção das espécies tradicionalmente incluídas como *Tabebuia sensu lato* em três gêneros distintos: *Handroanthus*, *Roseodendron* e *Tabebuia sensu stricto*. *Roseodendron* consiste em um gênero composto por duas espécies, *R. chryseum* e *R. donnell-smithi*, e apresentam corola de cor amarela e cálice espatáceo de textura semelhante a corola. *Handroanthus* compreende as espécies com flores principalmente amarelas, cálice coriáceo com tricomas simples, estrelados ou dendroide, às vezes formando uma cobertura espessa, além de possuírem madeira extremamente densa contendo quantidades copiosas de lapachol. *Tabebuia* foi restrita às espécies com flores brancas a vermelhas ou raramente amarelas, com cálice coriáceo densamente lepidoto. Os demais gêneros do clado *Tabebuia* alliance (*Cybistax*, *Ekmanianthe*, *Godmania*, *Paratecoma*, *Romeroa*,

Sparattosperma, *Spirotecoma* e *Zeyheria*) possuem um número reduzido de espécies, embora muitas destas apresentem ampla distribuição geográfica (GENTRY, 1992). O clado *Tabebuia* alliance inclui ainda a tribo Crescentieae, endêmica de América Central e Grandes Antilhas, que abriga três gêneros (*Amphitecna*, *Crescentia* e *Parmentiera*) e 35 espécies (GENTRY, 1980; OLMSTEAD et al., 2009).

Estudos que envolvam caracterizações cromossômicas em Bignoniaceae têm revelado uma notável estabilidade cariotípica numérica, com a maioria dos gêneros apresentando $2n = 40$, além de cromossomos pequenos e cariótipos simétricos (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; PIAZZANO, 1998; ALCORCÉS DE GUERRA, 2002; ORTOLANI et al. 2008; FIRETTI-LEGGIERI et al., 2011, 2013). O registro de números cromossômico para algumas espécies de determinados gêneros de Bignoniaceae como *Tecoma* e *Jacaranda* ($2n = 36$, PIAZZANO, 1998; COSTA, 2006), *Podranea* ($2n = 38$, PIAZZANO et al., 2015) e *Incarvillea* ($2n = 22$, CHEN et al., 2004) sugere a ocorrência de possíveis eventos de aneuploidias ou disploidias em determinadas linhagens da família (GOLDBLATT; GENTRY, 1979).

Para entender os mecanismos envolvidos na evolução cariotípica das espécies vegetais pode-se fazer uso de diversas técnicas, entre elas, o uso da coloração diferencial e de métodos filogenéticos comparativos. A utilização da técnica de coloração diferencial com fluorocromos Cromomicina A3 (CMA) e Diaminidino-2-fenilindol (DAPI) tem possibilitado uma descrição detalhada dos cariótipos em diversos grupos de plantas (SOUZA et al., 2012). Já o uso de métodos filogenéticos comparados com contagens cromossômicas e padrão de bandas heterocromáticas tem possibilitado entender diversas variações em grupos de plantas, especialmente onde se observa variação cromossômica numérica (VAIO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015).

O presente trabalho teve como objetivo entender a evolução cariotípica da família Bignoniaceae com base em métodos filogenéticos comparados com variações no número cromossômico e variação no padrão de bandas heterocromáticas de diversas espécies, especialmente pertencentes ao clado *Tabebuia* alliance e algumas espécies das tribos Jacarandaeae, Tecomeae e clado Paleotropical.

CAPÍTULO I

CITOTAXONOMIA E EVOLUÇÃO CARIOTÍPICA DE BIGNONIACEAE COM ÊNFASE NO CLADO NEOTROPICAL *TABEBUIA* ALLIANCE

RESUMO

A maioria dos trabalhos envolvendo caracterização citogenética de Bignoniaceae tem revelado cariótipos simétricos e cromossomos pequenos, com predomínio de $2n = 40$ na maioria das espécies, embora ocorram poliploidia e disploidia em algumas linhagens da família. Neste trabalho foram analisadas 16 espécies de Bignoniaceae pertencentes aos clados *Tabebuia* alliance (11), clado Paleotropical (1), Jacarandae (2) e Tecomeae (2), por meio de coloração com os fluorocromos Cromomicina A3 (CMA) e 4,6-diamidino-2-fenilindol (DAPI). A variação cromossômica observada foi comparada com dados de filogenia molecular obtidos a partir do sequenciamento dos genes de cloroplasto *ndhF*, *trnL-F* e *rbcL* para entender os mecanismos envolvidos na evolução cariotípica nesses grupos de Bignoniaceae. Foram registradas novas contagens para *Jacaranda jasminoides* ($2n = 36$), *Tabebuia elliptica* ($2n = 40$) e *Sparatosperma leucanthum* ($2n = 40$). No clado *Tabebuia* alliance, nas espécies com $2n = 40$, observa-se o predomínio de um par de bandas CMA⁺ terminal e um par de bandas proximais, enquanto as poliploides apresentaram entre duas a três bandas terminais e uma ou duas bandas proximais por conjunto monoploide. Nas espécies dos clados Jacarandae, Tecomeae e clado Paleotropical analisadas observa-se a ocorrência de pequenas bandas CMA⁺ terminais (*J. mimosifolia*, *J. jasminoides*, *S. campanulata*, *P. ricasoliana*), assim como bandas proximais (*T. stans*). As espécies poliploides apresentaram padrão de bandas CMA/DAPI distintos da espécie diploide, o que sugere eventos de poliploidia recente com rápida multiplicação de bandas CMA, ou eventos de poliploidia antiga, ou ainda a possibilidade de um ancestral com padrão de bandas CMA distinto. As análises comparadas da filogenia molecular com as contagens cromossômicas indicam que $x = 18$ possivelmente seria o número básico ancestral da família. O número, tamanho e distribuição das bandas heterocromáticas, aliadas ao número cromossômico, permitiram entender melhor a relação entre as espécies analisadas da família Bignoniaceae.

Palavras-chave: Heterocromatina, Filogenia, Poliploidia.

ABSTRACT

The most of the work involving cytogenetic characterization of Bignoniaceae has revealed symmetrical karyotypes and small chromosomes, with a predominance of $2n = 40$ in most species, although there polyploidy and dispoloidy in some family lines. In this study we analyzed 16 species of the Bignoniaceae belonging for clades *Tabebuia* alliance (11), Paleotropical clade (1), Jacarandaeae (2) and Tecomeae (2) by means of staining with fluorochromes Chromomycin A3 (CMA) and 4'6-diamino-2-phenylindol (DAPI). Chromosomal variation observed was compared to molecular phylogeny of data obtained from sequencing the chloroplast genes *ndhF*, *trnL-F* and *rbcL* for understand the mechanisms involved in the evolution karyotype Bignoniaceae these groups. New counts were recorded for *Jacaranda jasminoides* ($2n = 36$), *Tabebuia elliptica* ($2n = 40$) and *Sparatosperma leucanthum* ($2n = 40$). In clade *Tabebuia* alliance, in species with $2n = 40$, there is a predominance of a pair of CMA⁺ terminal bands and a pair of proximal bands, while polyploid had two to three terminal bands and one or two proximal bands per set monoploid. In the species of clades Jacarandaeae, Tecomeae and Paleotropical clade analyzed observed the occurrence of small CMA⁺ terminal bands (*J. mimosifolia*, *J. jasminoides*, *S. campanulata* and *P. ricasoliana*) and proximal bands (*T. stans*). The polyploid species showed banding pattern CMA/DAPI distinct from diploid species, suggesting recent events of polyploidy with rapid multiplication of CMA bands, or ancient polyploidy events, or the possibility of an ancestor with distinct pattern of CMA bands. The analysis compared the molecular phylogeny with chromosome counts indicate that $x = 18$ would be possibly the ancestral basic number of the family. The number, size and distribution of heterochromatic bands, combined with the chromosome number, allowed better understand the relationship between species analyzed the Bignoniaceae family.

Keywords: Heterochromatin, Phylogeny, Polyploidy.

1 INTRODUÇÃO

A família Bignoniaceae inclui 82 gêneros e 827 espécies (LOHMANN; ULLOA, 2013), sendo um importante componente das florestas Neotropicais, com menor ocorrência nos paleotrópicos (OLMSTEAD et al., 2009). A família é composta por espécies lenhosas, geralmente árvores ou lianas (comumente com gavinhas), algumas vezes arbustos e raramente ervas, com folhas geralmente compostas, opostas decusadas, flores pentâmeras, vistosas, de diferentes cores, geralmente campanuladas ou tubulares, e frutos em sua maioria do tipo cápsula bivalvar com sementes achatadas e aladas (FISCHER et al., 2004).

Tradicionalmente a família Bignoniaceae tem sido dividida em oito tribos: Bignonieae, Tecomeae, Crescentieae, Coleeae, Tourrettieae, Eccoremocarpeae, Oroxyleae e Schlegelieae (GENTRY, 1980). Contudo, foi demonstrado por meio de análises de filogenia molecular que Bignoniaceae é monofilética, desde que sejam excluídas a tribo Schlegelieae e o gênero *Paulownia* Siebold & Zucc. (SPANGLER; OLMSTEAD, 1999). Posteriormente, Olmstead et al. (2009) com base em análises de filogenia molecular propuseram oito tribos para família: Bignonieae, Catalpeae, Coleeae, Crescentieae, Jacarandaeae, Oroxyleae, Tecomeae e Tourrettieae, além do grupo não formal Crescentiina. Dentre esses grupos, Bignonieae e Crescentiina, abrigam cerca de 80% das espécies da família. Crescentiina é formado por dois subclados distintos: um estritamente Neotropical, denominado *Tabebuia* alliance, e outro formado por espécies dos Paleotrópicos, denominado clado Paleotropical (OLMSTEAD et al., 2009). No clado *Tabebuia* alliance estão incluídos 14 gêneros e 147 espécies de hábito arbóreo e arbustivo, de folhas compostas palmadas, flores de corola amarela, rosada ou avermelhada, cálice espatáceo ou cupular e sementes geralmente aladas dispersas pelo vento (GROSE; OLMSTEAD, 2007a; OLMSTEAD et al., 2009).

A família Bignoniaceae apresenta duas linhagens cariotípicas distintas: a primeira, numericamente mais variável, é formada pelos clados mais basais da família, incluindo as tribos Jacarandaeae, Tecomeae e Oroxyleae, o clado Paleotropical e o gênero *Delostoma* D. Don, que apresentam espécies com $n = 11, 15, 18, 19$ e 21 (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; PIAZZANO, 1998; PIAZZANO et al., 2015). A segunda linhagem, formada pelos clados *Tabebuia* alliance, Catalpeae e Bignonieae, apresenta notável estabilidade cariotípica numérica, com forte predomínio de $2n = 40$ (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; JULIER, 1989; PIAZZANO, 1998; ALCORCÉS DE GUERRA, 2002; ORTOLANI et al. 2008; FIRETTI-LEGGIERI et al., 2011). No clado *Tabebuia* alliance há registros de tetraploidia

para *Handroanthus chysotrichus* e *H. ochraceus* ($2n = 80$) (PIAZZANO, 1998; PIAZZANO et al., 2015) e hexaploidia em *H. serratifolius* ($2n = 120$) (ALVES et al., 2013). Da mesma forma, ocorrem tetraploidias ($2n = 80$) na tribo Bignoniaceae, especialmente nas espécies *Dolichandra unguis-cati* (L.) L. G. Lohmann e *Pyrostegia venusta* (Ker. Grawl.) Miers. (PIAZZANO, 1998; PIAZZANO et al., 2015), assim como para o gênero *Anemopaegma* (FIRETTI-LEGGIERI et al., 2011; 2013).

O emprego da coloração com os fluorocromos cromomicina A3 (CMA) e 4'-diaminidino-2-fenilindol (DAPI), estão entre as técnicas de maior praticidade, repetibilidade, menor custo e ampla utilização. Esses fluorocromos coram diferencialmente regiões do genoma ricas em pares de bases GC e AT, respectivamente (GUERRA, 2000; BARROS E SILVA; GUERRA, 2010). Grupos de plantas com predomínio de números cromossômicos estáveis, como algumas linhagens de Bignoniaceae, podem ser melhor caracterizados com o uso de técnicas de coloração diferencial (GUERRA, 2000). Seu emprego tem sido útil na caracterização de grupos de plantas numericamente estáveis como nos gêneros *Spondias* L. (ALMEIDA et al., 2007), *Citrus* L. (BARROS E SILVA et al., 2010), e na família Alismataceae (FEITOZA et al., 2010).

A interpretação da evolução cariotípica foi recentemente revolucionada pelo emprego de métodos filogenéticos em diferentes abordagens, o que permitem investigar padrões cromossômicas num contexto evolutivo (KOEHLER et al., 2008; CUSIMANO et al., 2011; STUESSY et al., 2011; PELLICER et al., 2013; VAIO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015). Essa prática permite a inferência mais segura de números cromossômicos básicos (x) (CUSIMANO et al., 2011; STUESSY et al., 2011; VAIO et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015) e evolução da heterocromatina (CHIARINI et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015). Diante disso, os mecanismos de evolução cariotípica, número básico e padrões de distribuição de heterocromatina em Bignoniaceae poderia ser interpretado num contexto filogenético.

O presente trabalho tem como objetivo estabelecer a caracterização citotaxonômica em espécies de Bignoniaceae por meio do padrão de heterocromatina, especialmente do clado Neotropical *Tabebuia* alliance, e inferir a evolução cariotípica da família Bignoniaceae com base em métodos filogenéticos comparativos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos morfológicos e reprodutivos

As espécies da família Bignoniaceae apresentam-se morfológicamente diversas, principalmente em relação ao hábito, morfologia floral e formato dos frutos (Figura 1). De forma geral, Bignoniaceae é tratada como uma família botânica composta por espécies lenhosas de árvores ou lianas (geralmente com gavinhas), algumas vezes arbustos e raramente ervas; apresentam folhas opostas, 2-3 foliadas, pinadas ou palmadas, raramente simples; inflorescência em tirso, racemos ou solitárias, terminais ou axilares, com flores vistosas, pentâmeras, gamopétalas, zigomorfas, bissexuadas; cálice cupular, tubular, espatáceo ou urceolado; corola 5-lobada, de diferentes cores (brancas, amarelas, rosadas, liláceas, vermelhas, vináceas), geralmente campanuladas ou tubulares; androceu com 4 estames didínamos, anteras com duas tecas, 1 estaminódio reduzido; gineceu gamocarpelar, ovário súpero, geralmente com disco nectarífero, 2 carpelos, 2 lóculos, placentação axilar, pluriovular, pistilo alongado, estigma 2-lobado; os frutos constituem especialmente em cápsula deiscente, bivalvar, com sementes geralmente achatadas e aladas, dispersas pelo vento (GENTRY, 1980; FISCHER et al., 2004).

As Bignoniaceae podem ser polinizadas especialmente por abelhas de diferentes tamanhos, beija-flores, morcegos, mariposas, borboletas, besouros e outros insetos (ALCANTARA; LOHMANN, 2010). As flores de Bignoniaceae, em geral, são vistosas, de aroma suave, e as pétalas fusionadas formam um tubo floral. Os filetes são fusionados com a corola, possibilitando o acesso ao néctar produzido no disco nectarífero na base da flor somente através de pequenos orifícios. Assim, os visitantes florais necessitam de peças bucais com o comprimento relacionado ao tamanho da câmara nectarífera para alcançar o néctar (CARVALHO et al., 2007).

A maioria das espécies de Bignoniaceae apresentam sistema reprodutivo autoincompatível, exigindo fecundação cruzada para que haja o desenvolvimento de frutos (SAMPAIO, 2010). Entretanto, determinadas espécies apresentaram indivíduos ou populações autoférteis, onde o principal fator aparentemente relaciona-se à apomixia esporofítica (SAMPAIO, 2010; BITTENCOURT JÚNIOR; MORAES, 2010).



Figura 1. Aspectos morfológicos e reprodutivos em diferentes espécies de Bignoniaceae. A. *Tabebuia roseoalba*; B. *Handroanthus serratifolius*; C. *Fridericia conjugata* (hábito lianescente e gavinhas); D. *Anemopaegma scabriusculum*; E. *Pyrostegia venusta*; F. *Handroanthus serratifolius* (folhas palmadas); G. *Dolichandra quadrivalvis* (sementes aladas); H. *Adenocalymma imperatoris-maximilianii*; I. *Tecoma stans*; J. *Lundia cordata* (fruto); K. *Crescentia cujete*; L. *Podranea ricasoliana*. Foto L: B. C. Q. SOUZA.

2.2 Distribuição geográfica

A família Bignoniaceae apresenta ampla distribuição geográfica, ocupando uma variedade de habitats. O maior número e diversidade de espécies concentra-se nas florestas Neotropicais e Paleotropicais (Figura 2), entretanto, determinados táxons pertencentes a esta família podem ser encontrados em áreas de florestas temperadas, regiões montanhosas, afloramentos rochosos e áreas de savanas secas (LOHMANN, 2004; STEVENS, 2010). Determinadas tribos dentro de Bignoniaceae apresentam endemismo, como Turretieae (endêmica dos Andes), Crescentieae (endêmica da América Central e Grandes Antilhas), Coleeae (Madagascar e ilhas do Oceano Pacífico), Oroxyleae (Indo-Malásio), além dos gêneros *Incarvillea* (Himalaia), *Podranea* (Sul-africano) e *Campsidium* (sul da América do Sul) (GENTRY, 1980; OLMSTEAD *et al.*, 2009). O Brasil é um dos centros de diversidade de Bignoniaceae, abrigando 32 gêneros e 391 espécies, sendo 177 destas consideradas endêmicas do país. A família ocorre em praticamente todos os biomas, seja em ambientes de clima semiárido, semiúmido e úmido, com maior representatividade no Pantanal, onde se apresenta entre as dez famílias com maior diversidade de espécies (LOHMANN, 2010; LOHMANN, 2013; LOHMANN *et al.*, 2013).

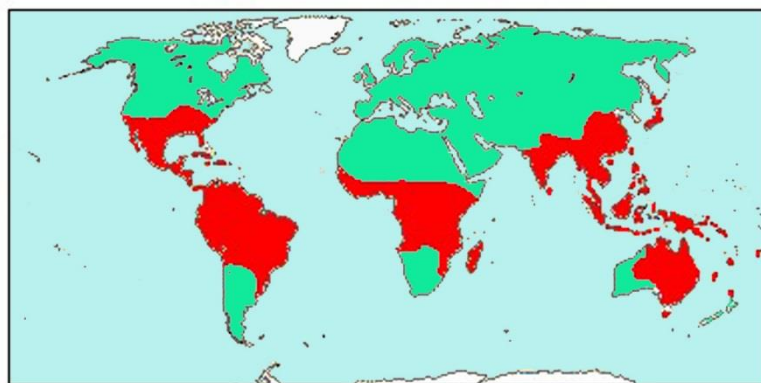


Figura 2. Distribuição geográfica de Bignoniaceae. Fonte: Stevens (2010).

2.3 Importância econômica de Bignoniaceae

Bignoniaceae apresenta principalmente valor ornamental, devido, sobretudo, a exuberância de suas flores. Muitas espécies de *Jacaranda*, *Spathodea*, *Pyrostegia*, *Tabebuia*, *Handroanthus* e *Tecoma* estão entre as plantas mais cultivadas como ornamentais nas regiões tropicais e subtropicais (GENTRY, 1992). Espécies pertencentes aos gêneros *Jacaranda*,

Handroanthus e *Tabebuia* apresentam importante valor comercial, sendo suas madeiras empregadas na construção de móveis e materiais para construção civil (GENTRY, 1992; FISCHER et al., 2004).

Além dos usos anteriormente mencionados, Bignoniaceae aparece em diversos trabalhos referentes a estudos relacionados à fitoterapia. Agra et al. (2007), por exemplo, em trabalho sobre plantas medicinais no Nordeste brasileiro aponta 11 espécies de Bignoniaceae empregada em fins terapêuticos, dentre elas *Anemopaegma laeve* DC. (afrodisíaco), *Jacaranda caroba* (Vell) A.DC. (tratamento de sífilis e úlcera), *Mansoa hirsuta* DC. (no combate à diabetes), *Tabebuia aurea* (Silva-Manso) Benth. & Hook.f. ex S. Moore (gripes e bronquites), *Handroanthus impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos (combate ao câncer e inflamações diversas). Aboutab et al. (2010) descreve diferentes usos medicinais tradicionais para a espécie *Dolichandra unguis-cati* (L.) L. G. Lohmann, tais como picada de cobra, diarreia, inflamação, reumatismo e verminoses. Estes autores comprovaram ainda por meio de experimentos realizados em laboratório que *D. unguis-cati* apresenta propriedades químicas com atividade analgésica e antipirética. De forma semelhante, Zoghbi et al. (2009) realizou um apanhado de informações referentes aos usos medicinais de espécies do gênero *Mansoa*, dentre os quais aparecem a atividade vermífuga, analgésico, antipirético e tônico, além do combate ao reumatismo, resfriados, pneumonia, febres, artrites e fadiga muscular.

Outro importante recurso proporcionado pelas Bignoniaceae está relacionada à apicultura (MAIA-SILVA et al., 2012; BENEVIDES; CARVALHO, 2009), tendo em vista que suas inflorescências geralmente apresentam flores grandes, de odor suave e produzem grande quantidade de néctar, o que atrai diversas espécies de abelhas (GENTRY, 1974). Ocasionalmente, algumas espécies apresentam diferentes usos, como *Parmentiera stenocarpa* Dugand & L. B. Smith, *Parmentiera cereifera* Seemann, *Kigelia africana* (Lam.) Benth., *Mansoa* ssp., e *Tynanthus* ssp. que podem serem usadas na preparação de bebidas, temperos e alimentos; e *Crescentia cujete* L., com exocarpo bastante usado para confecção de vasilhas e no artesanato em diversas comunidades tradicionais (GENTRY, 1992).

2.4 Filogenia e classificação da família Bignoniaceae

Tradicionalmente a família Bignoniaceae foi dividida por Gentry (1980) em oito tribos: Bignonieae, Tecomeae, Crescentieae, Coleeae, Tourrettieae, Eccremocarpeae, Oroxyleae e Schlegelieae, tomando como base, especialmente, o hábito das plantas, assim

como caracteres morfológicos e deiscência dos frutos. Nesta classificação Oroxyleae foi tratado como grupo basal da família por apresentar cinco estames e número cromossômico $2n = 28$ e 30 nos gêneros *Oroxylum* e *Millingtonia*, respectivamente (GOLDBLATT; GENTRY, 1979). Para Gentry (1980) uma possível espécie de hábito arborecente semelhante aos membros de Oroxyleae, com cinco estames, folhas compostas e pinadas e número cromossômico $2n = 28$ seria o ancestral da família. Essa espécie ancestral teria perdido um estame e seu cariótipo teria sofrido variações até a estabilidade em $2n = 40$, número comumente encontrado na família.

Análises filogenéticas realizadas por Spangler e Olmstead (1999) sugeriram revisão na classificação da família Bignoniaceae. As análises dos genes *rbcL* e *ndhF* demonstraram que para ser monofilética é necessária a exclusão de alguns gêneros tradicionalmente incluídos na família Bignoniaceae, como *Paulownia* e *Schlegelia*. Em relação a classificação infrafamilial as tribos Bignonieae, Crescentieae e Coleeae formaram grupos monofiléticos, entretanto, a tribo Tecomeae apresentou-se parafilética. A partir de então, diversas análises moleculares em determinadas tribos e gêneros dentro da família Bignoniaceae, como Bignonieae (LOHMANN, 2006), Coleeae (ZJHRA et al., 2004), *Incarvillea* (CHEN et al., 2005), Crescentieae e *Tabebuia* (GROSE; OLMSTEAD, 2007a,b), e *Catalpa* (LI, 2008) tem contribuído para a organização da família.

Desta forma, Olmstead et al. (2009), baseando-se nas análises de filogenia molecular classificaram a família Bignoniaceae em oito tribos: Bignonieae, Catalpeae, Coleeae, Crescentieae, Jacarandaeae, Oroxyleae, Tecomeae e Tourrettieae. Dois grandes clados, Bignonieae e Crescentiina, abrigam cerca de 80% das espécies da família. Crescentiina é formado por dois subclados distintos: um estritamente Neotropical, denominado *Tabebuia* alliance, e outro formado por espécies do velho mundo, denominado clado Paleotropical. Determinados gêneros permaneceram com posição incerta dentro das tribos ou clados, como *Argylia* e *Delostoma*. Nesta classificação, a tribo Jacarandaeae foi tratada como grupo irmão do core Bignoniaceae. Além dos caracteres moleculares, aspectos morfológicos como folhas pinadas, estaminódio maior que os estames, cálice lobado apresentando profunda divisão, frutos circulares e achatados, perpendicular ao septo, e cariótipo de $2n = 36$ cromossomos contribuem para assegurar Jacarandaeae como grupo basal da família Bignoniaceae (OLMSTEAD et al., 2009).

2.5 Citogenética

Bignoniaceae geralmente apresenta variação numérica euploide ($2n = 40, 80$ cromossomos), o que indica que o número básico haploide para esta família é de $n = 20$ cromossomos (GOLDBLATT, 1976). Entretanto, determinadas espécies dentro da família Bignoniaceae apresentam número cromossômico dessemelhante, a exemplo do clado Jacarandae, onde predomina $2n = 36$ (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; PIAZZANO, 1998; COSTA, 2006), os gêneros *Tecoma* ($2n = 36$, PIAZZANO, 1998; GOLDBLATT; GENTRY, 1979), *Incarvillea* ($2n = 22$, CHEN et al., 2004) e *Oroxylum* e *Millingtonia* ($n = 14, n = 15$, respectivamente, GOLDBLATT, 1976).

Para Goldblatt e Gentry (1979) a predominância de $n = 20$ na maioria das espécies de Bignoniaceae, o registro de $n = 14$ e $n = 15$ da então primitiva tribo Oroxyleae (*Oroxylum* e *Millingtonia*) e nos gêneros herbáceos *Argyria* ($n = 15$) e *Incarvillea* ($n = 11$) pressupõem que o número básico ancestral para a família é $n = 7$ cromossomos com sucessivos eventos de aneuploidia em diferentes linhagens da família. Piazzano (1998), ao corroborar com estas afirmativas, justifica que o número haploide $n = 20$, frequente na maioria das Bignoniaceae, derivaria da união de três conjuntos de sete cromossomos com perda de um cromossomo, tendo a poliploidia um papel significativo na evolução cariotípica da família. Em contrapartida, análises de filogenia molecular apontam Jacarandae como grupo basal da família Bignoniaceae (OLMSTEAD et al., 2009). Tal informação aliada aos constantes registros cromossômicos de $2n = 36$ para *Jacaranda* (COSTA, 2006) podem indicar que o número básico ancestral para a família Bignoniaceae seria $n = 18$.

Alguns estudos citogenéticos em Bignoniaceae têm apresentado espécies poliploides, especialmente referidos aos gêneros *Dolichandra* ($2n = 80$, PIAZZANO, 1998), *Pyrostegia* ($2n = 80$, SAMPAIO, 2010), *Handroanthus* ($2n = 80$, ORTOLANI, 2007; $2n = 120$, SAMPAIO, 2010; ALVES et al., 2013) e *Anemopaegma* ($2n = 80$, SAMPAIO, 2010; FIRETTI-LEGGIERI et al. 2011). A poliploidia em *Handroanthus* e *Anemopaegma* geralmente está relacionada a sementes poliembriônicas, resultantes de tecidos somáticos dos óvulos destas espécies, indicando a ocorrência de apomixia esporofítica em seus sistemas reprodutivos (SAMPAIO, 2010, FIRETTI-LEGGIERI et al. 2011). A poliploidia em *Anemopaegma* pode estar relacionada a autopoliploidia, como também a eventos de hibridizações entre parentes diploides com $2n = 40$, uma vez que em populações simpátricas de *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellfeld ex de Souza e *A. glaucum* Mart. ex DC., por

exemplo, podem se observar indivíduos de morfologia intermediária entre estas espécies (FIRETTI-LEGGIERI, 2009, FIRETTI-LEGGIERI et al., 2011).

Além da poliploidia, pode-se observar na citogenética de Bignoniaceae variações intraespecíficas no número cromossômico de determinadas espécies, como *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers, onde registra-se $2n = 40$ (VENKATASUBBAN, 1944), $2n = 60$ (GOLDBLATT; GENTRY, 1979) e $2n = 80$ (SAMPAIO, 2010), *Spathodea campanulata* P. Beauv. com $2n = 26, 36, 38$ (GOLDBLATT; GENTRY, 1979), *Campsis grandiflora* (Thunb.) K.Schum com $2n = 36, 38, 40$ (VENKATASUBBAN, 1944; MOORE, 1974; GOLDBLATT; GENTRY, 1979). Nas espécies da família, esta variação no número de cromossomos pode ocorrer entre diferentes populações onde o número cromossômico não se estabilizou, especialmente nos gêneros *Tecoma*, *Tecomaria*, *Tecomathe* e *Pandorea* (Tabela 1). Números cromossômicos próximos a $2n = 40$ registrados em uma mesma espécie podem representar ainda contagens cromossômicas errôneas, devido sobretudo, ao pequeno tamanho dos cromossomos (GENTRY, 1980).

Na maioria dos cariótipos relativos às Bignoniaceae os cromossomos apresentam-se pequenos e uniformes, o que dificulta a classificação dos mesmos quanto à posição do centrômero e limita o reconhecimento de um par cromossômico em particular (ORTOLANI, 2007). Desta forma, torna-se importante o emprego de técnicas de coloração diferencial para auxiliar o entendimento da citotaxonomia em Bignoniaceae. Entre as 870 espécies da família, apenas 17,38% apresentam registros cromossômicos contabilizados (Tabela 1), contudo, para este grupo de plantas as discussões que abordam a variabilidade cromossômica estrutural por meio dos bandeamentos CMA/DAPI, ou qualquer outra técnica de coloração diferencial são pouco apresentadas e discutidas na literatura, salvo alguns trabalhos sobre espécies cultivadas de *Tecoma* (CONTRERAS et al., 2012), populações naturais de *Adenocalymma* (ENGEL et al., 2012) e em plantas diversas, às quais podem aparecer Bignoniaceae (LIU et al., 2005). O bandeamento com os fluorocromos Cromomicina (CMA) e Diaminidino-2-fenilindol (DAPI) permitem que sejam coradas diferencialmente determinadas regiões do genoma ricas em pares de base GC (CMA⁺) e AT (DAPI⁺) especialmente arrançadas na dupla fita de DNA (GUERRA, 2000; BARROS E SILVA; GUERRA, 2010). As informações obtidas com o uso destes fluorocromos podem auxiliar o entendimento de diversas hipóteses de evolução cariotípica, especiação vegetal, padrões biogeográficos e origem e ancestralidade das espécies (ver por exemplo GUERRA, 1993; CARVALHO et al., 2005; ALMEIDA et al., 2007; SOUZA et al., 2012).

Tabela 1. Número cromossômico em espécies da família Bignoniaceae. (Continua).

Tribo/Clado	Táxon*	2n	Fonte**
Bignoniaceae	<i>Adenocalymma campicola</i> (Pilg.) L.G.Lohmann	40	SP10
	<i>Adenocalymma marginatum</i> (Cham.) DC.	40	P98, P15
	<i>Adenocalymma patulum</i> (Miers) L.G.Lohmann	40	GG79
	<i>Amphilophium paniculatum</i> (L.) Kunth	40	GG79, P98, P15
	<i>Amphilophium pannosum</i> (DC.) Bureau & K. Schum.	40	P98
	<i>Adenocalymma pedunculatum</i> (Vell.) L.G.Lohmann	40	SP10
	<i>Adenocalymma peregrinum</i> (Miers) L.G.Lohmann	40	SP10
	<i>Amphilophium buccinatorium</i> (DC.) L. G. Lohmann	40	MO74, GG79
	<i>Amphilophium crucigerum</i> (L.) L.G.Lohmann	40	GG79, P98, P15
	<i>Amphilophium cynanchoides</i> (DC.) L.G.Lohmann	40	P98, P15
	<i>Anemopaegma acutifolium</i> DC.	80	FL11
	<i>Anemopaegma album</i> Mart. ex DC.	40	FL11
	<i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.) Stellfeld ex De Souza	80	FL11
	<i>Anemopaegma chamberlaynii</i> (Sims) Bureau & K.Schum.	40	MO74, GG79, FL11
	<i>Anemopaegma glaucum</i> Mart. ex DC.	80	FL11
	<i>Anemopaegma orbiculatum</i> (Jacq.) DC.	40	FL11
	<i>Anemopaegma scabriusculum</i> Mart. ex DC.	80	FL11
	<i>Bignonia capreolata</i> L.	40	MO74, GG79
	<i>Bignonia diversifolia</i> Kunth	40	GG79
	<i>Bignonia magnifica</i> W. Bull	40	GG79
	<i>Bignonia aequinoctialis</i> L.	40	GG79
	<i>Bignonia binata</i> Thunb.	40	GG79, P98, P15
	<i>Bignonia callistegioides</i> Cham.	40	P98
	<i>Bignonia corymbosa</i> (Vent.) L.G.Lohmann	40	GG79

Tabela 1. Continuação.

Tribo/Clado	Táxon*	2n	Fonte**
Bignonieae	<i>Callichlamys latifolia</i> (Rich.) K. Schum.	40	GG79
	<i>Cuspidaria convoluta</i> (Vell.) A. Gentry	40	P98
	<i>Cuspidaria cinerea</i> (Bureau ex K.Schum.) L.G.Lohmann	40	GG79
	<i>Cuspidaria sceptrum</i> (Cham.) L.G.Lohmann	40	SP10
	<i>Dolichandra cynanchoides</i> Cham.	40	P98, P15
	<i>Dolichandra dentata</i> (K.Schum.) L. G. Lohmann	40	P98, P15
	<i>Dolichandra uncatata</i> (Andrews) L. G. Lohmann	40	P98
	<i>Dolichandra unguis-cati</i> (L.) L. G. Lohmann	40, 80	GG79, P98, P15
	<i>Fridericia dichotoma</i> (Jacq.) L.G.Lohman	40	GG79, P98, P15
	<i>Fridericia platyphylla</i> (Cham.) L.G.Lohmann	40	SP10
	<i>Lundia corymbifera</i> (Vahl) Sandwith	40	GG79
	<i>Mansoa difficilis</i> (Cham.) Bureau & K.Schum.	36(-38)	GG79
	<i>Mansoa hymenaea</i> (DC.) A.H.Gentry	38	GG79
	<i>Martinella obovata</i> (Kunth) Bureau & K.Schum.	40	GG79
	<i>Pleonotoma jasminifolia</i> (Kunth) Miers	40	GG79
	<i>Pyrostegia venusta</i> (Ker Gawl.) Miers	40, 80	P98, SP10
	<i>Stizophyllum perforatum</i> (Cham.) Miers	40	GG79
	<i>Stizophyllum riparium</i> (Kunth) Sandwith	40	GG79
	<i>Tanaecium jaroba</i> Sw.	40	GG79
	<i>Tanaecium pyramidatum</i> (Rich.) L. Lohmann	40	GG79
<i>Tanaecium selloi</i> (Spreng.) L. G. Lohmann	40	P98	
<i>Tynanthus micranthus</i> Corr. Méllo ex K. Schum.	40	P98, P15	
<i>Xylophragma seemannianum</i> (Kuntze) Sandwith	40	SP10	

Tabela 1. Continuação.

Tribo/Clado	Táxon*	2n	Fonte**
Catalpeae	<i>Catalpa bignonioides</i> Walter	40	GG79, P15
	<i>Catalpa bungei</i> C.A.Mey.	40	SP10
	<i>Catalpa ovata</i> G. Don	40	GG79
	<i>Catalpa speciosa</i> Teas	40	GG79
	<i>Catalpa</i> × <i>erubescens</i> Carrière	40	GG79
	<i>Chilopsis lineares</i> (Cav.) Sweet.	40	GG79
Oroxyleae	<i>Millingtonia hortensis</i> L. f.	30	GG79
	<i>Oroxylum indicum</i> (L.) Kurz	28	GG79
Crescentiina (<i>Tabebuia</i> Alliance)	<i>Cybistax antisiphilitica</i> (Mart.) Mart.	40	OR07, OR08
	<i>Handroanthus capitatus</i> (Bureau & K.Schum.) Mattos	40	A02
	<i>Handroanthus chrysanthus</i> subsp. <i>chrysanthus</i> (Jacq.) Grose	40	A02
	<i>Handroanthus chrysanthus</i> subsp. <i>meridionalis</i> (A. H. Gentry) S. O. Grose	40	P98
	<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	40, 80	P98, OR07, P15
	<i>Handroanthus guayacan</i> (Seem.) S.O.Grose	40	GG79
	<i>Handroanthus heptaphyllus</i> Mattos	40	GG79, P98, OR07
	<i>Handroanthus impetiginosus</i> Mattos	40	GG79, P98, P15
	<i>Handroanthus ochraceus</i> subsp. <i>ochraceus</i> (Cham.) Mattos	40, 80	SP10, P15
	<i>Handroanthus ochraceus</i> subsp. <i>heterotrichus</i> (DC.) S.O.Grose	40	SP10
	<i>Handroanthus ochraceus</i> subsp. <i>neochrysanthus</i> (A.H.Gentry) S.O.Grose	40	SP10
	<i>Handroanthus pulcherrimus</i> (Sandwith) Mattos	40	P98, P15
	<i>Handroanthus serratifolius</i> (A. H. Gentry) S.grose	40, 120	GG79, A13
<i>Roseodendron donnell-smithii</i> (Rose) Miranda	40	SC78	

Tabela 1. (Continuação)

Tribo/Clado	Táxon*	2n	Fonte**
Crescentiina (<i>Tabebuia</i> Alliance)	<i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth. & Hook.f. ex S.Moore	40	P15, SP10
	<i>Tabebuia heterophylla</i> (DC.) Britton	40	GG79
	<i>Tabebuia nodosa</i> (Griseb.) Griseb.	40	SP10
	<i>Tabebuia pallida</i> (Lindl.) Miers	40	SC96
	<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) Bertero ex A. DC.	38, 40	GG79, SC96
	<i>Tabebuia roseoalba</i> (Ridl.) Sand.	40	OR07
	<i>Zeyheria montana</i> Mart.	40	SP10
	<i>Zeyheria tuberculosa</i> (Vell.) Bureau ex Verl.	40	OR07
<i>Tabebuia</i> Alliance - Tribo Crescentieae	<i>Amphitecna latifolia</i> (Mill.) A.H.Gentry	40	MO74
	<i>Amphitecna montana</i> L.O.Williams	40	SP10
	<i>Crescentia cujete</i> L.	40	MO74
	<i>Parmentiera cereifera</i> Seem.	40	V44
	<i>Parmentiera aculeata</i> (Kunth) Seem.	40	V44
	<i>Parmentiera valerii</i> Standl.	40	G89
	<i>Parmentiera macrophylla</i> Standl.	40	SP10
Crescentiina (Paleotropical Clade)	<i>Dolichandrone falcata</i> (Wall. ex DC.) Seem.	40	GJ90
	<i>Dolichandrone spathacea</i> (L.f.) Seem.	40	MO74, GG79
	<i>Dolichandrone stipulata</i> (Wall.) C.B. Clarke	40	GG79
	<i>Fernandoa adenophylla</i> (Wall. ex G.Don)	40	GG79

Tabela 1. Continuação.

Tribo/Clado	Táxon*	2n	Fonte**
	<i>Kigelia africana</i> subsp. <i>africana</i> (Lam.) Benth	40	MO74, GJ90
	<i>Markhamia lutea</i> (Benth.) K. Schum.	40	MO74, GG79, GJ90
	<i>Markhamia platycalyx</i> (Baker) Sprague	40	GG79
	<i>Markhamia stipulata</i> (Wall.) Seem	40	MO74
	<i>Newbouldia laevis</i> (P.Beauv.) Seem.	40 (38)	GG79
	<i>Pajanelia longifolia</i> (Willd.) K.Schum.	40	V44, GG79
	<i>Radermachera xylocarpa</i> (Roxb.) Roxb. ex K. Schum.	36, 40	GG79, GJ90
	<i>Spathodea campanulata</i> P. Beauv.	26, 36, 38	GG79
	<i>Stereospermum chelonoides</i> (L.f.) DC.	40	GG79, GJ90
	<i>Stereospermum kunthianum</i> Cham.	40	GG79
	<i>Stereospermum tetragonum</i> DC.	40	SP10
Paleotropical Clade - Tribo Coleeae	<i>Phyllarthron comorense</i> DC.	40	V44
Tecomeae	<i>Campsis grandiflora</i> (Thunb.) K.Schum.	36, 38, 40	V44, MO74, GG79
	<i>Campsis radicans</i> (L.) Seem.	40	V44, MO74, GG79
	<i>Campsis</i> × <i>tagliabuana</i> (Vis.) Rehder	40	V44, GG79
	<i>Fernandoa adenophylla</i> (Wall. ex G. Don) Steenis	40	MO74, GJ90
	<i>Incarvillea beresowskii</i> Batalin	22	CH04
	<i>Incarvillea compacta</i> Maxim.	22	MO74, CH04
	<i>Incarvillea delavayi</i> Bureau & Franch.	18, 22	MO74, CH04
	<i>Incarvillea dissectifoliola</i> Q. S. Zhao	22	CH04
	<i>Incarvillea emodi</i> (Royle ex Lindl.)		KS12

Tabela 1. Continuação.

Tribo/Clado	Táxon*	2n	Fonte**
	<i>Incarvillea lutea</i> Bureau & Franch.	22	CH04
	<i>Incarvillea mairei</i> (H. Lév.) Grierson	22, 36	V44, MO74, CH04
	<i>Incarvillea olgae</i> Regel	22	MO74, CH04
	<i>Incarvillea sinensis</i> Lam.	22	MO74, CH04
	<i>Incarvillea younghusbandii</i> Sprague	22	CH04
	<i>Incarvillea zhongdianensis</i> Grey-Wilson	22	CH04
	<i>Incarvillea diffusa</i> Royle	22	CH04, KS12
	<i>Incarvillea forrestii</i> Fletcher	22	CH04
	<i>Incarvillea semiretschenskia</i> (B.Fedtsch.) Grierson	22	SP10
	<i>Lamiodendron magnificum</i> Steenis	48	OK98
	<i>Pajanelia longifolia</i> (Willd.) K.Schum.	40	V44
	<i>Pandorea jasminoides</i> (Lindl.) K.Schum.	38	MO74, GG79
	<i>Pandorea pandorana</i> subsp. <i>pandorana</i> (Andrews) Steenis	38	SP10
	<i>Podranea ricasoliana</i> (Tafani) Sprague	38	P15
	<i>Tecoma capensis</i> (Thunb.) Lindl.	36	GG79, P98
	<i>Tecoma fulva</i> subsp. <i>arequipensis</i> (Sprague) J.R.I.Wood	36	GG79
	<i>Tecoma fulva</i> subsp. <i>garrocha</i> (Hieron.) J. R. I. Wood	36	P98, GG79
	<i>Tecoma sambucifolia</i> Kunth	36	GG79
	<i>Tecoma stans</i> var. <i>stans</i> (L.) Juss. ex Kunth	40, 36	V44, GG79, GJ90, P98
	<i>Tecoma stans</i> var. <i>angustatum</i> Rehder	36	SP10
	<i>Tecoma stans</i> var. <i>velutina</i> DC.	36	GG79
	<i>Tecomanthe dendrophila</i> (Blume) K.Schum.	36	GG79
	<i>Tecomanthe speciosa</i> W.R.B.Oliv.	38	GG79
	<i>Tecomaria capensis</i> (Thunb.) Lindl.	34, 36	GG79

Tabela 1. Continuação.

Tribo/Clado	Táxon*	2n	Fonte**
Tourettieae	<i>Tourettia lappacea</i> (L'Hér.) Willd.	40	GG79
<i>Argyria</i>	<i>Argyria uspallatensis</i> DC.	30	MO74, GG79
<i>Delostoma</i>	<i>Delostoma lobbii</i> Seem.	42	GG79
Jacarandaeae	<i>Jacaranda acutifolia</i> Bonpl.	36	SP10
	<i>Jacaranda brasiliiana</i> (Lam.) Pers.	36	CO06
	<i>Jacaranda caerulea</i> (L.) J.St.-Hil.	36	SP10
	<i>Jacaranda caroba</i> (Vell.) DC.	36	SP10
	<i>Jacaranda cuspidifolia</i> Mart.	36	CO06
	<i>Jacaranda decurrens</i> Cham.	36	SP10
	<i>Jacaranda hesperia</i> Dugand	36	GG79
	<i>Jacaranda mimosifolia</i> D. Don	36	GJ90, P98, CO06, P15
	<i>Jacaranda paucifoliata</i> Mart. ex DC.	36	SP10
<i>Jacaranda rufa</i> Silva Manso	36	SP10	
<i>Jacaranda ulei</i> Bureau & K.Schum.	36	SP10	

* Sinônimos corrigidos de acordo com Lohmann e Ulloa (2013).

** Legenda: CO06 (COSTA, 2006); GJ90 (GOLDBLATT; JOHNSON, 1990); MO74 (MOORE, 1974); P98 (PIAZZANO, 1998); GG79 (GOLDBLATT; GENTRY, 1979); V44 (VENKATASUBBAN, 1944); CH04 (CHEN et al., 2004); OR07 (ORTOLANI, 2007); SC96 (SOONTORNCHAINAKSANG; CHAIYASUT, 1996); SC78 (SARKAR et al., 1978); G89 (GOLDBLATT, 1989); A02 (ALCORCÉS DE GUERRA, 2002); FL11 (FIRETTI-LEGGIERI et al., 2011); SP10 (SAMPAIO, 2010); KS12 (KAUR; SINGHAL, 2012); A13 (ALVES et al., 2013); P15 (PIAZZANO et al., 2015).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Material vegetal

Foram analisadas 16 espécies de Bignoniaceae pertencentes ao clado *Tabebuia* alliance (11), Tecomeae (2), Jacarandae (2) e do clado Paleotropical (1). Estas espécies foram previamente cultivadas em vasos plásticos, ou tiveram suas sementes extraídas para germinarem em placas de Petri. A relação dos táxons analisados, coletores e principais informações citológicas estão listados na Tabela 2. Exsiccatas de todo o material analisado foram depositadas no herbário Prof. Jayme Coelho de Moraes (EAN) da Universidade Federal da Paraíba.

3.2 Análise citogenética

Pontas de raízes foram pré-tratadas com 8-hidroxiquinoleína (8-HQ) 0,002 M a 4°C por 24 horas, fixadas em Carnoy 3:1 (etanol absoluto/ácido acético glacial v/v) por 3 horas e estocadas a -20°C. Para o preparo das lâminas, as raízes foram digeridas em uma solução enzimática contendo 2% de celulase e 20% de pectinase, mantidas em câmara úmida a 37°C por uma hora. Em seguida, o material foi esmagado em ácido acético 45% e as lâminas foram congeladas em nitrogênio líquido para remoção da lamínula. As lâminas foram, então, coradas com uma solução de DAPI (2µg/ml):glicerol (1:1, v/v) e, em seguida, analisadas para a seleção das melhores lâminas. Subsequentemente, foram descoradas em etanol-ácido acético (3:1) por 30 minutos à temperatura ambiente e mantidas em etanol absoluto por duas horas a temperatura ambiente. As lâminas foram envelhecidas por três dias a temperatura ambiente e então coradas por uma hora com 10µL de CMA (0,1 mg/ml) e depois, com 10µL de DAPI (2µg/ml) por meia hora, montadas em glicerol/tampão McIlvaine (pH 7,0) (1:1, v/v) e, antes de serem analisadas, estocadas por três dias no escuro para estabilização dos fluorocromos (GUERRA; SOUZA, 2002).

As melhores metáfases foram capturadas em fotomicroscópio Zeiss com câmera de vídeo Axio Cam MRC5 usando o software Axiovision v.4.8. As medições cromossômicas foram realizadas com o auxílio do programa Image Tool v. 3.0 (DONALD et al., 2008). A edição das imagens e construção dos kariogramas foram realizados com o uso do software Adobe Photoshop CS3 v. 10.0.

3.3 Reconstrução da filogenia e evolução cariotípica

Contagens cromossômicas de diversas espécies de Bignoniaceae foram obtidas a partir de dados publicados na literatura (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; PIAZZANO, 1998; CHEN et al., 2004; ORTOLANI, 2007; ALCORCÉS DE GUERRA; NATERA, 2007; ALVES et al., 2013), bem como no referente trabalho, totalizando 39 espécies de diferentes tribos e clados da família. As espécies *Ocimum tenuiflorum* L. (Lamiaceae, $n = 18$), *Justicia betonica* L. (Acanthaceae, $n = 17$) e *Schlegelia parviflora* (Oerst.) Monach. (Schlegeliaceae, $n = 20$) foram selecionadas como grupo externo.

Para a construção das árvores filogenéticas foram usadas sequências de DNA obtidas da base de dados do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>), especificamente das regiões *ndhF*, *rbcL* e *trnL-F*. Para as espécies selecionadas foram extraídas sequências de pelo menos duas regiões. As sequências de nucleotídeos foram editadas e alinhadas separadamente usando o programa BioEdit v.7.2.5 (HALL, 1999). Posteriormente as sequências foram concatenadas e realizadas a análise Bayesiana com o uso do software Geneious v.5.4 (DRUMMOND et al., 2010).

Para reconstruir o número básico ancestral da família Bignoniaceae foram comparados o número cromossômico haploide (n) de cada espécie com as informações de filogenia molecular usando o software Mesquite v.3.03 (MADDISON; MADDISON, 2015). O número cromossômico haploide de cada espécie foi plotado como dado categórico, enquanto a árvore filogenética foi editada manualmente, com o posicionamento dos clados e táxons baseados nas análises Bayesiana dos genes *ndhF*, *rbcL* e da sequência não-codificante *trnL-F*, auxiliados por informações da literatura (GROSE; OLMSTEAD, 2007a,b; OLMSTEAD et al., 2009). A lista das espécies, dados extraídos do GenBank, contagens cromossômicas e referências encontram-se listados no Anexo A.

4 RESULTADOS

4.1 Análises citogenéticas

As espécies analisadas apresentaram cromossomos metacêntricos a submetacêntricos, cariótipos predominantemente simétricos, com tamanhos cromossômicos médios variando de $1,02 \mu\text{m} \pm 0,13$ em *Tabebuia aurea* (Silva Manso)

Benth. & Hook.f. ex S. Moore a $2,85 \mu\text{m} \pm 0,52$ em *Spathodea campanulata* P. Beauv. (Tabela 2). As espécies do clado Jacarandae, *Jacaranda mimosifolia* D. Don e *Jacaranda jasminoides* (Thunb.) Sandwith, apresentaram $2n = 36$, com ocorrência de quatro pares de bandas CMA⁺/DAPI⁻ terminais em *J. mimosifolia* (Fig. 3A-B) e cinco pares de bandas CMA⁺/DAPI⁻ terminais em *J. jasminoides* (Fig. 3C-D). No clado Tecomaea, *Tecoma stans* (L.) Juss. ex Kunth apresentou $2n = 36$, com três pares cromossômicos portando bandas CMA⁺/DAPI⁻ na região proximal (Fig. 3E-F). *Podranea ricasoliana* (Tafani) Sprague, da mesma forma, apresentou $2n = 38$ com bandas CMA⁺/DAPI⁻ na região terminal de três pares cromossômicos (Fig. 3G-H). No clado Paleotropical, *Spathodea campanulata* apresentou $2n = 36$, cromossomos relativamente maiores ($\sim 2,85 \mu\text{m}$) e cinco pares cromossômicos portando bandas CMA⁺/DAPI⁻ (Figs. 4A-B).

No clado Neotropical *Tabebuia* alliance, as espécies dos gêneros *Sparattosperma* Mart. ex Meisner (Figs 4C-D), *Zeyheria* Mart. (Figs. 4E-F), *Crescentia* L. (Figs. 4G-H) e *Tabebuia* Gomes ex DC. (Fig. 5C-H) apresentaram cariótipos com $2n = 40$ e cromossomos com um par de bandas CMA⁺/DAPI⁻ na região terminal, além de um par de pequenas bandas na região proximal. Em *Tabebuia elliptica* (DC.) Sandwith foi observada dois pares de bandas terminais e um par proximal (Figs. 5A-B). Por outro lado, para o gênero *Handroanthus* Mattos, o nível diploide com $2n = 40$ foi observado apenas para *H. impetiginosus* (Mart. ex DC.) Mattos, enquanto *H. chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos e *H. ochraceus* (Cham.) Mattos foram tetraploides com $2n = 80$, e *H. serratifolius* (Vahl) S.Grose apresentou-se hexaploide com $2n = 120$. Em *H. impetiginosus* observou-se um par cromossômico com bandas terminais e outro par com bandas proximais (Fig. 6A-B). Para *H. chrysotrichus* foram observadas três bandas CMA⁺/DAPI⁻ terminais e duas bandas CMA⁺/DAPI⁻ proximais por complemento monoploide (Fig. 6C-D), enquanto *H. ochraceus* apresentou duas bandas terminais e uma proximal por conjunto monoploide (Figs. 6E-F). *H. serratifolius* apresentou duas bandas CMA⁺/DAPI⁻ terminais e uma banda proximal por conjunto monoploide (Figs. 6G-H).

Tabela 2. Lista de espécies de Bignoniaceae analisadas, coletores, números cromossômicos, tamanho médio dos cromossomos e tipos de bandas fluorescentes mais evidentes. (Continua).

Tribo/Espécie	Coletor/número	2n	Tamanho médio (µm)	Bandas CMA⁺/DAPI⁻ por conjunto monoploide	Fig.
Jacarandaeae					
<i>Jacaranda mimosifolia</i> D.Don	LPF-14457	36	1,84	4 terminais	3A-B
<i>Jacaranda jasminoides</i> (Thunb.) Sandwith.	JMPC-131	36**	2,09	5 terminais	3C-D
Tecomeae					
<i>Podranea ricasoliana</i> (Tanfani) Sprague	JMPC-135	38	1,07	3 terminais	3G-H
<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth	LPF-14412	36	1,16	1 terminal, 2 proximais	3E-F
Crescentiina					
Paleotropical clade					
<i>Spathodea campanulata</i> P. Beauv.	JMPC-155	36	2,85	5 terminais	4A-B
Crescentieae					
<i>Crescentia cujete</i> L.	JMPC-137	40	1,21	1 terminal, 1 proximal	4G-H
Tabebuia alliance					
<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.)	EMA-814	80	1,44	3 terminais, 2 proximais	6C-D
<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	SAAL-86	40	1,39	1 terminal, 1 proximal	6A-B
<i>Handroanthus ochraceus</i> (Cham.) Mattos	SAAL-84	80	1,42	2 terminais, 1 proximal	6E-F

Tabela 2. (Continua).

Tribo/Espécie	Coletor/número	2n	Tamanho médio (μm)	Bandas CMA⁺/DAPI⁻ por conjunto monoploide	Fig.
<i>Handroanthus serratifolius</i> (Vahl.) S. O. Grose. Mattos	JMPC-251	120	1,63	2 terminais, 1 proximal	6G-H
<i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth. & Hook.f. ex S. Moore	LPF-14565	40	1,02	1 terminal, 1 proximal	5C-D
<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) Bertero ex A. DC.	JMPC-154	40	1,51	1 terminal, 1 proximal	5E-F
<i>Tabebuia roseoalba</i> (Ridl.) Sandwith	LPF-14590	40	1,67	1 terminal, 1 proximal	5G-H
<i>Tabebuia elliptica</i> (DC.) Sandwith	SAAL-81	40**	1,86	2 terminal, 1 proximal	5A-B
<i>Sparattosperma leucanthum</i> (Vell.) K.Schum.	LPF-15402	40*	1,55	1 terminal, 1 proximal	4C-D
<i>Zeyheria tuberculosa</i> (Vell.) Bureau ex Verl.	LPF-14468	40	1,85	1 terminal, 1 proximal	4E-F

* Primeira contagem cromossômica para o gênero

** Primeira contagem cromossômica para a espécie

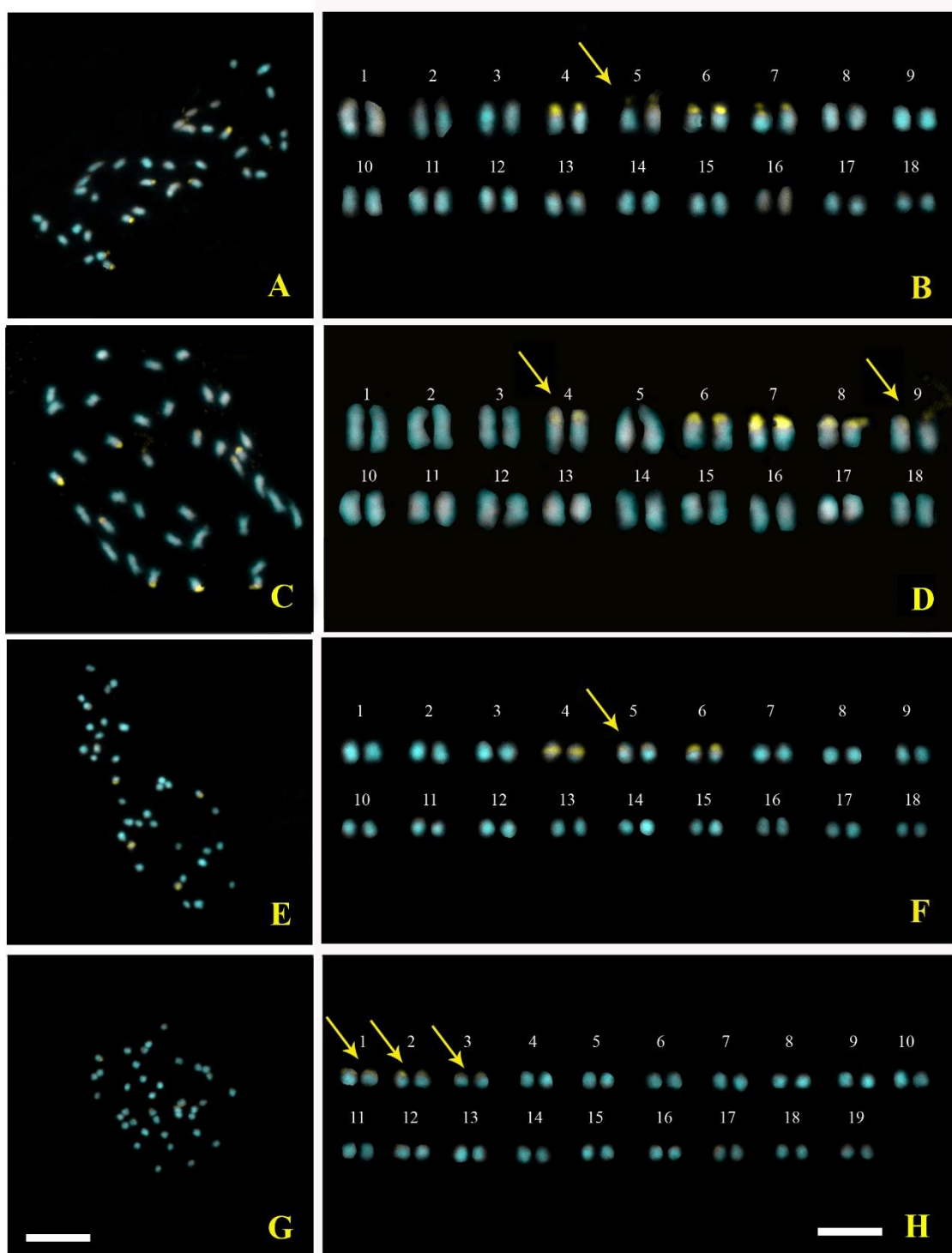


Figura 3. Metáfases mitóticas e respectivos cariogramas das espécies da tribo Jacarandae e Tecomeae. A-B. *Jacaranda mimosifolia* ($2n = 36$); C-D. *Jacaranda jasminoides* ($2n = 36$); E-F. *Tecoma stans* ($2n = 36$); G-H. *Podranea ricasoliana* ($2n = 38$). Barra em G corresponde a $10\mu\text{m}$; Barra em H corresponde a $5\mu\text{m}$.

* Cromossomos homólogos com pequenas bandas CMA terminais ou proximais.

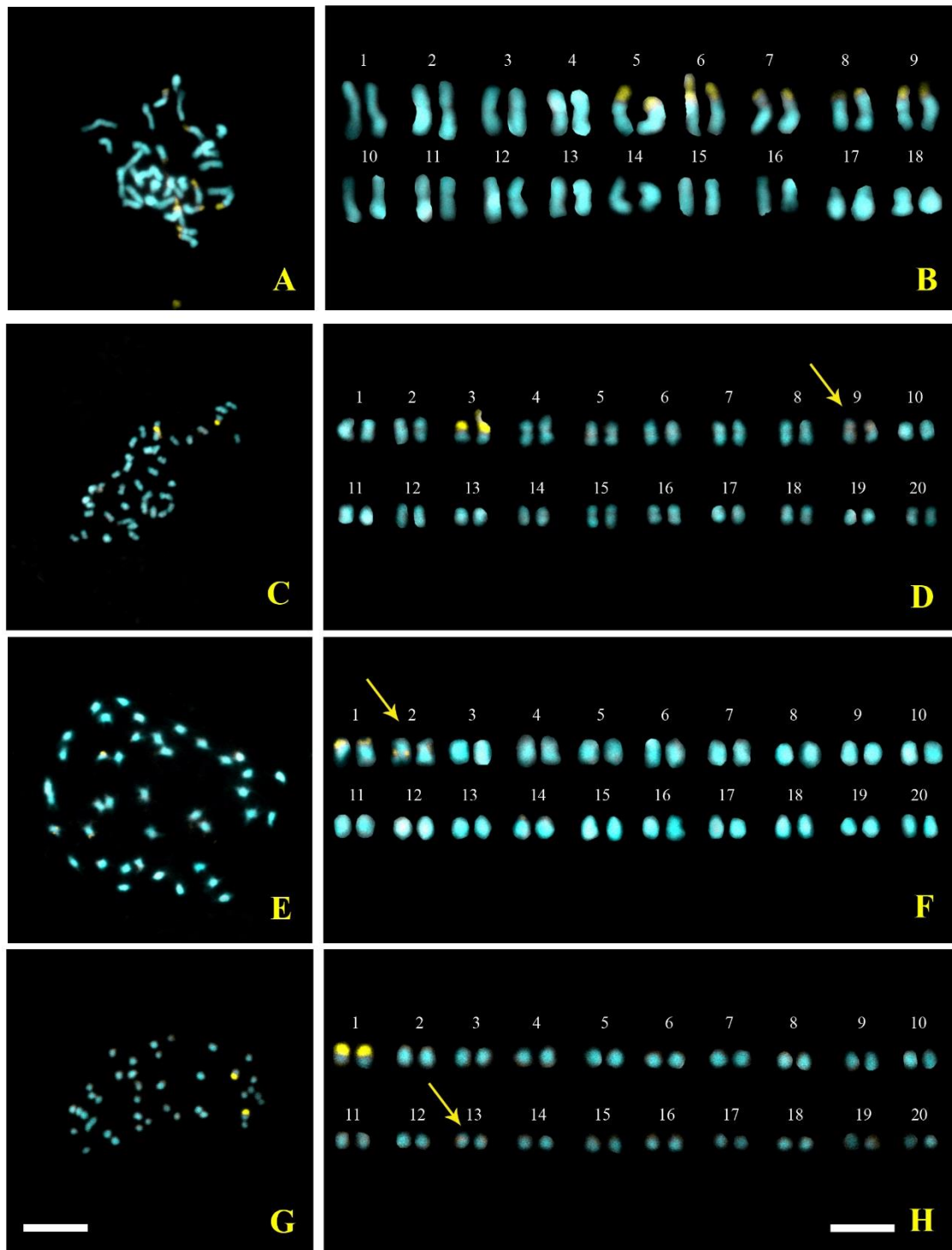


Figura 4. Metáfases mitóticas e respectivos cariogramas das espécies do clado Paleotropical, *Tabebuia* alliance e da tribo Crescentieae. A-B. *Spathodea campanulata* ($2n = 36$); C-D. *Sparattosperma leucanthum* ($2n = 40$); E-F. *Zeyheria tuberculosa* ($2n = 40$); G-H. *Crescentia kujete* ($2n = 40$). Barra em G corresponde a $10\mu\text{m}$; Barra em H corresponde a $5\mu\text{m}$.

* Cromossomos homólogos com pequenas bandas CMA terminais ou proximais.

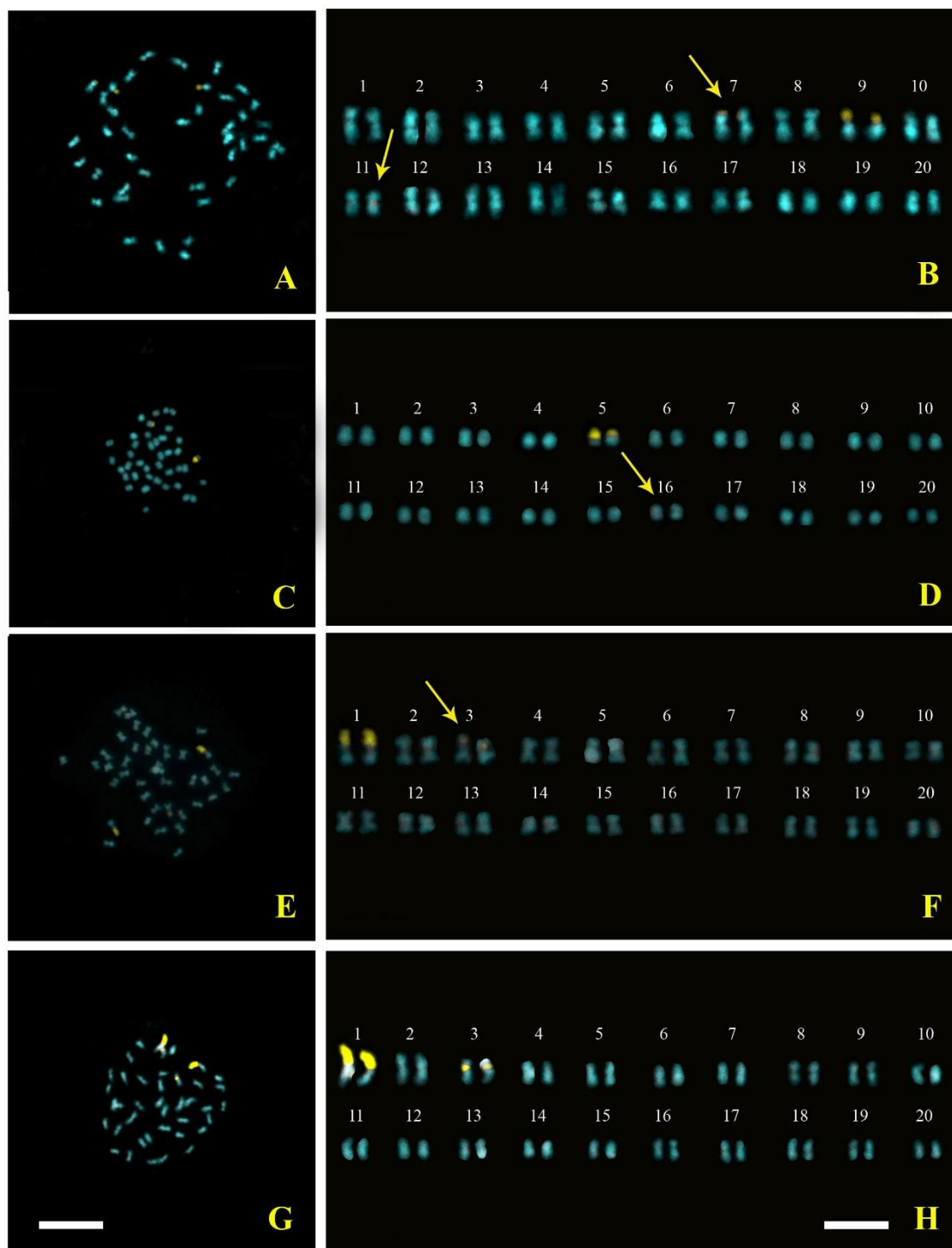


Figura 5. Metáfases mitóticas e respectivos cariogramas ds espécies do gênero *Tabebuia*, clado *Tabebuia alliance*. A-B. *Tabebuia elliptica* ($2n = 40$); C-D. *Tabebuia aurea* ($2n = 40$); E-F. *Tabebuia rosea* ($2n = 40$); G-H. *Tabebuia roseoalba* ($2n = 40$). Barra em G corresponde a $10\mu\text{m}$; Barra em H corresponde a $5\mu\text{m}$.

* Cromossomos homólogos com pequenas bandas CMA terminais ou proximais.

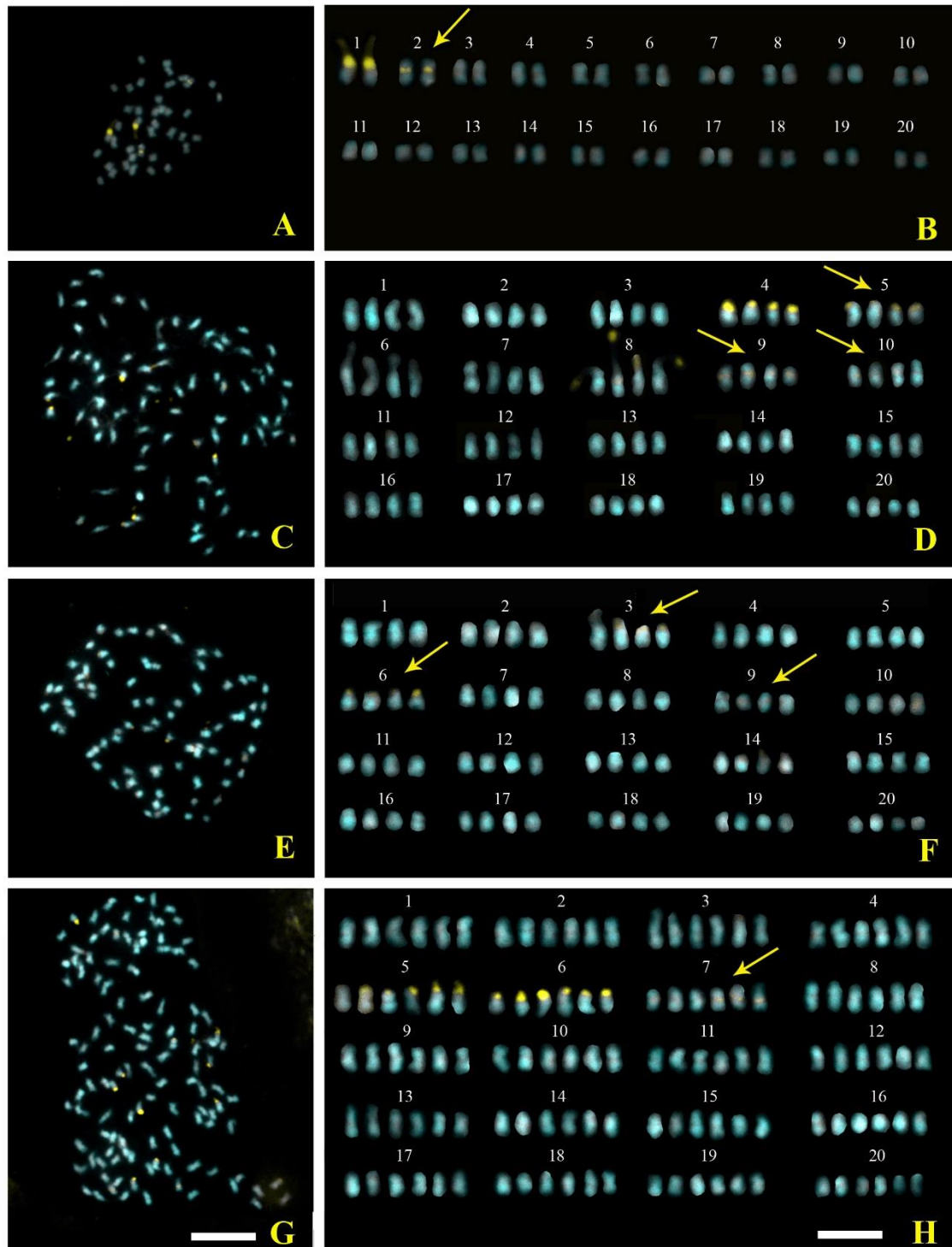


Figura 6. Metáfases mitóticas e respectivos cariogramas de espécies do gênero *Handroanthus*, clado *Tabebuia* alliance. A-B. *Handroanthus impetiginosus* ($2n = 40$); C-D. *Handroanthus chrysotrichus* ($2n = 80$); E-F. *Handroanthus ochraceus* (Figs. 4G-H) ($2n = 80$); G-H. *Handroanthus serratifolius* ($2n = 120$). Barra em G corresponde a $10\mu\text{m}$; Barra em H corresponde a $5\mu\text{m}$.

* Cromossomos homólogos com pequenas bandas CMA terminais ou proximais.

4.2 Reconstrução da filogenia e inferências sobre a evolução cariotípica

As análises de filogenia molecular das regiões *ndhF*, *rbcL* e *trnL-F* em representantes de Bignoniaceae demonstra que a família pode ser dividida em dois clados principais: Jacarandae, como clado basal, e o “core” Bignoniaceae formado pela grande parte das espécies da família. No “core” Bignoniaceae as tribos Tecomeae e Tourrettieae formaram grupos mais primitivos, ao passo que as tribos Bignonieae, Oroxyleae, o clado Paleotropical e *Delostoma* formaram grupos derivados. O clado *Tabebuia* alliance, por sua vez, aparece como grupo mais recente na linhagem evolutiva da família (Fig. 7).

Os dados de filogenia molecular aliados com informações de contagens cromossômicas para espécies de Bignoniaceae possibilitou, pela reconstrução de caráter ancestral, inferir um número básico para cada clado na família. Jacarandae, como clado basal, aparece como com $2n = 36$ cromossomos, o que demonstra que $x = 18$ poderia ser tratado como número básico ancestral da família (Proportional Likelihoods 0.50080766) (Fig. 8). Em contrapartida, o constante registro de $2n = 40$ em diversas espécies da família, aliado a ocorrência deste número cromossômico em famílias próximas, como Schlegeliaceae, apontam também a possibilidade de $n = 20$ ser tratado como número básico ancestral da família Bignoniaceae (Proportional Likelihoods 0.48358112).

O “core” Bignoniaceae apresenta $x = 20$ como número básico ancestral (Proportional Likelihoods 0.96999092), assim como o clado *Tabebuia* alliance (Proportional Likelihoods 0.99894408 para $x = 20$). A variação no número cromossômico da família Bignoniaceae demonstrou-se mais acentuada nos clados basais do core Bignoniaceae, como Tecomeae ($x = 11, 18, 19, 20$) e Oroxyleae ($x = 15$), enquanto os clados mais derivados (Bignonieae, Crescentieae e *Tabebuia* alliance) apresentaram notável estabilidade cariotípica em $x = 20$.

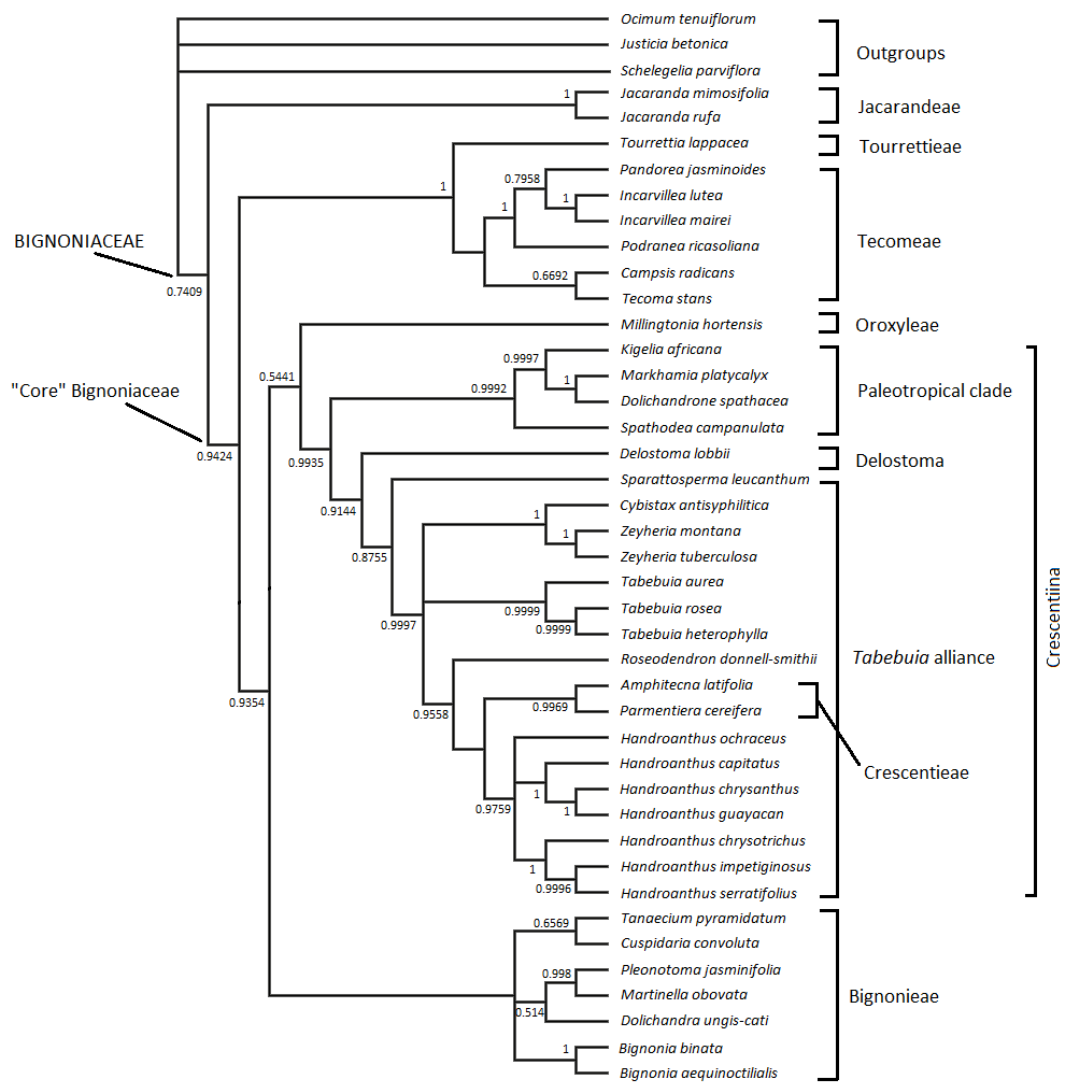


Figura 7. Árvore filogenética de representantes da família Bignoniaceae com base na análise combinada das regiões *ndhF*, *rbcL* e *trnL-F*. Número no clados indicam valores de bootstrap inferidos pela análise Bayesiana. Os nomes dos clados foram organizados conforme Olmstead et al. (2009).

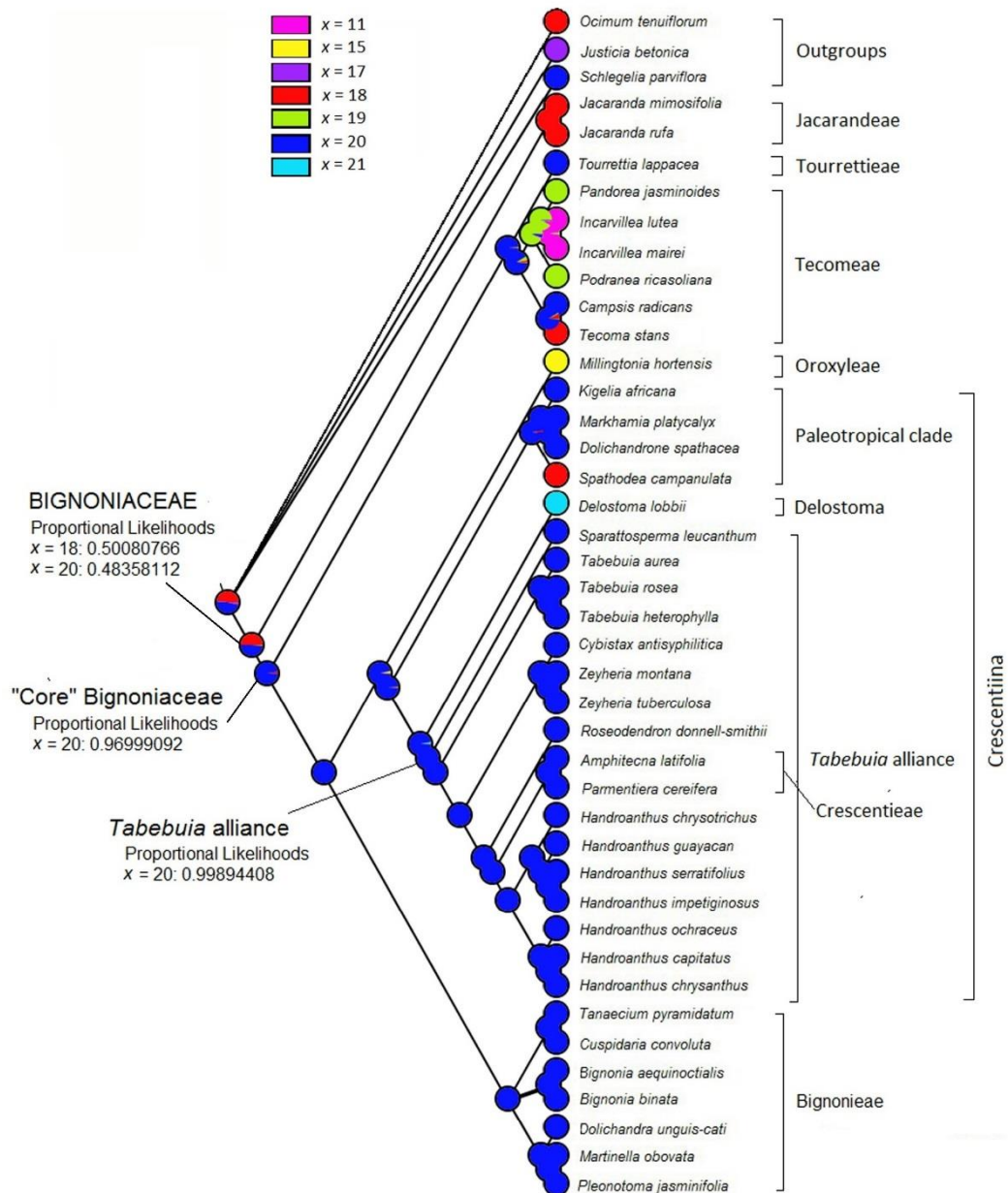


Figura 8. Evolução cariotípica da família Bignoniaceae baseada nas regiões *ndhF*, *rbcL* e *trnL-F* aliadas com informações de contagens cromossômicas das espécies. Os nomes e posicionamento dos clados foram organizados conforme Olmstead et al. (2009).

5 DISCUSSÃO

5.1 Variação cromossômica numérica

Neste trabalho foram registradas contagens inéditas para o gênero *Sparattosperma* Mart. ex Meisn. (*S. leucanthum*, $2n = 40$), para *Jacaranda jasminoides* ($2n = 36$) e *Tabebuia elliptica* ($2n = 40$). Os demais resultados confirmaram contagens

prévias de $2n = 40$, 80 e 120 para as espécies do gênero *Handroanthus*, $2n = 40$ para *Tabebuia* e *Crescentia*, $2n = 36$ para *Jacaranda mimosifolia*, *Tecoma stans* e *Spathodea campanulata* e $2n = 38$ para *Podranea ricasoliana* (MOORE, 1974; GOLDBLATT; GENTRY, 1979; PIAZZANO, 1998; ALVES et al., 2013; PIAZZANO et al., 2015).

Os registros de números cromossômicos para a família Bignoniaceae apresentam em sua maioria $x = 20$, que predomina em quase todas as tribos, com exceção de Jacarandae e Tecomeae. Nas tribos Jacarandae, $n = 18$ ocorre em todas as espécies que apresentou registros cromossômicos (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; PIAZZANO, 1998; PIAZZANO et al., 2015). A tribo Tecomeae, por sua vez, parece ser bastante variável em termos de números cromossômicos, com registros de $n = 11$ para todas as espécies do gênero *Incarvillea* Juss. (CHEN et al., 2004), além de $n = 18$, 19, 20 para os demais gêneros (VENKATASUBBAN, 1944; GOLDBLATT; GENTRY, 1979). Longas séries de variações cromossômicas têm sido registradas em gêneros de diferentes famílias, como em *Lapeirousia* Pourr. (Iridaceae) (GOLDBLATT; TAKEI, 1993), *Senna* Mill. (Fabaceae) (BIONDO et al., 2005), *Centaurea* L. (Asteraceae) (ROMASCHENKO et al., 2004) e *Acianthera* Scheidw. (Orchidaceae) (OLIVEIRA et al., 2015). Além disso, em gêneros como *Tectona* L. f. (Lamiaceae), *Paulownia* Nakai (Paulowniaceae), *Rhaphithamnus* Miers (Verbenaceae) e *Barleria* L. (Acanthaceae), também predomina $n = 18$, 20 (BEDI et al., 1980; SANDERS et al., 1983; DEVI; MATHEW, 1991; LIANG; CHEN, 1997), referidos como grupos externos em análises de filogenia molecular de Bignoniaceae (OLMSTEAD et al., 2009).

Nas espécies de Bignoniaceae analisadas neste trabalho foi registrada a ocorrência de neopoliploidia apenas entre diferentes espécies de *Handroanthus*, do clado *Tabebuia* alliance. Aparentemente, a poliploidia em Bignoniaceae aparece restrita a *Tabebuia* alliance e ao clado Bignonieae, onde também ocorrem poliploidias nos gêneros *Anemopaegma* (FIRETTI-LEGGIERI et al., 2011, 2013), *Pyrostegia* C.Presl. e *Dolichandra* Cham. (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; PIAZZANO, 1998). Estudos envolvendo poliploidia e sistema reprodutivo em espécies de *Handroanthus* e *Anemopaegma* sugerem ocorrências de poliploidia relacionadas a eventos de autofecundação, apomixia esporófitica e sementes poliembriônicas (ALVES et al., 2013; FIRETTI-LEGGIERI et al., 2013). Embora haja registros de hibridização interespecífica em populações naturais de *H. chrysotrichus* e *H. ochraceus* (GENTRY, 1992) e em espécies do gênero *Anemopaegma* (FIRETTI-LEGGIERI et al., 2011,

2013), em nossa amostra, a similaridade dos conjuntos cromossômicos correspondente aos diferentes níveis de ploidia, corrobora a hipótese de um evento de autoploidia.

5.2 Padrões de distribuição de heterocromatina

A distribuição de heterocromatina é amplamente utilizada em estudos de evolução cromossômica em vegetais, especialmente na diferenciação de grupos de plantas com números cromossômicos estáveis como nos gêneros *Citrus* (GUERRA, 1993; BARROS E SILVA et al., 2010), *Sesbania* (FORNI-MARTINS; GUERRA, 1999), *Picea* (SILJAK-YAKOVLEV et al., 2002) e *Spondias* (ALMEIDA et al., 2007). Nas espécies analisadas de Bignoniaceae a heterocromatina rica em GC foi localizada notavelmente nos blocos terminais e, em número variável de bandas menores nas regiões proximais. Essa variabilidade na distribuição da heterocromatina favoreceu seu emprego citotaxonomico para a caracterização de diferentes grupos de Bignoniaceae. No clado *Tabebuia* alliance, por exemplo, *Handroanthus ochraceus* e *H. chrysotrichus*, espécies morfologicamente similares (GENTRY, 1992) e com mesmo número cromossômico ($2n = 80$), podem ser facilmente diferenciadas pela ocorrência de bandas $CMA^+/DAPI^-$ em quantidade maiores em *H. chrysotrichus* quando comparados com o cariótipo de *H. ochraceus*.

As análises cromossômicas com a coloração CMA/DAPI também auxiliaram no entendimento das relações evolutivas em Bignoniaceae, por adicionar uma sinapomorfia ao clado Neotropical *Tabebuia* alliance. Este grupo foi caracterizado pela maioria das espécies apresentarem uma banda CMA^+ terminal maior e uma banda CMA^+ proximal menor por complemento monoploide, seja para os gêneros *Tabebuia*, *Handroanthus*, *Crescentia*, *Sparattosperma* e *Zeyheria* (Fig. 9). Nas espécies analisadas das tribos Jacarandae e Tecomeae, assim como do clado Paleotropical, observa-se o predomínio de cariótipos formados por pequenas bandas CMA^+ terminais (*J. mimosifolia*, *J. jasminoides*, *P. ricasoliana*, *S. leucanthum*) ou bandas CMA^+ proximais (*T. stans*).

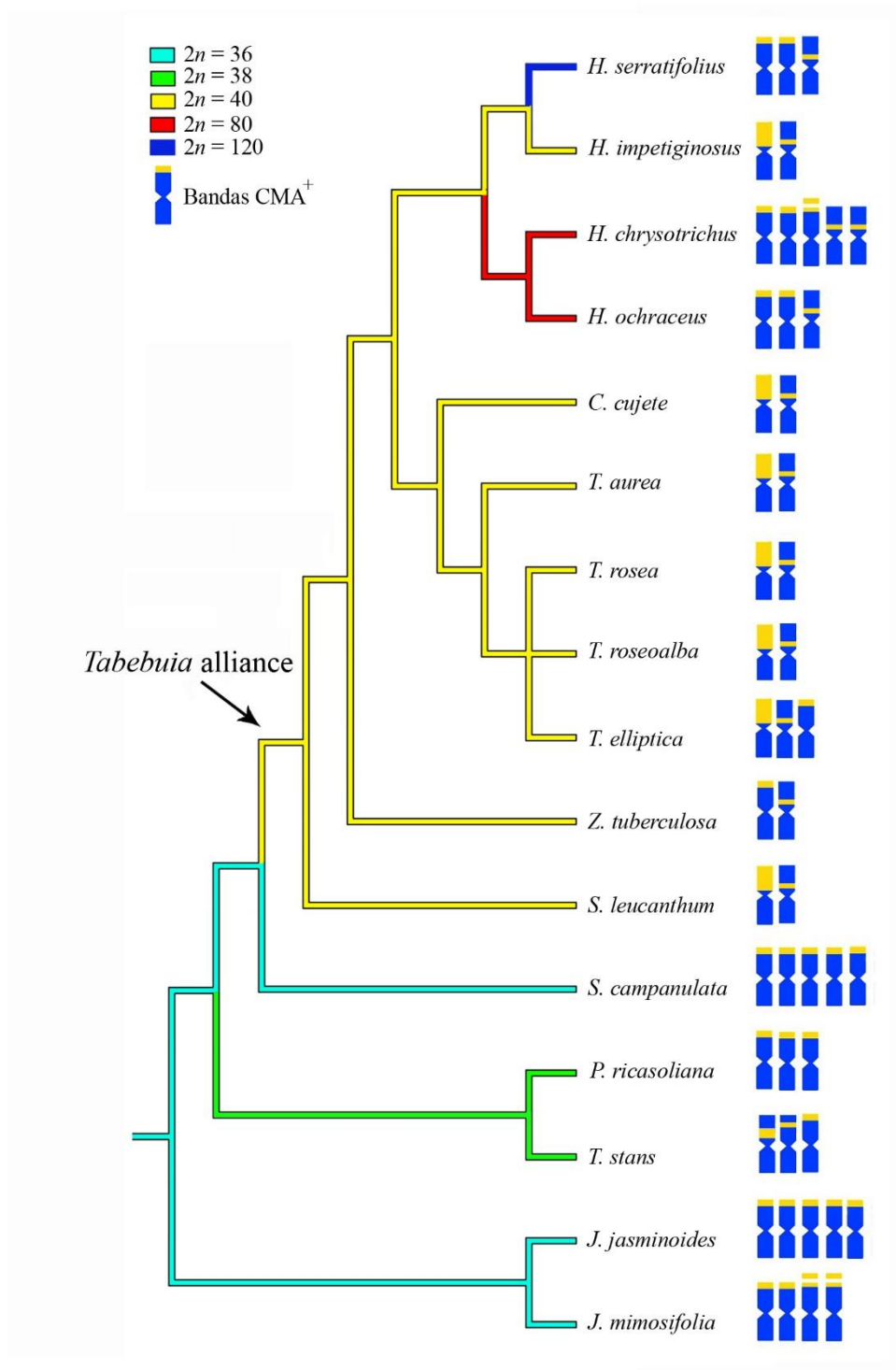


Figura 9. Padrão de bandas heterocromáticas nas espécies de Bignoniaceae analisadas. O posicionamento dos clados e táxons foram baseados em Grose e Olmstead (2007a,b) e Olmstead et al. (2009).

As espécies poliploides *Handroanthus ochraceus*, *H. chrysotrichus* e *H. serratifolius* apresentaram de duas a três bandas CMA⁺/DAPI⁻ terminais e uma ou duas bandas CMA⁺/DAPI⁻ proximais por conjunto monoploide, enquanto *H. impetiginosus*, a

única espécie diploide, apresentou apenas um par de bandas CMA terminal e outro par de bandas proximais. Embora haja o registro de possíveis hibridização interespecífica em populações naturais de *Handroanthus* (GENTRY, 1992), o agrupamento dos cromossomos nas espécies poliploides, auxiliado pelo padrão de bandas heterocromáticas, pode representar eventos de autopoliploidia para essas espécies. O padrão de bandas CMA/DAPI por conjunto monoploide nas espécies poliploides diferente do padrão de bandas da espécie diploide (*H. impetiginosus*) pode estar relacionada a eventos de poliploidia recente com rápida multiplicação de bandas CMA, ou eventos antigos de poliploidia em um ancestral com bandas similares a *H. impetiginosus*, ou ainda a possibilidade de um ancestral com bandas CMA distintos. O uso de diferentes técnicas, como a análise de diferentes populações, análises de meiose, ou mesmo FISH e GISH poderiam explicar melhor os eventos relacionados a poliploidia em espécies do gênero *Handroanthus*.

5.3 Evolução cariotípica

A relação entre o número cromossômico com os dados filogenéticos obtidos a partir das sequências de cloroplastos *ndhF*, *rbcL* e *trnL-F* permitiram entender melhor a evolução cariotípica da família Bignoniaceae. As análises de filogenia molecular confirmam a tribo Jacarandae como grupo basal, irmão das Bignoniaceae centrais (OLMSTEAD et al., 2009). Todas as espécies analisadas nesta tribo apresentam $2n = 36$ (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; PIAZZANO, 1998; PIAZZANO et al., 2015), e a análise da reconstrução de caracteres revelou $x = 18$ como possível número cromossômico básico para a família. A tribo Jacarandae, que inclui espécies arbustivas e arbóreas dos gêneros *Jacaranda* e *Digomphia*, apresenta distribuição Neotropical, e compartilham como características plesiomórficas as folhas pinadas, estaminódio maior que os estames e fruto circular achatado, paralelo ao septo (GENTRY, 1992; OLMSTEAD et al., 2009). Embora Jacarandae seja considerado como grupo mais basal de Bignoniaceae, $x = 20$ também aparece com considerável probabilidade de ser o número básico ancestral da família. Esta hipótese é justificada pela maioria das espécies da família apresentarem $2n = 40$ cromossomos e algumas famílias correlacionadas a Bignoniaceae, como Schlegeliaceae e Paulowniaceae concomitantemente apresentaram $2n = 40$ cromossomos (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; LIANG; CHEN, 1997; PIAZZANO et al., 2015).

O core Bignoniaceae, que inclui a grande maioria das espécies da família, tem como número cromossômico básico $x = 20$. Contudo, o grupo apresenta forte variação numérica, com $n = 11, 18, 19, 20$ em Tecomeae, $n = 15$ em *Argylia*, $n = 21$ em *Delostoma* e $n = 15$ na tribo Oroxyleae. A variação no número cromossômico nestes cladogramas podem estar relacionados ao isolamento geográfico, especialmente em *Incarvillea* ($n = 11$, endêmico do Himalaia), *Podranea* ($2n = 38$, endêmico da África do Sul), *Argylia* ($n = 15$) e *Delostoma* ($n = 21$) endêmicos dos Andes (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; CHEN et al., 2004; OLMSTEAD et al., 2009).

O isolamento geográfico também poderia explicar o registro cromossômico de $n = 14$ e 15 nas espécies *Oroxylum indicum* (L.) Kurz e *Millingtonia hortensis* L. f. da tribo Oroxyleae (GOLDBLATT; GENTRY, 1979). Esta pequena tribo é formada por quatro gêneros e seis espécies, e apresenta distribuição Indo-Malásia e, diferente das demais espécies de Bignoniaceae, apresenta cinco estames (OLMSTEAD et al., 2009). Esta característica de seus estames, aliado ao número cromossômico $n = 14$ e 15 fez com que esta tribo fosse tratada anteriormente como grupo basal da família Bignoniaceae (GOLDBLATT; GENTRY, 1979; GENTRY, 1980). Todavia, as análises de filogenia molecular demonstraram que a tribo Oroxyleae se apresenta em um clado derivado, próximo a Catalpeae e Crescentiina (OLMSTEAD et al., 2009). Embora Oroxyleae esteja posicionado entre cladogramas onde predominam $x = 20$, provavelmente o isolamento geográfico destas espécies nas regiões tropicais da Ásia tenha contribuído para a variação em seu cariótipo.

O clado *Tabebuia* alliance, assim como as linhagens mais derivadas da família Bignoniaceae, apresenta $x = 20$ como número básico ancestral. O cariótipo $2n = 40$ pode estar relacionado a uma maior vantagem evolutiva, em virtude do predomínio desse cariótipo nos maiores cladogramas família, como em Crescentiina e Bignonieae, que abrigam cerca de 80% das espécies de Bignoniaceae (OLMSTEAD et al., 2009). As espécies destes cladogramas exibem diversas adaptações em sua morfologia vegetativa, ampla distribuição nos habitats Neotropicais (Bignonieae, *Tabebuia* alliance) e Paleotropicais (clado Paleotropical) além de apresentarem variações nos níveis de ploidia ($2n = 80$ e 120 cromossomos) (GROSE; OLMSTEAD, 2007a,b; FIRETTI-LEGGIERI et al., 2011; ALVES et al., 2013; LOHMANN; TAYLOR, 2014).

O conjunto de números cromossômicos registrados para a família Bignoniaceae aliados com informações de filogenia molecular sugere que tenha ocorrido uma disploidia ascendente ($n = 18 \rightarrow n = 20$) entre Jacarandae e as Bignoniaceae centrais.

Embora $x = 18$ e $x = 20$ apareçam com ampla probabilidade de serem considerados como número básico para Bignoniaceae, existe ainda a necessidade de entender a politomia existente entre as diversas famílias da ordem Lamiales, especialmente às próximas a Bignoniaceae (Verbenaceae, Lamiaceae, Acanthaceae) que apresentam ampla variação no número cromossômico de suas espécies (DANIEL, 2000; MUKHERJEE; DATTA, 2006; SOUSA et al., 2013). Ao entender a variação cromossômica nestes grupos de plantas poder-se-ia inferir com maior exatidão o número cromossômico básico para Bignoniaceae.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A análise cariotípica de representantes da família Bignoniaceae por meio dos fluorocromos CMA e DAPI permitiram entender a relação entre as espécies de Bignoniaceae, especialmente referente ao clado Neotropical *Tabebuia* alliance. Nas espécies deste clado ocorre o predomínio de um par de bandas CMA⁺/DAPI⁻ terminais e um par de bandas CMA⁺/DAPI⁻ proximais no cariótipo das espécies diploides pertencentes aos gêneros *Tabebuia*, *Handroanthus*, *Zeyheria*, *Sparattosperma* e *Crescentia* analisados. As espécies *Handroanthus chrysotrichus*, *H. ochraceus* e *H. serratifolius* provavelmente são autopoliploides. Entretanto, o padrão de bandas CMA/DAPI por conjunto monoploide nas espécies poliploides diferiu do padrão de bandas da espécie diploide (*H. impetiginosus*), o que sugere eventos de poliploidia recente com rápida multiplicação de bandas CMA, ou eventos de poliploidia antiga, ou ainda a possibilidade de um ancestral com padrão de bandas CMA distintos.

A evolução cariotípica da família Bignoniaceae inferida pela relação entre número cromossômico e informações de filogenia molecular aponta $x = 18$ como provável número básico ancestral da família, sobretudo por Jacarandae (clado basal da família) apresentar $2n = 36$ em suas espécies analisadas cariologicamente. Contudo a hipótese $x = 20$ também aparece com grande probabilidade de ser o número básico ancestral de Bignoniaceae pelo predomínio de $2n = 40$ em suas espécies e em algumas famílias relacionadas, como Schlegeliaceae e Paulowniaceae. O número cromossômico $2n = 40$ observado em grande parte dos representantes da família Bignoniaceae parece ter se estabelecido em linhagens com maiores vantagens evolutivas, tendo em vista que clados mais derivados e numericamente estáveis com $x = 20$ (Bignoniaceae e

Crescentiina) exibem uma ampla variedade de espécies e ocupam uma maior diversidade de habitats nas regiões tropicais do planeta.

REFERÊNCIAS

- ABOUTAB, E. A.; HASHEM, F. A.; SLEMM, A. A.; MAAMOUN, A. A. **Phytochemical and Bioactivity Investigations of *Macfadyena unguis-cati* L. (Bignoniaceae)**. Plant Product Research Journal, v.14, p.19-27, 2010.
- AGRA, M. F.; FREITAS, P. F.; BARBOSA-FILHO, J. M. **Synopsis of the plants know as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil**. Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.17, n.1, p.114-140, 2007.
- ALCANTARA, S.; LOHMANN, L. G. **Evolution of floral morphology and pollination system in Bignoniaceae (Bignoniaceae)**. American Journal of Botany, v. 97, n.5, p.782-796, 2010.
- ALCORCÉS DE GUERRA, N. **Cariología de dos especies del género *Tabebuia* Gomes (Bignoniaceae)**. Revista UDO Agrícola v.2, p.14-21, 2002.
- ALCORCÉS DE GUERRA, N.; NATERA, J. R. M. **Chromosome numbers of three *Tabebuia* species (Bignoiaceae)**. Nordic Journal of Botany, v.25, p.359-360, 2007.
- ALMEIDA, C. C. S.; CARVALHO, P. C. L. & GUERRA, M. **Karyotype differentiation among *Spondias* species and the putative hybrid umbu-cajá (Anacardiaceae)**. Botanical Journal of the Linnean Society, v.155, p.541–547, 2007.
- ALVES, M. F.; DUARTE, M. O.; OLIVEIRA, P. E.; SAMPAIO, D. S. **Self-sterility in the hexaploid *Handroanthus serratifolius* (Bignoniaceae), the national flower of Brazil**. Acta Botanica Brasilica v.27, n.4, p.714-722, 2013.
- ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. **An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the order and families of flowering plants: APG III**. Botanical Journal of the Linnean Society, v.161, p.105-121, 2009.
- BARROS E SILVA, A. E., GUERRA, M. **The meaning of DAPI bands observed after C-banding and FISH procedures**. Biotech Histochem, v.85, p. 115-125, 2010.

BARROS E SILVA, A. E.; MARQUES, A. S.; KARLA, G. B.; GUERRA, M. **The evolution of CMA bands in *Citrus* and related genera.** Chromosome Research, v.18, p.503-514, 2010.

BEDI, Y. S.; BIR, S. S., GILL, B. S. In: **Chromosome number reports LXVII.** Taxon, v.29, p. 353–355, 1980.

BENEVIDES, D. S.; CARVALHO, F. G. **Levantamento da flora apícola presente em áreas de caatinga do município de Caraúbas-RN.** Sociedade e Território, Natal, v.21, n.1-2, Edição Especial, p.44-54, 2009.

BIONDO, E.; MIOTTO, S. T. S.; SCHIFINO-WITTMANN, M. T. **Citogenética de espécies arbóreas da subfamília Caesalpinioideae – Leguminosae do sul do Brasil.** Ciência Florestal, v.15, n.3, p.241-248, 2005.

BITTENCOURT JR., N. S.; MORAES, C. I. G. **Self-fertility and polyembryony in South American yellow trumpet trees (*Handroanthus chrysotrichus* and *H. ochraceus*, Bignoniaceae): a histological study of postpollination events.** Plant Systematics and Evolution, v.288, p.59-76, 2010.

CARVALHO, A. T.; SANTOS-ANDRADE, F. G.; SCHLINDWEIN, C. **Baixo sucesso reprodutivo em *Anemopaegma leave* (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco.** Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v.5, p.102-104, 2007.

CARVALHO, R.; SOARES FILHO, W. S.; BRASILEIRO-VIDAL, A. C.; GUERRA, M. **The relationships among lemons, limes and citron: a chromosomal comparison.** Cytogenet. Genome Res. v.109, p. 276-282, 2005.

CHEN, S. T.; ZHOU, Z. K.; GUAN, K. Y.; NAKATA, M. **Karyomorphology of *Incarvillea* (Bignoniaceae) and its implications in distribution and taxonomy.** Bot. J. Linn. Soc. v.144, p.113-121, 2004.

CHEN, S.; GUAN K.; ZHOU, Z.; OLMSTEAD, R. G.; CRONK, Q. **Molecular phylogeny of *Incarvillea* (Bignoniaceae) based on ITS and trnL-F sequences.** American Journal of Botany, v.92, p. 625-633, 2005.

- CHIARINI, F. E.; SANTIÑAQUE, F. F.; URDAMPILLETA, J. D.; LAS PEÑAS, M. L. **Genome size and karyotype diversity in *Solanum* sect. *Acanthophora* (Solanaceae)**. *Plant Systematics and Evolution*, v.300, p.113-125, 2014.
- CONTRERAS, R. N.; RUTER, J. M.; CONNER, J.; ZENG, Y.; OZIAS-AKINS, P. **Confirmation of hybridity using GISH and determination of 18S rDNA copy number using FISH in interspecific F₁ hybrids of *Tecoma* (Bignoniaceae)**. *Genome*, v.55, p. 437–445, 2012.
- COSTA, R. S. **Caracterização morfológica, citogenética e molecular de espécies de *Jacaranda* (Bignoniaceae) cultivadas em Jaboticabal - SP**. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) – FCAV, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2006.
- CUSIMANO, N.; SOUSA, A.; RENNER, S. S. **Maximum likelihood inference implies a high, not a low, ancestral haploid chromosome number in Araceae, with a critique of the bias introduced by ‘x’**. *Annals of Botany*, v.109, p.681–692, 2011.
- DANIEL, T. F. **Additional chromosome numbers of American Acanthaceae**. *Systematic Botany*, v.25, n.1, p.15-25, 2000.
- DEVI, G. V.; MATHEW, P. M. **Cytological studies in the south Indian Acanthaceae: I. Genus *Barleria* L.** *Cytologia*, v.56, n.353–357, 1991.
- DONALD, C.; BRENT, D. S.; MCDAVID, W. D.; GREER, D. B. UTHSCSA. **Image Tool (IT) – Version 3.0, 2008**. <<http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>>
- DRUMMOND, A. J.; ASHTON, B.; BUXTON, S.; CHEUNG, M.; COOPER, A.; DURAN, C.; FIELD, M.; et al. **Geneious Pro 5.4 by BioMatters, 2010**. <<http://www.geneious.com>>
- ENGEL, T. B. J.; MORAES, A. P.; SAMPAIO, A. P.; YAMAGISHI-COSTA, J. **Hibridização natural e diferenças populacionais em *Adenocalymma* (Bignoniaceae) detectadas por bandeamento CMA₃/DAPI e FISH**. *Anais... Encontro Paulista de Citogenética, Ribeirão Preto-SP*, 2012.
- FEITOZA, L. L.; MARTINS, M. I. G.; CASTRO, A. A. J. F.; FELIX, L. P.; CARVALHO, R. **Cytogenetics of Alismataceae and Limnocharitaceae: CMA/DAPI**

banding and 45S rDNA sites. *Plant Systematics and Evolution*, v.286, p.199-208, 2010.

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

FIRETTI-LEGGIERI, F.; COSTA, I. R.; LOHMANN, L. G.; SEMIR, J.; MARTINS, E. R. F. **Chromosome studies in Bignonieae (Bignoniaceae): The first record of polyploidy in *Anemopaegma*.** *Cytologia*, v.76, n.2, p.185-191, 2011.

FIRETTI-LEGGIERI, F.; LOHMANN, L.G.; ALCANTARA, S.; COSTA, I.R.; SEMIR, J. **Polyploidy and polyembryony in *Anemopaegma* (Bignonieae, Bignoniaceae).** *Plant Reproduction* v.26, p.43-53, 2013.

FISCHER, E.; THEISEN, I.; LOHMANN, L. G. *Bignoniaceae*. In: KADEREIT, J. W.; KUBITZKI, K. (eds.). **The families and genera of vascular plants.** Springer, Berlin, v.7, p. 9-98, 2004.

FORNI-MARTINS, E. R.; GUERRA, M. **Longitudinal differentiation in chromosomes of some *Sesbania* Scop. species (Fabaceae).** *Caryologia*, n.52, p.97-1031, 1999.

GENTRY, A. H. **Bignoniaceae - Part. II. (Tribe Tecomae).** *Flora Neotropica Monog.* v.25, n.2, p.1-370, 1992.

GENTRY, A. H. **Bignoniaceae. Part I. Tribes Crescentieae and Turretieae.** *Flora Neotropica Monograph*, v.25, p.1-131, 1980.

GENTRY, A. H. **Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae.** *Biotropica*, v.6, p.64-68, 1974.

GOLDBLATT, P. **Miscellaneous Chromosome Counts in Asteraceae, Bignoniaceae, Proteaceae and Fabaceae.** *Ann. Mo. Bot. Gard.* v.76, p.1186–1188, 1989.

GOLDBLATT, P. **New or noteworthy chromosome records in the angiosperms.** *Annual Missouri Botanic Garden*, v.64, p.889-895, 1976.

- GOLDBLATT, P.; GENTRY, A. H. **Cytology of Bignoniaceae**. Bot. Not. v.132, p. 475–482, 1979.
- GOLDBLATT, P.; JOHNSON, D. E. (eds). **Index to plant chromosome numbers 1986-1987**. Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden. v.30, p.1-243, 1990.
- GOLDBLATT, P.; TAKEI, M. **Chromosome cytology in the tropical African genus *Lapeirousia* (Iridaceae-Ixioideae)**. Annals of the Missouri Botanical Garden, v.80, p.961–973, 1993.
- GROSE, S. O.; OLMSTEAD, R. G. **Evolution of a charismatic Neotropical clade: molecular phylogeny of *Tabebuia* s. l., Crescentieae, and allied genera (Bignoniaceae)**. Systematic Botany, v.32, n.3, p. 650-659, 2007b.
- GROSE, S. O.; OLMSTEAD, R. G. **Taxonomic revisions in the polyphyletic genus *Tabebuia* s. l. (Bignoniaceae)**. Systematic Botany, v.32, n.3, p. 660-670, 2007a.
- GUERRA, M. **Cytogenetics of Rutaceae. V. High chromosomal variability in *Citrus* species revealed by CMA/DAPI staining**. Heredity, Edinburgh, v.71, p.234-241, 1993.
- GUERRA, M. **Patterns of heterochromatin distribution in plant chromosomes**. Genetics and Molecular Biology, v.23, p.1029-1041, 2000.
- GUERRA, M.; SOUZA, M. J. **Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana**. FUNPEC-Editora, Ribeirão Preto, São Paulo, 2002.
- HALL, T. A. **BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT**. Nucl. Acids. Symp. Ser., v.41, p.95-98, 1999.
- JULLIER, S. **Cromosomas mitóticos de *Dolichandra cynanchoides* y *Macfadyena unguis-cati* (Bignoniaceae)**. Kurtziana, v.20, p. 215–217, 1989.
- KAUR, D.; SINGHAL, V. K. **IAPT/IOPB chromosome data 13**. Taxon, v.61, n.4, p.889–902, 2012.

KOEHLER, S. et al. **Molecular phylogeny of the Neotropical genus *Christensonella* (Orchidaceae, Maxillariinae): species delimitation and insights into chromosome evolution.** *Annals of Botany*, v.102, p.491-507, 2008.

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

LI, J. **Phylogeny of *Catalpa* (Bignoniaceae) inferred from sequences of chloroplast *ndhF* and nuclear ribosomal DNA.** *Journal of Systematics and Evolution*, v.46, p.341-348, 2008.

LIANG, Z.; CHEN, Z. **A cytotaxonomical study of the genus *Paulownia* in China.** *Journal of Huazhong Agricultural University*, v.16, p.609–613, 1997.

LIU, B.; CHEN, C. B.; LI, X. L.; CHEN, R. Y.; SONG, W. Q. **Physical mapping of 45S rDNA to metaphase chromosomes in 30 taxonomically diverse plant species.** *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, v.80, n.3, p.287-290, 2005.

LOHMANN, L. G. *Bignoniaceae*. In: SMITH, N.; MORI, S. A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D. W.; HEALD, S. V. (eds.). **Flowering Plants of the Neotropics.** New Jersey: Princeton University Press. p. 51-53, 2004.

LOHMANN, L. G. *Bignoniaceae*. In: FORZZA, R. C. et al. (eds.). **Catálogo de plantas e fungos do Brasil.** Rio de Janeiro: Andrea Jakobsson Estúdio, p.758-772, 2010.

LOHMANN, L. G. **Untangling the phylogeny of Neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae).** *American Journal of Botany*, v.93, n.2, p.304-318, 2006.

LOHMANN, L. G. *Bignoniaceae*. In: **Lista de Espécies da Flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB113316>> Acesso em 24 Março 2013.

LOHMANN, L. G.; BELL, C. D.; CALIÓ, M. F.; WINKWORTH, R. C. **Pattern and timing of biogeographical history in the neotropical tribe Bignoniaceae (Bignoniaceae).** *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.171, p.154-170, 2013.

LOHMANN, L. G., TAYLOR, C. M. **A new generic classification of tribe Bignoniaceae (Bignoniaceae)**. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v.99, p.348-489, 2014.

LOHMANN, L. G.; ULLOA, C. U. *Bignoniaceae*. In: **iPlants prototype Checklist**. Disponível em: <www.iplants.org> - Acesso em 14 Maio 2013.

MADDISON, W. P., MADDISON D. R. **Mesquite: A Modular System for Evolutionary Analysis**. Version 3.03, 2011. <<http://mesquiteproject.org>>

MAIA-SILVA, C.; SILVA, C. I.; HRNCIR, M.; QUEIROZ, R. T.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. **Guia de plantas visitadas por abelhas na Caatinga**. Fortaleza, CE: Editora Fundação Brasil Cidadão, 2012.

MOORE, R. J. (org.). **Index to plant chromosome numbers for 1972**. *Regnum Vegetabile*, v.91, p.1-108, 1974.

MUKHERJEE, M., DATTA, A. K. **Secondary chromosome associations in *Ocimum* spp.** *Cytologia*, v.71, n.2, p.149-152, 2006.

OLIVEIRA, I. G.; MORAES, A. P.; ALMEIDA, E. M.; ASSIS, F. N. M.; CABRAL, J. S.; BARROS, F.; FELIX, L. P. **Chromosomal evolution in Pleurothallidinae (Orchidaceae: Epidendroideae) with an emphasis on the genus *Acianthera*: chromosome number and heterochromatin**. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.178, p.102–120, 2015.

OLMSTEAD, R. G.; ZHRA, M. L.; LOHMANN, L. G.; GROSE, S. O.; ECKERT, A. J. **A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae**. *American Journal of Botany*, v.96, n.9, p.1731-1743, 2009.

ORTOLANI, F. A. **Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de ipês (Bignoniaceae)**. Tese (Doutorado em Agronomia), FCAV, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

ORTOLANI, F. A.; MATAQUEIRO, M. F.; MORO, J. R.; MORO, F. V.; DAMIÃO FILHO, C. F. **Morfo-anatomia de plântulas e número cromossômico de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart. (Bignoniaceae)**. *Acta botanica brasílica* v.22, n.2, p.345-353, 2008.

PELLICER, J.; KELLY, L. J.; MAGDALENA, C.; LEITCH, I. J. **Insights into the dynamics of genome size and chromosome evolution in the early diverging angiosperm lineage Nymphaeales (water lilies)**. *Genome*, v.56, p.1-13, 2013.

PIAZZANO, M. **Números cromosômicos em Bignoniaceae de Argentina**. *Kurtziana*, v.26, p.179–219, 1998.

PIAZZANO, M.; LAS PEÑAS, M. L.; CHIARINI, F.; BERNARDELLO, G. **Karyotypes and DNA content in Bignoniaceae**. *Caryologia: International Journal of Cytology, Cytosystematics and Cytogenetics*, (ahead-of-print), p. 1-9, 2015.

ROMASCHENKO, K., ERTUĞRUL, K., SUSANNA, A., GARCIA JACAS, N., UYSAL, T. **A new chromosome counts in the *Centaurea jacea* group (Asteraceae, Cardueae) and some related taxa**. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.145, p.345-352, 2004.

SAMPAIO, D. S. **Biologia reprodutiva de espécies de Bignoniaceae ocorrentes no cerrado e variação no sistema de autoincompatibilidade**. Tese (Doutorado em Ecologia e Conservação dos Recursos Naturais) – Universidade Federal de Uberlândia, 2010.

SANDERS, R. W.; STUESSY, T. F.; RODRIGUEZ, R. **Chromosome numbers from the flora of the Juan Fernandez Islands**. *American Journal of botany*, v.70, p.799–810, 1983.

SARKAR, A. K.; CHAKRABORTY, M.; SAHA, N. C.; DAS, S. K.; HAZRA, D. **IOPB chromosome number reports LXII**. *Taxon*, v.27, p. 519–535, 1978.

SILJAK-YAKOVLEV, S.; CERBAH, M.; COULAUD, J.; STOIAN, V.; BROWN, S. C.; ZOLDOS, V.; JELENIC, S.; PAPES, D. **Nuclear DNA content, base composition, heterochromatin and rDNA in *Picea omorika* and *Picea abies***. *Theoretical and Applied Genetics*, v.104, p.505–512, 2002.

SOONTORNCHAINAKSANG, P.; CHAIYASUT, K. **Cytogenetic study of some thai species of flowering plants**. *Thai For. Bull. (BOT.)*. v.24, p.50-61, 1996.

SOUSA, S. M.; PIERRE, P. M. O.; TORRES, G. A.; DAVIDE, L. C.; VICCINI, L. F. **Relationship between pollen morphology and chromosome numbers in Brazilian**

species of *Lippia* L. (Verbenaceae). Anais da Academia Brasileira de Ciências, v.85, n.1, p.147-157, 2013.

SOUZA, L. G. R.; CROSA, O.; SPERANZA, P.; GUERRA, M. **Cytogenetic and molecular evidence suggest multiple origins and geographical parthenogenesis in *Nothoscordum gracile* (Alliaceae).** Annals of Botany, v.109, p. 987–999, 2012.

SPANGLER, R. E.; OLMSTEAD, R. G. **Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences of *rbcL* and *ndhF*.** Annals of the Missouri Botanical Garden v.86, p. 33-46, 1999.

STEVENS, P. F. **Angiosperm Phylogeny Website.** Version 9, 2010. Disponível em: <<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APWeb/orders/lamialesweb.htm#Bignoniaceae>> Acesso em 16 Março 2014.

STUESSY, T. F., BLÖCK, C., VILLASEÑOR, J. L., REBERNIG, C. A., WEISS-SCHNEEWEISS, H. **Phylogenetic analyses of DNA sequences with chromosomal and morphological data confirm and refine sectional and series classification within *Melampodium* (Asteraceae, Millerieae).** Taxon, v.60, n.2, p.436-449, 2011.

VAIO, M.; GARDNER, A.; EMSHWILLER, E.; GUERRA, M. **Molecular phylogeny and chromosome evolution among the creeping herbaceous *Oxalis* species of sections *Corniculatae* and *Ripariae* (Oxalidaceae).** Molecular Phylogenetics and Evolution, v.68, p.199-211, 2013.

VENKATASUBBAN, K. R. **Cytological studies in Bignoniaceae. Part IV. The cytology of *Dolichandrone rheedii* Seem. and allied genera.** Proceedings of the Indian Academical Science B, v.21, p.77-92, 1944.

ZJHRA, M. L., SYTSMA, K. J.; OLMSTEAD, R. G. **Delimitation of Malagasy tribe Coleeae and implications for fruit evolution in Bignoniaceae inferred from a chloroplast DNA phylogeny.** Plant Systematics and Evolution, v.245, p.55-67, 2004.

ZOGHBI, M. G. B.; OLIVEIRA, J.; GUILHON, G. M. S. P. **The genus *Mansoa* (Bignoniaceae): a source of organosulfur compounds.** Brazilian Journal of Pharmacognosy, v.19, n.3, p.795-804, 2009.

CONCLUSÕES GERAIS

- As espécies de Bignoniaceae do clado Neotropical *Tabebuia* alliance apresentam o predomínio de $2n = 40$ cromossomos e um padrão de bandas heterocromáticas formadas por um par de bandas CMA⁺/DAPI⁻ terminal e um par proximal;
- As espécies das tribos Jacarandae, Tecomeae e do clado Paleotropical analisadas apresentaram números cromossômicos de $2n = 36$ e 38 e o predomínio de pequenas bandas CMA⁺/DAPI⁻ terminais;
- As espécies poliploides do gênero *Handroanthus* apresentaram padrão de bandas CMA⁺/DAPI⁻ diferente da espécie diploide, provavelmente devido a eventos de poliploidia recente com rápida multiplicação de bandas CMA, eventos de poliploidia antiga ou a possibilidade de um ancestral com padrão de bandas CMA distintos;
- A reconstrução de caráter ancestral demonstra ambas as possibilidades de $x = 18$ e $x = 20$ serem o número básico ancestral da família Bignoniaceae;
- Os números cromossômicos $2n = 22, 30, 36$ e 38 são mais comuns de serem observados em clados basais, como Jacarandae e Tecomeae;
- O número cromossômico $2n = 40$ aparece com maior ocorrência nas espécies de clados mais derivados, como Bignonieae, Catalpeae e *Tabebuia* alliance;
- Os clados mais derivados de Bignoniaceae onde predominam $x = 20$ (Bignonieae, Crescentiina) apresentam maiores vantagens evolutivas, exibem uma ampla variedade de espécies e ocupam uma grande diversidade de habitats nas regiões tropicais do planeta.

ANEXOS

Anexo A. Lista de espécies da família Bignoniaceae usadas nas análises de evolução cariotípica, códigos das sequências de DNA no GenBank, números cromossômicos e referências das contagens cromossômicas.

Anexo A. Lista de espécies da família Bignoniaceae usadas nas análises de evolução cariotípica, códigos das sequências de DNA no GenBank, números cromossômicos e referências das contagens cromossômicas. (Continua).

Família/Tribo/Espécies	Arquivos no GenBank			Contagens cromossômicas	
	<i>ndhF</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>2n</i>	Referências*
BIGNONIACEAE					
Bignonieae					
<i>Bignonia aequinoctialis</i> L.	AF102629.1	JQ590809.1	FJ870018.1	40	GG79
<i>Bignonia binata</i> Thunb.			FJ870019.1	40	GG79, P98
<i>Cuspidaria convoluta</i> (Vell.) A. Gentry	DQ222573.1		FJ870026.1	40	P98, P15
<i>Dolichandra unguis-cati</i> (L.) L. G. Lohmann	AF102633.1	AF102649.1	FJ870028.1	80	GG79, P98
<i>Martinella obovata</i> (Kunth) Bureau & K.Schum	L36402.1	L36444.1	FJ870046.1	40	GG79
<i>Pleonotoma jasminifolia</i> (Kunth) Miers	DQ222625.1		FJ870053.1	40	GG79
<i>Tanaecium pyramidatum</i> (Rich.) L. Lohmann			FJ870058.1	40	GG79
Tabebuia alliance					
<i>Cybistax antisyphilitica</i> (Mart.) Mart.	EF105003.1		EF105061.1	40	OR07
<i>Handroanthus capitatus</i> (Bureau & K.Schum.) Mattos	EF105045.1	JQ625850.1	EF105107.1	40	AN07
<i>Handroanthus chrysanthus</i> (Jacq.) Grose	EF105031.1		EF105091.1	40	AN07
<i>Handroanthus chrysotrichus</i> (Mart. ex DC.) Mattos	EF105032.1	JX856787.1	EF105092.1	80	P98, Este trabalho
<i>Handroanthus guayacan</i> (Seem.) S.O.Grose	EF105033.1	JQ590844.1	EF105094.1	40	GG79
P98	EF105035.1	JQ590849.1	EF105097.1	40	
<i>Handroanthus ochraceus</i> (Cham.) Mattos	EF105038.1	JQ590856.1	EF105100.1	80	S10, Este trabalho
<i>Handroanthus serratifolius</i> (A. H. Gentry) S.Grose	EF105043.1	JQ626306.1	EF105105.1	120	A13, Este trabalho
<i>Handroanthus impetiginosus</i> (Mart. ex DC.) Mattos.	EF105035.1	JQ590849.1	EF105097.1	40	GG79, Este trabalho

Anexo A. (Continuação).

Família/Tribo/Espécies	Arquivos no GenBank			Contagens cromossômicas	
	<i>ndhF</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>2n</i>	Referências*
<i>Tabebuia</i> alliance					
<i>Roseodendron donnell-smithii</i> (Rose) Miranda	AF102628.1	AF102644.1	EF105093.1	40	SC78
<i>Sparattosperma leucanthum</i> (Vell.) K.Schum.	EF105022.1		EF105082.1	40	Este trabalho
<i>Tabebuia aurea</i> (Silva Manso) Benth. & Hook.f. ex S.Moore	EF105027.1	JX856785.1	EF105087.1		P15, Este trabalho
<i>Tabebuia rosea</i> (Bertol.) Bertero ex A. DC.	EF105040.1	JX856788.1	EF105102.1	40	GG79, Este trabalho
<i>Tabebuia heterophylla</i> (DC.) Britton	L36416.1	HQ384887.1	HQ412942.1	40	GG79
<i>Zeyheria montana</i> Mart.	EF105052.1		EF105114.1	40	S10
<i>Zeyheria tuberculosa</i> (Vell.) Bureau ex Verl.	EF105053.1		EF105115.1	40	OR07, Este trabalho
<i>Tabebuia</i> alliance/Crescentieae					
<i>Amphitecna latifolia</i> (Mill.) A.H.Gentry	EF104997.1	JQ590781.1	EF175740.1	40	MO74
<i>Parmentiera cereifera</i> Seem.	FJ887871.1		FJ870050.1	40	V44
Paleotropical Clade					
<i>Dolichandrone spathacea</i> (L.f.) Seem.	FJ887859.1	KF848232.1	FJ870029.1	40	GG79
<i>Kigelia africana</i> (Lam.) Benth.	AF102632.1	AF102648.1	EF105072.1	40	MO74
<i>Markhamia platycalyx</i> (Baker) Sprague	AY500448.1	AY702564.1	FJ870045.1	40	GG79
<i>Spathodea campanulata</i> P. Beauv.	AY159332.1	JX571895.1	EF105083.1	36	GG79, Este trabalho
<i>Delostoma</i>					
<i>Delostoma lobbii</i> Seem.	EF105005.1		EF105063.1	42	GG79
Oroxyleae					
<i>Millingtonia hortensis</i> L. f.	FJ887869.1		FJ870047.1	30	GG79
Tecomeae					
<i>Campsis radicans</i> (L.) Seem.	AF130144.1	AF102642.1	AY695865.1	40	GG79

Anexo A. (Continuação).

Família/Tribo/Espécies	Arquivos no GenBank			Contagens cromossômicas	
	<i>ndhF</i>	<i>rbcL</i>	<i>trnL-F</i>	<i>2n</i>	Referências*
Tecomeae					
<i>Incarvillea lutea</i> Bureau & Franch.			AY695876.1	22	CH04
<i>Pandorea jasminoides</i> (Lindl.) K.Schum.	AF102636.1	AF102652.1	AY695866.1	38	GG79
<i>Incarvillea mairei</i> (H. Lév.) Grierson			FJ870037.1	22	CH04
<i>Podranea ricasoliana</i> (Tafani) Sprague	DQ222628.1	AF102653.1		38	P15, Este trabalho
<i>Tecoma stans</i> (L.) Juss. ex Kunth	AF130145.1	AF102655.1	FJ870059.1	36	GG79, Este trabalho
Tourrettieae					
<i>Tourrettia lappacea</i> (L'Hér.) Willd.	FJ887876.1		FJ870063.1	40	GG79
Jacarandaeae					
<i>Jacaranda mimosifolia</i> D. Don	JN686638.1	HQ384888.1	EF105070.1	36	P15, Este trabalho
<i>Jacaranda rufa</i> Silva Manso	EF105013.1		EF105071.1	36	SP10
OUTGROUPS					
Schlegeliaceae					
<i>Schlegelia parviflora</i> (Oerst.) Monach	L36410.1	L36448.1		40	GG79
Lamiaceae					
<i>Ocimum tenuiflorum</i> L.		KC894784.1	KP172072.1	36	MK06
Acanthaceae					
<i>Justicia betonica</i> L.		AF289731.1	KF669390.1	34	D00

* Legenda. GG79 – Goldblatt e Gentry (1979), P98 – Piazzano (1998), P15 – Piazzano et al. (2015), OR07 – Ortolani (2007), AN07 – Alcorcés de Guerra e Natera (2007), SP10 – Sampaio (2010), A13 – Alves et al. (2013), SC78 – Sarkar et al. (1978), MO74 – MOORE (1974), V44 – Venkatasubban (1944), CH04 – Chen et al. (2004), MK06 - Mukherjee; Datta (2006), D00 – Daniel (2000).