



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA DE FUNGOS, ALGAS E PLANTAS

Artur Espindola

Evolução do número cromossômico em Miconieae DC. (Melastomataceae)

Florianópolis

2022

Artur Espindola

Evolução do número cromossômico em Miconieae DC. (Melastomataceae)

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e
Plantas da Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do título de Mestre em Biologia de
Fungos, Algas e Plantas.

Orientadora: Profa. Mayara Krasinski Caddah, Dra.

Florianópolis

2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Espindola, Artur
Evolução do número cromossômico em Miconieae DC.
(Melastomataceae) / Artur Espindola ; orientadora, Mayara
Krasinski Caddah, 2022.
42 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Biológicas, Programa de Pós
Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas,
Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Biologia de Fungos, Algas e Plantas. 2. Evolução do
número cromossômico. I. Krasinski Caddah, Mayara . II.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas. III.
Título.

Artur Espindola

Evolução do número cromossômico em Miconieae DC. (Melastomataceae)

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Profa. Mayara Krasinski Caddah, Dra.
Universidade Federal de Santa Catarina

Profa. Ana Paula de Souza Caetano, Dra.
Universidade Federal de Mato Grosso

Prof. Marcelo Reginato, Dr.
Universidade Federal de Rio Grande do Sul

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Biologia de Fungos, Algas e Plantas.

Fernanda Maria Cordeiro de Oliveira, Dra.
Coordenadora do Programa de Pós-Graduação

Mayara Krasinski Caddah, Dra.
Orientadora

Florianópolis, 2022

Dedico este trabalho à Sandra Helena Machado,
minha tia querida, minha segunda mãe.

AGRADECIMENTOS

Vou começar com respeito e carinho, agradecendo a CAPES, a UFSC, e ao PPG FAP pela oportunidade de aprender mais um pouco e por esse tempo pra decidir se eu queria seguir na carreira acadêmica. Ensino público, que ensina a pensar, que te integra e que te faz conhecer outras realidades, não tem preço, eu não seria quem sou sem o IFSC e sem a UFSC.

Daqui pra frente é amor, respeito e carinho, todas as pessoas da minha vida que, nos últimos três anos, me fizeram sorrir, que me trouxeram uma palavra amiga, que aqueceram o meu coração, que entenderam meu drama e a minha personalidade, que me fizeram sentir parte de algo, cada pessoa que fez isso foi importante, se eu não escrevi seu nome, saiba, mesmo assim, que fizestes parte.

À minha orientadora Mayara e demais referências da BOT, meu muito obrigado. May, sei que meu jeito de aprender e meu processo de produção não é dos mais normais, sou muito agradecido por entenderes meu lado e por acreditares que eu poderia ser um cientista, tirando o desespero com as coisas que deram errado, foi divertido, até. É um prazer fazer parte dos Mayaravilhosos, muito carinho por geral lá.

Às pessoas que a PokexGames me trouxe: Airy, Elastic Love, Gustin, O Bulba, O Cozinheiro, Pezy e Zanateli, galera, sem palavras, de verdade, muito obrigado, parece pouco, mas jogar, rir e conversar foram os melhores remédios para aflição.

Aos amigos, irmãos que eu escolhi, à galera do $\mu\lambda$ e do DJ George, meu muito obrigado: Bryan, Bruno, Hugo, João, Jhon, Juvs, Rennan, Tavinho, Tonho, Vini, Viví e Wan. Sei que não é fácil ser amigo de um Drama King, sei que faço caras e bocas, que não paro de falar quando tô animado e que sou muito intenso o tempo todo, obrigado por ficarem e por fazerem minha vida mais completa, mesmo que as circunstâncias da vida nos deixem longe, na maioria das vezes.

À minha família de sangue, meu muito obrigado: tias e tios, madrinhas e padrinhos, mas principalmente aos meus avós Natalina e Lorival, por serem exemplos de acolhimento, de dedicação e de amor. Amo-os, tenho muito orgulho de vocês e tenho orgulho do orgulho que vocês têm de mim. Aos primos e primas também, todos, mas em especial: Cássia, Cris, Darth, Gabriel e Lucas. Agradeço no TCC e agradeço de novo, amo ter vocês por perto, amo ver que a gente se ajuda e se acompanha, acho que demos sorte de ter primos tão unidos, mas só agradeço.

Ao Danilo, meu irmão mais novo, meu muito obrigado. Cara, tu é meu orgulhinho, obrigado por estar aí e por se importar, obrigado por aprender comigo e me ensinar, obrigado por dar significado aos meus erros e acertos. Te amo e to aqui para ti.

Meu muito obrigado a Maristela, Sérgio e Sirlei por me acolherem sempre com um sorriso no rosto quando a Kau me leva pra Anitápolis, vou guardar vocês sempre no meu coração.

A página seguinte é toda para três mulheres, porque sem elas eu literalmente não estaria aqui.

Mãe, a gente não está nem de longe tão próximos quanto fomos ou quanto poderíamos ser, mas tudo que aconteceu não tira minha gratidão por teres sustentado nas costas, sozinha, uma família. Tu é uma mulher de prazeres simples, eu queria de verdade te ver atingindo as pequenas alegrias e as grandes emoções que tu sempre quis. A visão e a interpretação de um filho é sincera e responsiva, mãe, eu e o Dan somos o que somos por causa da tua presença, do teu amor e do teu carinho, tudo que a gente é, é você. A gente ama, a gente cuida, a gente protege, a gente presta atenção, a gente se importa, tudo por tua causa. Obrigado por ter me moldado assim, obrigado por ter respeitado quem eu sou e as decisões que eu tomei na vida, obrigado por vir aqui todo mês me dar um abraço, eu te amo genuinamente e sempre vou estar aqui para ti.

Kau, minha companheira, eu nem sei por onde começar. Eu sempre falei que tu me tirou debaixo do poço e é a mais pura verdade, quando a gente se conheceu éramos e estávamos completamente diferentes, em um momento completamente caótico e desesperador pros dois e olha só quem somos e onde a gente tá! Eu finalmente terminando isso aqui e tu vai fazer o teu mestrado na Antártica! Obrigado por ter me aceitado mesmo estilhaçado por dentro, por ter enxugado minhas lágrimas, por ter segurado minha mão e por ter me deixado fazer o mesmo por ti. Obrigado por estar cuidando do meu amor e por me fazer alguém mais confiante em mim. Eu vou pedir desculpas, tá? Eu sou assim. Desculpas por eu não ser o que tu queria, eu sempre te falei das minhas falhas e faltas, mas tudo que eu te prometi eu reforço aqui, tens em mim alguém pra sempre, me cativastes, eu vou estar aqui pra te ajudar a matar qualquer dragão que apareça no teu caminho, mesmo eu não sendo um príncipe. Eu te amo genuinamente e sempre vou estar aqui para ti.

Tia Sandra, a dedicatória pra ti já diz muito, mas eu preciso botar em palavras tudo que eu to sentindo. Tia, ninguém é como você, eu sempre disse isso. O teu amor é infinito e a tua paciência é quase (haha). Eu sou muito grato por tu ser pra mim o que tu é, praticamente minha segunda mãe, eu não sei o que tu vê em mim, mas é muito bom ver que tu fica feliz quando eu to feliz, é muito bom o teu abraço quando eu preciso, é muito bom a tua revolta com os meus problemas e foi muito importante as tuas ações para tentar resolver alguns deles, lutar a batalha de alguém é a maior demonstração de amor que eu conheço. Obrigado por ser alguém que eu pude desabafar, a Kau ganhou umas folgas com isso e eu fui ganhando minha sanidade de volta, aos pouquinhos. Contigo eu aprendi muito emocionalmente, principalmente a entender que eu preciso ser forte por mim, antes de ser pelos outros. Tia, não é exagero eu dizer que eu não teria terminado o mestrado se não fosse você, porque eu não teria paz e sossego, já que eu não teria lugar para morar, eu não teria paz e tranquilidade, porque eu não teria lugar para voltar e eu não teria paz e alegria, porque eu não teria lugar para pertencer. Eu dei sorte de te ter como tia, tomara que eu consiga te causar todo orgulho que um sobrinho possa causar, muito obrigado por tudo, tia, de coração. Eu te amo genuinamente e sempre vou estar aqui para ti.

“Olhe além, para a consciência vascular que toda vida é um mapa para um conhecimento maior” -Momir Vig, Visionário Simic.

RESUMO

Miconieae conta com estudos acerca de seus cromossomos desde 1980, porém, estes estudos são, em sua maioria, contagens de número cromossômico e algumas hipotetizações acerca de sua evolução com base nas observações destas contagens. Com os avanços nos estudos da biologia reprodutiva do grupo, a apomixia foi evidenciada em espécies com irregularidades na meiose e com números cromossômicos com contagens gametofíticas intrigantes de $n=23$ até $n=26$. Neste trabalho realizamos análises de Reconstrução Ancestral de Caráter a fim de averiguar as seguintes questões: 1) qual o número ancestral da tribo e das suas principais linhagens? e 2) qual o padrão e quão significativos são os eventos de mudança de número cromossômico na história evolutiva do grupo? A inferência filogenética foi realizada utilizando máxima verossimilhança por meio do *RAxML* a partir de marcadores nucleares ETS e ITS de 161 espécies de Miconieae mais *Eriocnema fulva* como outgroup. Foram feitas duas análises de Reconstrução Ancestral de Caráter, uma utilizando o *RASP*, que se utiliza de inferência bayesiana, e outra utilizando o *Chromevol*, que se utiliza de máxima verossimilhança. A partir dos resultados obtidos, algumas hipóteses trazidas em trabalhos anteriores, como $n=17$ ser o número haploide ancestral de Miconieae, receberam mais suporte. Foram reconstruídos também como 17 os números ancestrais dos grandes clados internos ao grupo, com exceção de 'Miconia I' cujo número ancestral aparece como 34. A reconstrução através do *Chromevol* permitiu a inferência de eventos de alteração de número cromossômico que provavelmente tiveram ação no grupo, como disploidias, aneuploidias, duplicações, aloploidias e autoploidias. Muitas espécies que possuem a mesma contagem gametofítica não foram agrupadas, além disso mais de 90% dos momentos de mudança são ligados diretamente a um terminal o que levantou três hipóteses: 1) Miconieae nunca teve um histórico de alteração no número cromossômico e passou a sofrer mudanças somente nesses ramos mais recentes; 2) Miconieae sempre teve um histórico de mudanças de número cromossômico, mas existe um ou mais processos (p.e. citogenéticos ou populacionais) que regridem, de alguma forma, essas mudanças, fazendo com que o rastro delas seja apagado na reconstrução das linhagens, já que as espécies atuais são, na maioria, $n=17$; ou 3) as espécies com contagem entre $n=22$ e $n=27$ seriam na verdade triploides (indivíduos $3n$, híbridos ou não), que devido a problemas de meiose, faria o número das contagens gametofíticas não corresponderem a 'n' e sim a aproximadamente '1,5n', resultando em uma análise não tão acurada do programa.

Palavras-chave: filogenia; Melastomataceae; poliploidia; triploidia.

ABSTRACT

Miconieae has studies about its chromosomes since 1980, however, these studies are mostly chromosome number counts and some hypotheses about its evolution based on observations of these counts. As studies of the reproductive biology of the group goes on, apomixis was evidenced in species with irregularities in meiosis and with chromosome numbers with puzzling gametophyte counts from $n=23$ to $n=26$. In this work, we performed Ancestral Character Reconstruction analysis to investigate the following questions: 1) what is the ancestral chromosome number of the tribe and its main lineages? and 2) what is the pattern and how significant are the chromosome number change events in the evolutionary history of the group? Phylogenetic inference was performed using maximum likelihood through *RAxML* from ETS and ITS nuclear markers of 161 species of Miconieae plus *Eriocnema fulva* as outgroup. It was performed two Ancestral Character Reconstruction one in *RASP*, which uses Bayesian inference, and one in *Chromevol*, which uses maximum likelihood. From the obtained results some hypotheses in previous works, such as $n=17$ being the ancestral haploid number of Miconieae, received further support through the evidences raised in this work. The ancestral chromosome numbers of major internal clades were also reconstructed as 17, with the exception of 'Miconia I', whose ancestral number was reconstructed as 34. The reconstruction through *Chromevol* allowed the inference of chromosome number change events that probably took place in the group, such as dysploidy, aneuploidy, duplication, allopolyploidy and autopolyploidy. Many species with the same gametophyte count were not grouped, in addition, more than 90% of the moments of chromosome change are directly linked to a terminal, which raised three hypotheses: 1) Miconieae never had a history of alteration in the chromosome number and started to suffer changes only in these more recent branches; 2) Miconieae has always had a history of chromosome number changes, but there is one or more processes (e.g. cytogenetic or populational) that somehow regress these changes, causing their traces to be erased in the reconstruction of lineages, since the current species are mostly $n=17$; or 3) species with counts between $n=22$ and $n=27$ would actually be triploids ($3n$ individuals, hybrids or not), which, due to meiosis problems, would make the number of gametophytic counts not correspond to 'n' but to approximately '1.5n', resulting in a less accurate analysis of the program.

Keywords: Melastomataceae; phylogeny; polyploidy; triploidy.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	14
MATERIAL E MÉTODOS	16
Contagens cromossômicas	16
Inferência filogenética	16
<i>Chromevol</i>	17
<i>RASP</i>	17
RESULTADOS	18
Dados compilados	18
Árvore filogenética e clados	18
<i>RASP</i>	18
<i>Chromevol</i>	19
Resultado combinado	20
DISCUSSÃO	25
Amostragem e sistemática	25
Reconstrução dos números cromossômicos e hipóteses	25
Inferência dos eventos de alteração de número cromossômico	26
Importância dos clados e dos eventos	28
CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
Avanço no assunto	28
Sobre apomixia	29
<i>RASP e Chromevol</i>	29
Continuidade do tema	29
REFERÊNCIAS	30
Material Suplementar	35

INTRODUÇÃO

Melastomataceae Juss. é uma das maiores famílias de Angiospermas do mundo e apesar de ter distribuição tropical e estar presente em todos os continentes, cerca de 70% de suas espécies estão nas Américas (Clausing & Renner 2001; Michelangeli et al. 2009). Segundo sua circunscrição mais atual, a família contém cerca de 180 gêneros e 5750 espécies (Michelangeli et al. 2019). *Miconia* Ruiz & Pav. sempre foi considerado um gênero diverso, contudo, atualmente os gêneros da tribo Miconieae passaram a ser considerados sinônimos de *Miconia*, que passou a ser um gênero ainda mais diverso, com mais de 1900 espécies (Goldenberg et al., 2008; Michelangeli et al. 2019).

As relações evolutivas entre as espécies e clados em Miconieae [= *Miconia sensu* Michelangeli et al. 2019] vêm sendo esclarecidas através de inúmeros estudos, ancorados, principalmente, no ponto de vista filogenético-molecular e auxiliando em decisões taxonômicas de sinonimização ou separação de espécies, gêneros e tribos (p.e., Michelangeli et al., 2019; Caddah et al. 2022). Apesar dos avanços substanciais gerados por esta abordagem, que se utiliza de sequências de DNA para inferência dos resultados, não houve muito avanço nos conhecimentos de evolução dos próprios cromossomos de Miconieae. Embora não seja um tema novo no grupo, com publicações desde a década de 80, estes trabalhos estão limitados apenas a contagens cromossômicas e conjecturas sobre sua evolução (Solt & Wurdack, 1980; Almeda & Chuang, 1992; Skean, 1993; Almeda, 1997; Goldenberg & Shepperd, 1998; Almeda, 2003; Almeda, 2013; Caetano et al., 2013; Reginato, 2014).

Os cromossomos são as unidades herdáveis do material genético dos eucariotos, e cada um deles é uma única molécula de DNA. Alterações estruturais no conteúdo ou tamanho de um cromossomo, bem como na quantidade dos cromossomos, por quebras, fusões ou duplicações, podem ter implicações evolutivas significativas para linhagens inteiras, como especiações instantâneas, mudança do *fitness* do indivíduo e/ou a inviabilidade deste (Rieseberg & Willis 2007; Alberts et al., 2017; Ashe et al., 2021). Isso se dá pois não só as sequências de DNA do cromossomo são importantes, mas também sua relação com outras sequências dentro e fora dele, ou seja, uma mesma sequência codificante, em regiões diferentes de um mesmo cromossomo pode receber diferentes regulações e, portanto, se comportar diferentemente (Alberts et al., 2017). Tradicionalmente, dados citogenéticos têm sido apresentados de diversas formas como, por exemplo, contagem cromossômica, categorização e mensuração do cromossomo, ou padrão de bandeamento cromossômico. Identificar e entender processos de mudanças cariotípicas em uma perspectiva evolutiva é fundamental para se ter um entendimento mais completo acerca da evolução de um grupo (Guerra, 2008). Recentemente, interpretações dos dados citogenéticos à luz das filogenias moleculares vêm ganhando notoriedade e se mostrando como um método importante para estudos de evolução em plantas (p.e., Chacón et al. 2014; Sader et al. 2019; Chiavegatto et al., 2020).

Estudos cromossômicos em Miconieae tiveram seu início em 1980, quando Solt & Wurdack contribuíram com a publicação que, até hoje, segue sendo o trabalho com maior número de contagens

cromossômicas para Melastomataceae e para a tribo, no qual 247 espécies da família têm suas contagens divulgadas e destas, 125 são para Miconieae (Solt & Wurdack, 1980). Almeda & Chuang (1992), através das contagens cromossômicas de Solt & Wurdack (1980), e de novas contagens próprias, iniciaram as hipotetizações acerca da evolução cromossômica de diversas tribos de Melastomataceae. Para Miconieae, a observação de que a maioria das espécies tinham contagem haploide igual a 17 levou os autores a inferir que este era o número cromossômico ancestral haploide do grupo (Almeda & Chuang, 1992). Almeda seguiu contribuindo com contagens cromossômicas para Melastomataceae e, com base em suas observações, pontuou cinco possíveis padrões evolutivos para a evolução do número de cromossomos no grupo (Almeda 1997). No entanto, apontou que esses padrões não estariam restritos ou mesmo caracterizariam algum grupo, com exceção do padrão “Paleopoliploidia seguido de disploidia limitada”, considerado pelo autor como o predominante para Miconieae (Almeda 1997; Almeda, 2013). Almeda, ao descrever esse padrão, levanta dois possíveis cenários para explicar o número haploide 17 em Miconieae: 1) uma duplicação a partir do número 9, considerado ancestral na família, seguida de uma disploidia ($9 \times 2 - 1$); ou 2) uma origem híbrida a partir do cruzamento de ancestrais com contagens 7 e 10 ou 9 e 8, seguida de uma duplicação (Almeda, 2013).

Estudos de biologia reprodutiva no grupo têm trazido evidências de que Miconieae está entre os táxons com as maiores taxas de apomixia nos Neotrópicos (Goldenberg & Shepherd, 1998; Melo et al., 1999; Santos et al., 2012; Caetano et al., 2013). Com os avanços nas investigações sobre as espécies apomíticas no grupo, foi percebida também uma aparente relação das contagens entre $n=23$ e $n=26$ e apomixia (Goldenberg & Shepherd, 1998; Almeda, 2003; Almeda 2013). As espécies apomíticas estudadas têm sido relatadas como portadoras de irregularidades na meiose produtora dos esporos, podendo ocorrer desde um atraso nos cromossomos durante o processo de divisão celular, ou até a completa ausência da própria meiose, como é o caso de *Miconia albicans* (Sw.) Steud. (Cortez et al. 2012). As implicações destas meioses anormais estão intimamente ligadas à produção de pólenes inviáveis, o que resultou em uma associação muito forte entre erro na meiose, grau de viabilidade dos pólenes, apomixia e contagens entre $n=23$ e $n=26$ (Almeda & Chuang, 1992; Goldenberg & Shepherd, 1998; Almeda, 2003; Cortez et al. 2012; Caetano et al. 2013). Apesar da relação entre essas características ser forte, existem alguns exemplos de espécies testadas para apomixia que excedem esta relação, como, por exemplo, *Miconia dependens* (Pav. ex D. Don) Judd & Majure (= *Clidemia capitellata* (Bonpl.) D. Don), uma apomítica com $n=17$ (Goldenberg & Shepherd, 1998), e *Microlicia australis* (A.St.-Hil. ex Naudin) Versiane & R. Romero (= *Lavoisiera pulchella* Cham.), uma apomítica da tribo Microliceae com 91% de pólenes viáveis (Maia et al. 2013), que levantam dúvidas sobre a amplitude dessa relação.

Mesmo existindo conjecturas bem embasadas em observações de pessoas peritas no assunto, o estudo da evolução de número cromossômico de Miconieae ainda carece de material analítico, baseado em métodos filogenéticos e estatísticos, que tornem os resultados mais robustos e possibilite

avancar no entendimento do assunto dentro da tribo. Reconhecendo esta necessidade, decidimos realizar uma análise de reconstrução ancestral de caráter, a fim de responder as seguintes perguntas: 1) qual o número ancestral do gênero e das suas principais linhagens? e 2) como ocorre e quão significativos são os eventos de mudança de número cromossômico na história evolutiva do grupo? Por fim, o presente trabalho pretende ainda contribuir com pesquisas futuras na área por meio da compilação de todas as contagens cromossômicas de Miconieae disponíveis na literatura até o momento.

MATERIAL E MÉTODOS

Contagens cromossômicas

Foi realizada uma busca exaustiva por contagens cromossômicas de espécies da tribo Miconieae em literatura e bancos de dados. Para fins das análises, foram usadas contagens gametofíticas, devido a este ser o modo obrigatório para o *Chromevol* (ver abaixo). Para as espécies que tinham apenas contagem esporofítica, foi considerada a metade desta contagem. Para as espécies com múltiplas contagens, mas ambas exatas (p.e., *Miconia albicans* n=17 e n=24), foram consideradas todas as contagens. Contagens incertas receberam tratamentos diferentes de acordo com a citação da informação pelo autor: incertezas descritas como, p.e. *Miconia heptamera* n=Ca. 23, foi considerado apenas o número 23; no caso de formas dúbias como, p.e. *M. strigillosa* n=25(26), foram considerados ambos os números; quando autores descreveram contagens como, p.e. *M. elata* 2n=44-48, foram considerados todos os valores inteiros para 'n' dentro desta faixa, nesse caso n=22, n=23 e n=24. Apesar de ser, de certa forma, uma decisão arbitrária, dentre as possíveis formas de interpretação decidimos escolher uma que não excluísse as informações contidas nos artigos originais.

Inferência filogenética

A partir da compilação das espécies de Miconieae com contagens cromossômicas disponíveis na literatura, foram buscadas sequências de ETS e ITS destas espécies no GenBank (ncbi.nlm.nih.gov/genbank/). Estes são os marcadores mais utilizados no grupo, e também os mais informativos filogeneticamente (Caddah et al. 2022). Assim, a matriz de dados final para as análises filogenéticas se constituiu naquelas espécies de Miconieae que possuem contagens cromossômicas e pelo menos uma sequência de DNA no GenBank (ETS e/ou ITS). A matriz final incluiu 161 espécies da tribo Miconieae mais *Eriocnema fulva* Naudin, escolhida como *outgroup* (Goldenberg et al., 2012). Foram utilizadas 320 sequências (160 de ETS e 160 de ITS) disponíveis no GenBank (Material Suplementar). Os nomes utilizados nas árvores e no material suplementar estão de acordo com a circunscrição de Michelangeli et. al. (2019). Para nomes antigos (anteriores à circunscrição de Michelangeli et. al., 2019), veja Material Suplementar. O alinhamento dos nucleotídeos de cada marcador foi realizada no *MAFFT 7* (mafft.cbrc.jp/alignment/server; Kuraku et al., 2013; Katoh et al.,

2019) e a árvore filogenética foi inferida usando máxima verossimilhança por meio do *RAxML* (Stamatakis, 2014), usando a plataforma CIPRES Science Gateway (phylo.org; Miller et al., 2010). Foi utilizada a estratégia ML + Thorough Bootstrap (BS), e GTRGAMMA como modelo de evolução de nucleotídeos. Para fins de organização, a árvore filogenética foi dividida em clados segundo Goldenberg et al. (2008).

Chromevol

Chromevol é uma ferramenta de análise evolutiva de dados cromossômicos, baseada em vários modelos de evolução cromossômica estimados com verossimilhança, em uma abordagem filogenética (Mayrose et al., 2010; Glick & Mayrose, 2014). O *software* é capaz de considerar e apontar os padrões de alteração cromossômica prováveis ao longo das linhagens dentro do objeto de estudo. Devido a isto, vem sendo muito utilizado na última década em reconstruções de evolução cromossômica nos mais diversos grupos de seres vivos (p.e., Pereira et al., 2018; Sader et al., 2019; Chiavegatto et al., 2020). A tabela de contagens gametofíticas compilada da literatura e a árvore filogenética obtida pelo *RAxML* foram submetidas ao *Chromevol* de navegador (chromevol.tau.ac.il). Devido a ausência de dados sobre representatividade dos números cromossômicos nas populações das espécies, as espécies com múltiplas contagens tiveram frequências de cada número gametofítico iguais, p.e *Miconia albicans*: 17=0.5_24=0.5. Também foi inferida a ploidia das espécies por meio da opção *Perform ploidy inference*. Os modelos foram definidos nas suas opções *default*, e foi selecionada a opção para que o próprio *Chromevol* decidisse qual ou quais os melhores modelos para usar através da opção *Run adequacy test*, selecionando *Chromevol best model*. Os modelos usados pelo programa são combinações destes eventos: *base number addition*, *duplication*, *ascending/descending dysploidy* e *duplication by 1.5*.

RASP

Reconstruct Ancestral State in Phylogenies (RASP) é um programa de reconstrução ancestral originalmente desenvolvido para reconstrução de áreas (Yu et al., 2010; Yu et al., 2015), mas já teve suas funções extrapoladas para evolução de cromossomos e demonstrou apresentar resultados pertinentes à discussão (p.e. Sader et al., 2019). Alternativamente ao *Chromevol*, o *RASP* se utiliza de uma abordagem bayesiana (Yu et al., 2020). A árvore filogenética obtida pelo *RAxML* e a tabela com as contagens gametofíticas foram importadas para o *RASP 4.2 win32*. Espécies com mais de uma contagem foram indicadas com mais de um estado (*State*), um para cada contagem. Foi utilizada a estratégia *Bayesian Binary MCMC* (BBM; Ronquist & Huelsenbeck, 2003), número máximo de áreas igual a 1, e as opções *default* para os demais parâmetros. Após a obtenção da reconstrução, para a melhor visualização do resultado foi escolhida a apresentação *topology only* e as cores, bem como os tamanhos dos gráficos, foram editados em *software* de edição de imagem.

RESULTADOS

Dados compilados

Foram encontradas 189 espécies de Miconieae com contagens cromossômicas (Material Suplementar), destas, 161 espécies possuíam sequência ETS e/ou ITS no GenBank e foram incluídas na árvore filogenética. Destas 161 espécies, 30 espécies possuem contagens que denotam algum tipo de incerteza, ou seja, foram encontradas mais de uma contagem para a mesma espécie ou o autor representou a contagem com algum artifício que indica inexatidão da contagem (p.e. *Miconia astroplocama* 2n ca. 48, *Miconia asperiuscula* 2n 30(28), *Miconia prasina* 2n 48-52) e destas 30 espécies, 15 tiveram suas múltiplas contagens levadas em consideração para as análises. Foram encontrados 20 valores diferentes para as contagens gametofíticas, variando entre 12 e 68 cromossomos. Das 161 espécies, 127 (78,88%) apresentaram 17 como contagem gametofítica (Tabela 1).

Árvore filogenética e clados

O alinhamento de ETS resultou em 652 pares de base, dos quais 45,55% se mostraram parcimônio-informativos e 60,43% variáveis. O alinhamento de ITS resultou em 1022 pares de base, dos quais 21,33% se mostraram parcimônio-informativos e 37,48% eram variáveis. A árvore gerada pelo *RAxML* foi dividida em 11 grandes clados, além do *outgroup* (detalhes na figura 1A-C) e 60% dos nós internos apresentou alta sustentação ($BS \geq 70$). O clado ‘Miconia I’ ($BS=100$) foi representado por 3 espécies; o clado ‘Scorpioid’ ($BS=100$) por 7 espécies; o clado ‘Tococa’ ($BS=94$) por 4 espécies; o clado ‘Miconia III’ ($BS=83$) por 21 espécies; o clado ‘Mecranium, Anaectocalyx and allies’ ($BS=64$) por 18 espécies; o clado ‘Caribbean’ ($BS=100$) por 7 espécies; o clado ‘Conostegia’ ($BS=81$) por 23 espécies; o clado ‘Ossaea p.p.’ ($BS=42$) por 11 espécies; o clado ‘Miconia IV’ ($BS=81$) por 22 espécies; o clado ‘Miconia V’ ($BS=55$) por 5 espécies; e o clado ‘Leandra s.s + Clidemia’ ($BS=94$) por 40 espécies.

RASP

Ao total, dos 160 nós ancestrais da árvore inferida, o *RASP* reconstruiu 155 (96,88%) com a contagem igual a 17, dois nós como 23, e as contagens 34, 38 e 68 apareceram cada uma em um único ancestral cada, totalizando 5 valores diferentes para as contagens gametofíticas nos ancestrais (Tabela 1). 148 dos 160 (92,5%) ancestrais foram reconstruídos com probabilidade maior ou igual a 90%.

O programa reconstruiu 53 momentos de mudanças no número cromossômico (momentos de mudança são notados quando um nó ou terminal tem a contagem diferente do seu ancestral). Destes momentos, 48 (90,57%) são mudanças que aconteceram diretamente ligadas a um terminal. Os clados ‘Miconia IV’ e ‘Leandra s.s.+Clidemia’ foram os que apresentaram maior número de momentos de mudança, com 15 cada; além destes, ‘Ossaea p.p.’ apresentou 5 momentos de mudança; ‘Miconia I’ e

‘Miconia V’ 4 cada; ‘Mecranium, Anaectocalyx and allies’ e ‘Caribbean’ 3 momentos cada; e ‘Scorpioid’, ‘Tococa’, ‘Miconia III’ e ‘Conostegia’ foram reconstruídos com apenas 1 momento de mudança de número cromossômico cada.

Tabela 1 - Valores das contagens gametofíticas encontradas para Miconieae e distribuição destes valores entre as espécies (considerando contagens múltiplas), nos ancestrais reconstruídos pelo *RASP*, e nos ancestrais reconstruídos pelo *Chromevol*.

Contagem Gametofítica	Nº de espécies	Nº de ancestrais (<i>RASP</i>)	Nº de ancestrais (<i>Chromevol</i>)
12	1	-	-
14	2	-	-
15	7	-	-
16	2	-	1
17	126	155	156
18	1	-	-
22	2	-	-
23	7	2	1
24	7	-	-
25	5	-	-
26	4	-	-
27	2	-	-
28	1	-	-
31	1	-	-
34	6	1	1
38	1	1	-
46	2	-	-
51	1	-	-
67	1	-	-
68	2	1	1
Total	181	160	160

Chromevol

Segundo as análises do *Chromevol*, o melhor modelo do programa para explicar a evolução cromossômica do nosso conjunto de dados foi o modelo “DysDupDem” (AIC=538,654). Esse modelo considera três eventos de alteração cromossômica para explicar a evolução cromossômica do grupo: disploidia (Dys), duplicação (Dup) e demi-duplicação (Dem).

Dos 160 nós ancestrais da árvore, o *Chromevol* reconstruiu 156 (97,5%) com a contagem gametofítica igual a 17, enquanto que as contagens 16, 23, 34 e 68 apareceram cada uma em um único ancestral cada, totalizando cinco contagens diferentes nos nós ancestrais, ao longo da árvore (Tabela 1).

De acordo com o modelo escolhido pelo programa, os dados apresentaram uma soma de probabilidade de eventos igual a 94,81. Destas, 6,11 são de eventos de adição singular de cromossomo, 59,03 são de eventos de redução singular, 5,96 são de eventos de duplicação e 23,71 são de eventos de demi-duplicação. Do valor 94,81 de probabilidades citado, 83,49 foram calculadas com valores iguais ou maiores que 0,5, ou seja, o evento de alteração do número cromossômico tem probabilidade maior que 50% (é importante fazer essa distinção, porque como o programa se utiliza de métodos matemáticos, todos os ramos foram reconstruídos com alguma probabilidade para todos os eventos citados, mas só terão valor para nós aqueles eventos que superarem a linha de corte de 0,5, estabelecida pelo próprio *Chromevol*). Considerando apenas probabilidades maiores que 0,5, os eventos de adição singular de cromossomo somaram 2,31; eventos de redução singular somaram 53,43; eventos de duplicação 5,54; e eventos de demi-duplicação 22,21. Probabilidades estimadas heurísticamente foram contabilizadas nesses valores.

Ao olhar clado a clado, para o clado ‘Miconia I’, o *Chromevol* estimou dois eventos com probabilidade maior que 0,5, ambos de duplicação, que somaram 1,7; o clado ‘Scorpioid’ apresentou apenas eventos de redução, com 2,0 de probabilidade; ‘Tococa’ não apresentou nenhum evento com probabilidade acima da linha de corte; ‘Miconia III’ apresentou um evento de redução e um de demi-duplicação, que somaram 2,98; ‘Mecranium, Anaectocalyx and Allies’ apresentou dois eventos de redução, dois de duplicação e um de demi-duplicação, que totalizaram 9,02; o clado ‘Caribbean’ apresentou três eventos de redução, que somaram 9,44; ‘Conostegia’ não foi reconstruído com probabilidade maior que 0,5 para nenhum evento; ‘Ossaea p.p’ apresentou dois eventos de redução, um de duplicação e dois de demi-duplicação, que somaram 4,69; ‘Miconia IV’ apresentou um evento de adição, sete de redução, um de duplicação e 12 de demi-duplicação, totalizando 26,51; ‘Miconia V’ apresentou quatro eventos de redução e dois de demi-duplicação, que somaram 8,93; e o clado ‘Leandra s.s. + Clidemia’ apresentou cinco eventos de redução e seis de demi-duplicação, que somaram 14,88.

A inferência do nível de ploidia realizada pelo *Chromevol* apontou que das 181 contagens gametofíticas analisadas 42 contagens foram classificadas como poliplóides (Tabela 2) e 139 como diplóides. Para todas as espécies a pontuação de robustez filogenética, a pontuação de confiabilidade da simulação e a pontuação combinada foram iguais a 1,0.

Resultado combinado

Ao reconstruir os nós ancestrais, os programas apresentaram resultados idênticos em 157 dos 160 nós ancestrais, ou seja, 98,13% das reconstruções foram iguais para ambos os programas.

O ancestral comum de Miconieae foi reconstruído com número haplóide 17 pelos dois programas. Além do ancestral comum da tribo, o *RASP* e o *Chromevol* também concordaram para o ancestral comum dos grandes clados, no qual todos tiveram a contagem de seu ancestral também reconstruída como 17, exceto o clado ‘Miconia I’, cuja contagem gametofítica para o seu ancestral foi 34 (Figura 1A-C).

Tabela 2 - Espécies de Miconieae deste trabalho com contagens gametofíticas inferidas como poliplóides. As espécies que receberam um asterisco (*) são espécies que constam como apomíticas pela literatura e foram compiladas por Goldenberg & Shepherd (1998).

Espécie	Contagem	Espécie	Contagem	Espécie	Contagem
<i>M. albicans*</i>	24	<i>M. elata</i>	22	<i>M. prasina*</i>	25
<i>M. alternidomatia*</i>	23	<i>M. elata</i>	23	<i>M. prasina*</i>	26
<i>M. argentea</i>	22	<i>M. elata</i>	24	<i>M. rubiginosa*</i>	25
<i>M. argentea</i>	23	<i>M. fallax*</i>	34	<i>M. serrulata</i>	46
<i>M. astroplocama</i>	24	<i>M. garcia-barrigae</i>	23	<i>M. spinulosa*</i>	46
<i>M. bracteata</i>	24	<i>M. heptamera</i>	23	<i>M. squamulosa</i>	38
<i>M. cephaloides</i>	23	<i>M. ibaguensis*</i>	31	<i>M. stenostachya*</i>	26
<i>M. clandestina</i>	23	<i>M. impetiolaris</i>	27	<i>M. strigillosa</i>	25
<i>M. dodecandra</i>	34	<i>M. laevigata</i>	24	<i>M. strigillosa</i>	26
<i>M. dodecandra</i>	68	<i>M. melastomoides</i>	34	<i>M. strigillosa</i>	27
<i>M. domociliata</i>	24	<i>M. mirabilis</i>	67	<i>M. sublanata</i>	34
<i>M. domociliata</i>	25	<i>M. mirabilis</i>	68	<i>M. superba</i>	34
<i>M. domociliata</i>	26	<i>M. neourceolata</i>	25	<i>M. tocoronata</i>	28
<i>M. domociliata</i>	51	<i>M. prasina*</i>	24	<i>M. ulmarioides</i>	34

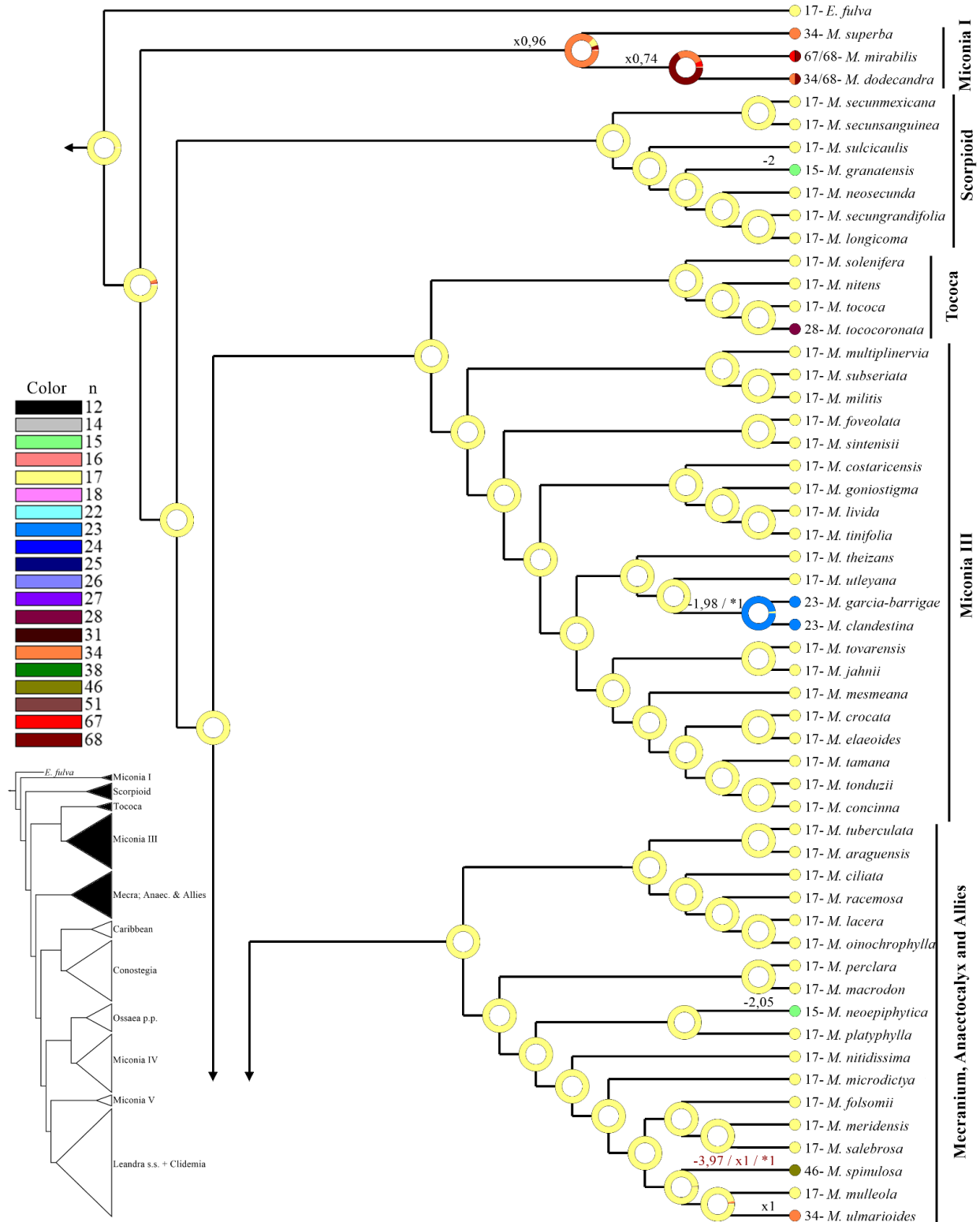


Figura 1A - Reconstrução ancestral do número de cromossomos em Miconieae. Resultado combinado entre *RASP* e *Chromevol*. Gráficos em pizza mostram as probabilidades da reconstrução segundo o *RASP*. Números acima dos ramos indicam as probabilidades dos eventos estimados pelo *Chromevol*. Quando em vermelho, são estimadas de forma heurística. Sinais dispostos antes destes números indicam o tipo de evento: (-) Redução; (+) Adição; (x) Duplicação e (*) Demi-duplicação. Números dispostos no centro de um gráfico de pizza indicam a reconstrução gerada pelo *Chromevol* para este nó, quando em discordância ao *RASP*.

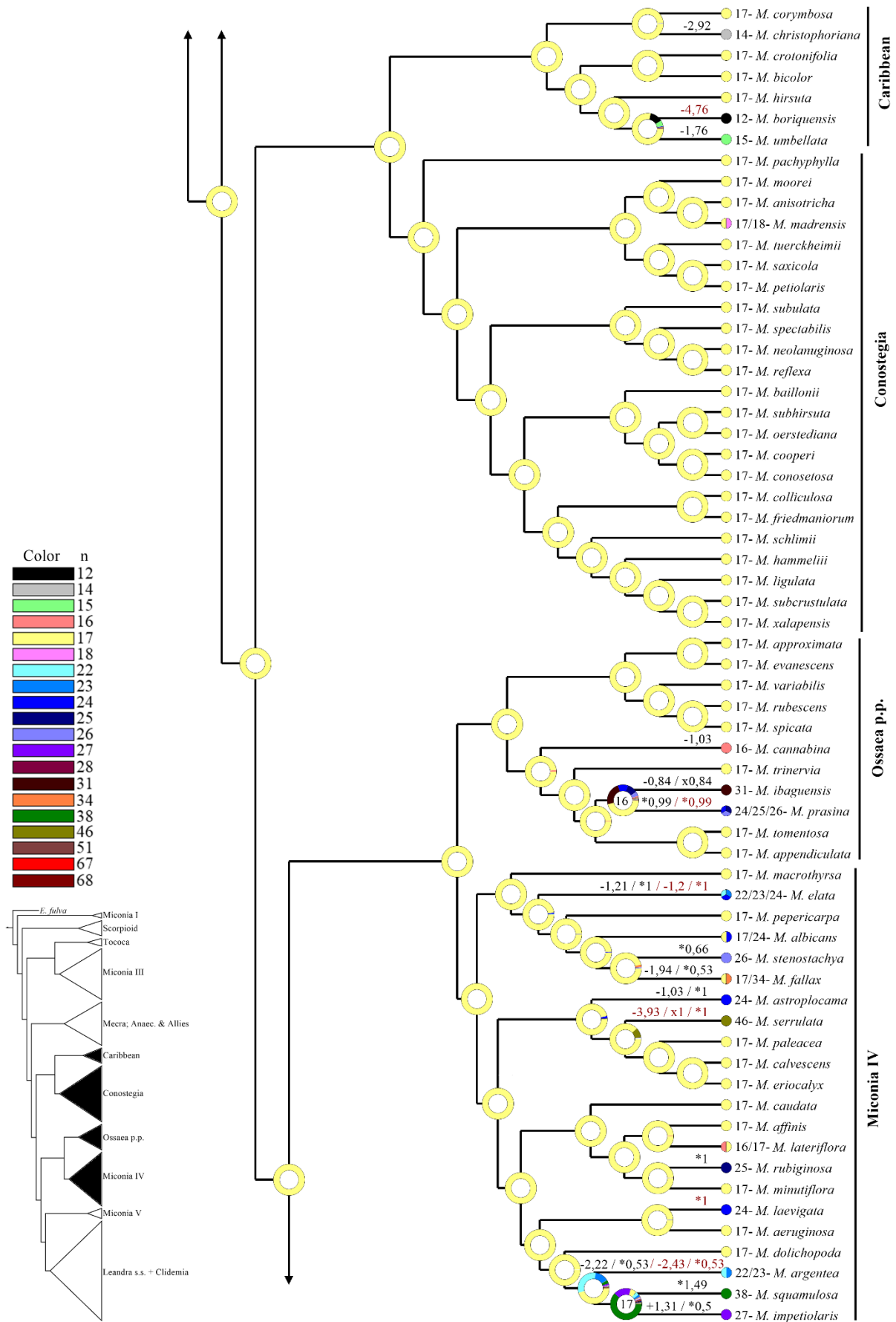


Figura 1B - Continuação da árvore de reconstrução ancestral do número de cromossomos em Miconieae.

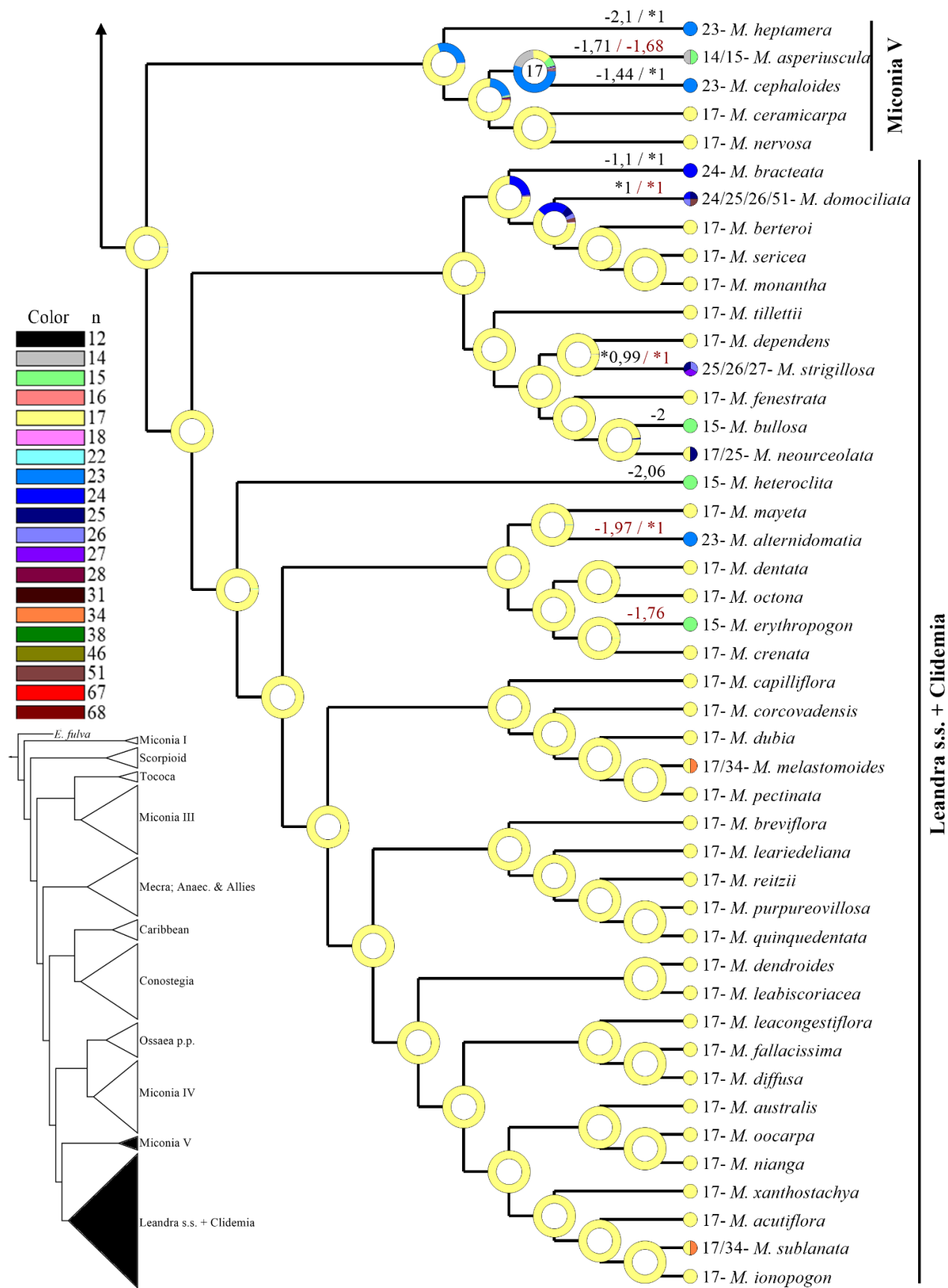


Figura 1C - Continuação da árvore de reconstrução ancestral do número de cromossomos em Miconieae.

DISCUSSÃO

Amostragem e sistemática

Goldenberg *et al.* (2008) é o trabalho mais amplo sobre sistemática filogenética de Miconieae. Das 459 espécies amostradas pelos autores, 104 estão presentes no nosso trabalho. Além destas, foram somadas outras 57 que não estão amostradas em Goldenberg *et al.* (2008), totalizando as 161 espécies de Miconieae aqui presentes. No geral, as espécies deste trabalho estão proporcionalmente distribuídas entre os clados de Goldenberg *et al.* (2008), com exceção de ‘Miconia II’, que está completamente ausente, pois não possui contagem cromossômica para nenhuma das suas três espécies. Nos demais clados tivemos sempre uma representatividade maior que 10% do total amostrado por Goldenberg (2008), sendo ‘Miconia V’ o clado menos representado, com 5 das 46 espécies reunidas pelos autores (10,87%), e ‘Ossaea p.p.’ o clado mais representado, com 11 das 9 espécies (122,22%). Essa representatividade das espécies nos clados, de certa forma, nos dá um sinal verde para interpretar os dados também com visão nos clados e não só nas espécies.

O relacionamento entre as espécies foi, na maior parte dos casos, semelhante ao de Goldenberg *et al.* (2008), mas algumas diferenças podem ser percebidas, provavelmente devido à mudança de estratégia na elaboração da filogenia. No total, 10 espécies foram realocadas entre os clados principais: *Miconia solenifera* foi realocada do clado ‘Scorpioid’ para o clado ‘Tococa’; *M. pachyphylla* foi de ‘Caribbean’ para ‘Conostegia’; *M. boriquirensis* de ‘Mecranium, Anaectocalyx and Allies’ para ‘Caribbean’; *M. approximata* de ‘Miconia IV’ para ‘Ossaea p.p.’; *M. prasina*, *M. ibaguensis*, *M. appendiculata*, *M. trinervea* e *M. tomentosa* saíram de ‘Miconia V’ também para ‘Ossaea p.p.’; e *M. calvescens* foi realocada de ‘Miconia V’ para ‘Miconia IV’.

Reconstrução dos números cromossômicos e hipóteses

Almeda & Chuang (1992) já haviam hipotetizado sobre o número haplóide $n=17$ ser o número ancestral de Miconieae por este valor ser a contagem mais encontrada até então. Portanto agora, a concordância entre os resultados obtidos pelo *RASP* e o pelo *Chromevol* na reconstrução deste número para o ancestral, juntamente com a amostragem bem distribuída entre os grandes clados de Goldenberg *et al.* (2008), nos fornecem mais evidências para considerar $n=17$ mais seguramente como o número haplóide do ancestral da tribo.

A reconstrução do número haplóide dos ancestrais de 10 clados de Miconieae amostrados neste estudo como $n=17$, e de ‘Miconia I’ como $n=34$, são novidades deste trabalho. No entanto, é importante ter em mente que a amostragem dos clados limita, em maior ou menor grau, dependendo do clado, a confiabilidade destas conclusões. ‘Miconia I’, por exemplo, que conta com apenas três espécies com contagem cromossômica conhecida (Figura 1A), mesmo sendo um clado menor em Goldenberg *et al.* (2008), com apenas sete espécies, chama atenção por ser potencialmente um grupo inteiramente poliplóide.

Ao contrário do sinal filogenético observado em reconstruções de número cromossômico em outros grupos de Angiospermas (p.e., Ali et al., 2012; Chacón et al., 2014; Sader et al., 2019; Chiavegatto et al., 2020), observa-se que as mudanças nos números cromossômicos em Miconieae, principalmente as mudanças a partir de $n=17$, aparecem dispersas, pontualmente, ao longo da filogenia, sugerindo processos parecidos aos de paralelismo evolutivo, com exceção de 'Miconia I', cujo número ancestral teria se mantido nas linhagens atuais. Como os cromossomos são as unidades herdáveis do DNA, poderia ser esperado que ao sofrer uma pressão evolutiva, não só as mudanças dentro do cromossomo, mas as mudanças em sua quantidade também teriam um padrão ao longo de uma linhagem, o que não é evidente em Miconieae (Figuras 1A-C). Além disso, mais de 90% dos momentos de mudança de número cromossômico foram reconstruídos ligados diretamente a um terminal, o que nos levou a pensar nas seguintes hipóteses para explicar a evolução do número cromossômico no grupo: 1) Miconieae nunca teve um histórico de alteração no número cromossômico e passou a sofrer mudanças somente nesses ramos mais recentes; 2) Miconieae sempre teve um histórico de mudanças de número cromossômico, mas existe um ou mais processos (p.e. citogenéticos ou populacionais) que regridem, de alguma forma, essas mudanças, fazendo com que o rastro delas seja apagado na reconstrução das linhagens, já que as espécies atuais são, na maioria, $n=17$; ou 3) as espécies com contagem entre $n=22$ e $n=27$ seriam na verdade triplóides (indivíduos $3n$, híbridos ou não), que devido a problemas de meiose, faria o número das contagens gametofíticas não corresponderem a 'n' e sim a aproximadamente '1,5n', resultando em uma análise não tão acurada do programa.

Inferência dos eventos de alteração de número cromossômico

Como visto na figura 1A-C, um ponto positivo do uso do *Chromevol* para a reconstrução ancestral de número cromossômico é o fato dele inferir qual evento de alteração possivelmente ocorreu em determinado ramo (displóidia, demi-duplicação ou duplicação, no nosso caso), mas em alguns casos, esta ferramenta pode entregar mais dúvidas do que respostas, como em *M. fallax* (Figura 1B), em que os dois eventos de redução somado ao evento de demi-duplicação não são suficientes para explicar a mudança ocorrida para nenhum dos números atualmente encontrados na espécie. Caso semelhante ocorre com *M. squamulosa*, $n=38$ (Figura 1B). No entanto, dos 20 números gametofíticos possíveis para as espécies estudadas neste trabalho, alguns tiveram uma reconstrução bem direta dos eventos de alteração cromossômica, são eles $n=12$, $n=14$, $n=15$, $n=16$, $n=34$, $n=67$ e $n=68$. As espécies que possuem estas contagens, com exceção das que possuem contagem múltipla, são bem explicadas pelos eventos inferidos pelo programa. Em outros casos, como nos números $n=22$, $n=23$, $n=24$, $n=25$, $n=26$ e $n=27$ é possível levantar interpretações adicionais às inferidas pelo programa (ver discussão mais abaixo).

As espécies com números gametofíticos de $n=12$ até $n=16$ sofreram eventos de redução a partir de seus ancestrais. Apesar do *Chromevol* considerar todos os eventos de redução do número de

cromossomos como disploídias, esses eventos poderiam ser tanto disploídias quanto aneuploídias. Segundo Guerra (2008), disploídia é um fenômeno que altera o número cromossômico geralmente atribuído a alterações estruturais nos cromossomos, como fusão e quebra, ou seja, altera o número, mas não o seu conteúdo, enquanto que reduções ou adições de cromossomos inteiros seriam melhor categorizados como eventos de aneuploídia, alterando seu conteúdo junto com o número total. Essa distinção é importante pois se entende que aneuploídias são fenômenos letais ou quase, já que há um desbalanço grave dos genes dos cromossomos envolvidos, enquanto que alterações apenas estruturais como as disploídias não tenham implicações tão severas para os indivíduos e, assim, podem se manter ao longo da história evolutiva de um grupo (Guerra 2008). Porém, especula-se desde Almeda e Chuang (1992) que Melastomataceae e, portanto, Miconieae, sejam paleopoliploides o que, graças a terem vários conjuntos do mesmo gene, diminuiria o risco de letalidade por aneuploídia. Procedimentos citogenéticos de padrão de bandeamento e realização de idiogramas para comparação do padrão das espécies reduzidas e de espécies próximas, ausentes até então para a tribo, poderiam trazer luz aos processos envolvidos nessas mudanças.

Os números $n=34$, $n=67$ e $n=68$ foram reconstruídos sucedendo eventos de duplicação. A contagem $n=67$ para *Miconia mirabilis* consta na publicação original (Solt & Wurdack, 1980) como $2n=ca.134$, o que pode ser um pequeno equívoco na contagem ou, de fato, uma população desta espécie que sofreu algum evento de redução, evento este que não foi inferido pelo *Chromevol*, talvez por esta espécie ter mais de uma contagem. Estes números, $n=34$ e $n=68$, já foram alvos de discussão na literatura e são facilmente reconhecidos como tetraplóides e octoploides, respectivamente, desde então (Almeda, 1997).

As espécies com contagem de $n=22$ até $n=27$ foram reconstruídas todas com o evento de demi-duplicação em comum, algumas apenas com este evento, outras junto com evento de redução, outras junto com evento de adição. Demi-duplicação foi um termo adotado por Mayrose et al. (2010) para explicar eventos cujos números cromossômicos fossem resultantes da fusão de gametas reduzidos e não-reduzidos, ou seja, o resultante seria um aloploplóide ou um autopoliplóide ímpar. Levando em consideração que todas as espécies com estas contagens foram inferidas como poliplóides (Tabela 2), é possível sugerir que estas espécies podem ser, na verdade, todas triploides, com contagem esporofítica $3n=51$. Casos de triploidia foram pouco explorados na literatura de Miconieae: poliploidia ímpar foi especulada por Almeda & Chuang (1992) para *Clidemia ruddae* $n=23$, enquanto que Goldenberg & Shepherd (1998) comentam brevemente que *Miconia stenostachya* $n=26$ poderia ser uma híbrida triplóide. A discussão sobre triploidia em Miconieae não parece ter tido muita importância até agora, mas esse padrão pode explicar muito sobre as contagens encontradas na tribo. Os números de $n=22$ até $n=27$ estão representados por 18 espécies neste trabalho e, destas espécies, 14 são retratadas com alguma conotação de incerteza pelos autores nas suas contagens, ou ainda, possuem mais de uma contagem publicada. A triploidia poderia explicar esse fenômeno de incerteza, pois uma meiose exata a partir de $3n$ não é possível, visto que os centrômeros não encontram apenas

dois homólogos para separar, resultando em contagens diferentes e complementares de 51 para os diferentes gametas formados (p.e. 25 e 26; 24 e 27; 23 e 28; 22 e 29). Portanto, em diferentes observações da contagem gametofítica seriam observadas diferentes contagens, causando a incerteza relatada. Contudo, algumas dessas espécies tiveram as contagens realizadas a partir de contagem esporofítica, ou seja, deveria entregar o total de cromossomos do núcleo, e iriam contra a ideia anterior: *Miconia albicans* $2n=48$, *M. alternidomatia* $2n=46$, *M. astroplocama* $2n=ca.48$, *M. bracteata* $2n=ca.48$, *M. elata* $2n=44-48$, *M. laevigata* $2n=ca.48$, *M. prasina* $2n=48-52$, *M. rubiginosa* $2n=50$ e *M. strigillosa* $2n=ca.54$. No entanto, como transcrito, as anotações da maioria destas espécies denotam incerteza dos autores na contagem, duas delas chegando a passar de $2n=51$, e todas elas datando de mais de 40 anos (anotadas por Solt & Wurdack, 1980). De qualquer forma, a triploidia no grupo aparenta ser um assunto a ser investigado com mais esmero, porque se confirmada, nenhuma delas seria $n=22$ até $n=27$, como inferido nas presentes análises, mas todas seriam $n=17$, de $3n=51$, reforçando a hipótese de número 3 trazida no tópico anterior.

Importância dos clados e dos eventos

O clado ‘Miconia IV’ recebeu a maior soma de probabilidade dos eventos dentre todos os clados, com 26,51 (31,75%), seguido por ‘Leandra s.s. + Clidemia’ com 14,88 (17,82%). Juntos, esses dois clados representam quase metade de todos os eventos de mudança de número de cromossomos estimados para Miconieae. Apesar disso, ‘Caribbean’ chama atenção por ser um clado com apenas 7 espécies e somar 9,44 (11,31%), o que indica um potencial bom deste clado também, visto que uma maior amostragem pode aumentar esses números e revelar outro clado cheio de eventos de mudança de contagem cromossômica. ‘Miconia I’ também é relevante, pois como dito, pode representar o único clado com eventos de mudança de cromossomos não revertidas na tribo, sendo um importante alvo de estudos.

Eventos de perda singular de cromossomo somaram 53,43 (64%) das probabilidades de eventos. Se o *Chromevol* estiver correto quanto a esta estimativa, Miconieae pode ter na fusão de cromossomos o sistema responsável por regredir os eventuais aumentos de números cromossômicos, apagando esse rastro de sua história evolutiva, reforçando a hipótese de número 2.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Avanço no assunto

Alguns dos resultados trazidos por esse trabalho apenas corroboram as predições feitas anteriormente, como é o caso do número cromossômico haplóide para o ancestral de Miconieae ser 17, porém é importante notar que uma reconstrução ancestral de caráter foi capaz de nos fazer ter uma visão mais holística do tema e observar os padrões, ou a falta dele, de forma mais abrangente e em conjunto. Muitos assuntos tangenciados pela literatura, como a presença de prováveis triploides e

prováveis múltiplas contagens cromossômicas para algumas espécies no grupo, ajudaram a formular as 3 hipóteses que podem ajudar a guiar os estudos sobre evolução dos cromossomos de Miconieae daqui pra frente. Este trabalho, acaba por levantar mais dúvidas do que foi capaz de responder e isso mostra o quão complexo é esse tema em Miconieae e o quão longo é o caminho ainda a ser percorrido.

Sobre apomixia

Apesar deste trabalho não ter foco em apomixia, por ser um assunto que está sendo relacionado com contagens cromossômicas, pudemos destacar alguns pontos sobre esse tema. Deste trabalho, as espécies *Miconia albicans*, *M. alternidomatia*, *M. dependens*, *M. fallax*, *M. ibaguensis*, *M. mayeta*, *M. prasina*, *M. rubiginosa*, *M. spinulosa* e *M. stenostachya* já foram confirmadas como apomíticas (Goldenberg & Shepherd, 1998; Cortez et al., 2012; Caetano et al., 2017). Ao observar a reconstrução ancestral de caráter (Figuras 1A-C), percebemos que a apomixia não é responsável por reunir as espécies apomíticas em um grupo natural, mas que essas se encontram dispersas em cinco diferentes clados: ‘Miconia III’, ‘Mecranium, Anaectocalyx and Allies’, ‘Ossaea p.p.’, ‘Miconia IV’ e ‘Leandra s.s. + Clidemia’. Estes clados podem ter uma relevância maior para a apomixia na tribo.

RASP e Chromevol

Como já falado por Sader et al. (2019), o *RASP* não é o programa ideal para realizar reconstrução ancestral de cromossomos, pois ele não considera os diferentes processos e eventos inerentes ao tema. Após a realização deste trabalho e de usar duas estratégias diferentes de dois programas diferentes, percebe-se que os resultados do *RASP* pouco agregam na discussão. O *Chromevol*, idealizado para esse tipo de reconstrução, tem um algoritmo que respeita a evolução cromossômica e se mostrou bastante satisfatório para Miconieae.

Continuidade do tema

Uma das dificuldades encontradas na elaboração desta reconstrução foram as espécies com contagem inexatas representadas de maneiras diferentes como, por exemplo: *Miconia virescens* $2n=46+2$, *M. strigillosa* $n=25(26)$, *M. heptamera* $n=Ca. 23$ e *M. domociliata* $n=24-26$. Todos esses casos abrem muita margem para interpretação e os autores não especificaram o que queriam dizer com cada representação. Infelizmente para o estudo de evolução, faz toda diferença saber se a espécie tem ou não múltipla contagem e saber exatamente qual é ou quais são essas contagens. Sem dúvidas, os autores fizeram o melhor trabalho possível com o que se tinha disponível na época e o fato dos cromossomos em Miconieae serem extremamente diminutos dificultou bastante o trabalho de quem se propôs a fazer as contagens, porém para o avanço do tema é necessário refazer as contagens das espécies ambíguas. A maioria das contagens datam de mais de 40 anos e apesar da tecnologia do microscópio ótico não ter melhorado muito, existem microscópios digitais com aumento de 1600x (Hartati et al., 2011) que poderiam ser explorados para casos difíceis como a observação de

cromossomos de Melastomataceae. Além disso, as câmeras acopladas diretamente aos microscópios mais recentes auxiliam muito no ‘tira-teima’ de muitos estudos microscópicos. Um bom começo seria refazer as contagens esporofíticas e gametofíticas, para mais de uma amostra de cada espécie com contagens entre $n=22$ e $n=27$, pois além de se ter uma melhor noção de sua contagem, poderia sanar uma das hipóteses geradas nesse trabalho.

Além disso, existem 30 espécies que possuem contagem cromossômica, mas que não possuem sequenciamento de ETS e/ou ITS no GenBank, que, com pouco esforço de biologia molecular, poderiam ser facilmente incorporadas às análises, conferindo mais robustez à amostragem.

REFERÊNCIAS

ALBERTS, B. et al. Mecanismos Genéticos Básicos: controle da expressão gênica. In: ALBERTS, Bruce et al. **Biologia Molecular da Célula**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2017. Cap. 7. p. 369-438.

ALI, S. S. et al. Inferences of biogeographical histories within subfamily Hyacinthoideae using S-DIVA and Bayesian binary MCMC analysis implemented in RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies). **Annals of Botany**, v. 109, n. 1, p. 95-107, 2012.

ALMEDA, F.; CHUANG, T. I. Chromosome numbers and their systematic significance in some Mexican Melastomataceae. **Systematic Botany**, p. 583-593, 1992.

ALMEDA, F. Chromosome numbers and their evolutionary significance in some neotropical and paleotropical Melastomataceae. **BioLlania Edicion Especial**, v. 6, p. 167-190, 1997.

ALMEDA, F. Chromosome cytology and taxonomy of the red goblet-flowered species of *Clidemia* (Melastomataceae: Miconieae) in Central and South America. **Novon**, p. 161-169, 2003.

ALMEDA, F. Systematic and phylogenetic significance of chromosome number diversity in some neotropical Melastomataceae. **Memoirs of the New York Botanical Garden**, v. 108, p. 155-177, 2013.

ANDRADE, P. M.; FORNI-MARTINS, E. R.; MARTINS, F. R. Reproductive system of *Eriocnema fulva* Naudin (Melastomataceae), an endemic species of Minas Gerais state, SE Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 67, n. 2, p. 313-319, 2007.

ASHE, A.; COLOT, V.; OLDROYD, B. P. How does epigenetics influence the course of evolution?. **Philosophical Transactions of the Royal Society B**, v. 376, n. 1826, p. 20200111, 2021.

BAUMGRATZ, J.F.A. et al. **Catálogo de Plantas e Fungos do Brasil - Melastomataceae**. Rio de Janeiro: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2010.

CADDAH, M. K. et al. Beneath a hairy problem: Phylogeny, morphology, and biogeography circumscribe the new *Miconia* supersection *Discolores* (Melastomataceae: Miconieae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, v. 171, 107461, 2022.

CAETANO, A. P. S. et al. Pollen insights into apomictic and sexual *Miconia* (Miconieae, Melastomataceae). **International Journal of Plant Sciences**, v. 174, n. 5, p. 760-768, 2013.

CAETANO, A. P. S. et al. Unusual diversity of apomictic mechanisms in a species of *Miconia*, Melastomataceae. **Plant Systematics and Evolution**, v. 304, n. 3, p. 343-355, 2017.

CHACÓN, J.; CUSIMANO, N.; RENNER, S. S. The evolution of Colchicaceae, with a focus on chromosome numbers. **Systematic Botany**, v. 39, n. 2, p. 415-427, 2014.

CHIAVEGATTO, R. B. et al. Reconstructing ancestral chromosome numbers and inflorescence features in Eleusininae (Poaceae: Chloridoideae: Cynodonteae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 193, n. 3, p. 402-418, 2020.

CLAUSING, G.; RENNER, S.S. Molecular phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: implications for character evolution. **American Journal of Botany**, v.88, n.3, p. 486-498, 2001.

CORTEZ, P. A.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M.; TEIXEIRA, S. P.. Understanding male sterility in *Miconia* species (Melastomataceae): a morphological approach. **Australian Journal of Botany**, v. 60, n. 6, p. 506-516, 2012.

CRANE, Charles F. Classification of apomictic mechanisms. **The flowering of apomixis: from mechanisms to genetic engineering**, v. 24, p. 43, 2001.

DIAS, A. C. C. et al. Unexpectedly high genetic diversity and divergence among populations of the apomictic Neotropical tree *Miconia albicans*. **Plant Biology**, v. 20, n. 2, p. 244-251, 2018.

GLICK, L.; MAYROSE, I. ChromEvol: assessing the pattern of chromosome number evolution and the inference of polyploidy along a phylogeny. **Molecular biology and evolution**, v. 31, n. 7, p. 1914-1922, 2014.

GOLDENBERG, R.; SHEPHERD, G. J. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “Cerrado” vegetation. **Plant Systematics and Evolution**, v. 211, p. 13-29, 1998.

GOLDENBERG, R. et al. Phylogeny of *Miconia* (Melastomataceae): patterns of stamen diversification in a megadiverse neotropical genus. **International Journal of Plant Sciences**, v. 169, n. 7, p. 963-979, 2008.

GOLDENBERG, R.; BAUMGRATZ, J. F. A.; SOUZA, M. L. D. Taxonomia de Melastomataceae no Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros. **Rodriguésia**, v. 63, n. 1, p. 145-161, 2012.

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

HAND, M. L.; KOLTUNOW, A. M. G. The genetic control of apomixis: asexual seed formation. **Genetics**, v. 197, n. 2, p. 441-450, 2014.

HARTATI, S; HARJOKO, A; SUPARDI, T. The digital microscope and its image processing utility. **TELKOMNIKA (Telecommunication Computing Electronics and Control)**, v. 9, n. 3, p. 565-574, 2011.

KATOH, K; ROZEWICKI, J; YAMADA, K. D. MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. **Briefings in bioinformatics**, v. 20, n. 4, p. 1160-1166, 2019.

KURAKU, S. et al. aLeaves facilitates on-demand exploration of metazoan gene family trees on MAFFT sequence alignment server with enhanced interactivity. **Nucleic acids research**, v. 41, n. W1, p. W22-W28, 2013.

MAIA, F. R. da. Sistemas reprodutivos e visitantes florais em Melastomataceae dos campos rupestres no limite sul do cerrado, Tibagi, Paraná. 2013.

MAYROSE, I.; BARKER, M. S.; OTTO, S. P. Probabilistic models of chromosome number evolution and the inference of polyploidy. **Systematic biology**, v. 59, n. 2, p. 132-144, 2010.

MELO, G. F.; MACHADO, I. C.; LUCENÑO, M. Reproducción de tres especies de *Clidemia* (Melastomataceae) en Brasil. **Revista de Biología Tropical**, v. 47, n. 3, p. 359-363, 1999.

MICHELANGELI, F. A. et al. 2009 onward. PBI Miconieae: A complete web-based monograph of the tribe Miconieae (Melastomataceae). (<http://sweetgum.nybg.org/melastomataceae>). The New York Botanical Garden, Bronx, NY.

MICHELANGELI, F. A. et al. Nomenclatural novelties in *Miconia* (Melastomataceae: Miconieae). **Brittonia**, v. 71, n. 1, p. 82-121, 2019.

MILLER, M. A.; PFEIFFER, W.; SCHWARTZ, T. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In: **2010 gateway computing environments workshop (GCE)**. Ieee, 2010. p. 1-8.

PEREIRA, T. T. P. et al. Molecular phylogenetic reconstruction and localization of the (TTAGG) n telomeric repeats in the chromosomes of *Acromyrmex striatus* (Roger, 1863) suggests a lower ancestral karyotype for leafcutter ants (Hymenoptera). **Comparative cytogenetics**, v. 12, n. 1, p. 13, 2018.

REGINATO, M. **Systematics and evolution of *Leandra* s. str. (Melastomataceae, Miconieae)**. City University of New York, 2014.

RIESEBERG, L. H.; WILLIS, J. H. Plant speciation. **science**, v. 317, n. 5840, p. 910-914, 2007.

RONQUIST, F.; HUELSENBECK, J. P. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics**, v. 19, n. 12, p. 1572-1574, 2003.

SADER, M. A. et al. The role of chromosome changes in the diversification of *Passiflora* L.(Passifloraceae). **Systematics and Biodiversity**, v. 17, n. 1, p. 7-21, 2019.

SANTOS, A. P. M. D. et al. Reproductive biology and species geographical distribution in the Melastomataceae: a survey based on New World taxa. **Annals of Botany**, v. 110, n. 3, p. 667-679, 2012.

SKEAN JR, J. D. Monograph of Mecranium (Melastomataceae-Miconieae). **Systematic Botany Monographs**, p. 1-116, 1993.

SOLT, M. L.; WURDACK, J. J. Chromosome numbers in the Melastomataceae. **Phytologia**, 1980.

STAMATAKIS, A. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. **Bioinformatics**, v. 30, n. 9, p. 1312-1313, 2014.

YU, Y.; BLAIR, C.; HE, X.. RASP 4: ancestral state reconstruction tool for multiple genes and characters. **Molecular Biology and Evolution**, v. 37, n. 2, p. 604-606, 2020. 7

YU, Y., HARRIS; A.J., BLAIR, C.; HE, X.J. 2015. RASP (Reconstruct Ancestral State in Phylogenies): a tool for historical biogeography. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 87:46-49

YU, Y.; HARRIS; A.J.; HE, X.J. 2010. S-DIVA (statistical dispersal-vicariance analysis): a tool for inferring biogeographic histories. **Molecular Phylogenetics and Evolution**, 56(2):848-850.

Material Suplementar

Espécies de *Miconieae* com contagem de cromossomos presente na literatura (gametofítica e/ou esporofítica) e respectivos acessos no Genbank para sequências utilizadas para a inferência filogenética. As referências para a contagem de cada espécie foi numerada: 1- Nevling (1969); 2- Solt & Wurdack (1980); 3- Meenakumari & Kuriachan (1990), via tropicos.org; 4- Almeda & Chuang (1992); 5- Skean (1993); 6- Almeda (1997); 7- Goldenberg & Shepherd (1998); 8- Almeda (2003); 9- Almeda (2013); 10- Caetano et al. (2013); 11- Reginato (2014); 12- Andrade et al. (2017).

Nome na Referência	Nome Aceito em <i>Miconia</i>	Cont. Gametofítica	Cont. Esporofítica	Referência da contagem	GenBank ETS	GenBank ITS
<i>Charianthus corymbosus</i> (Cogn.) Hodge	<i>M. corymbosa</i> (Rich.) Judd & Skean	17		2	KF820611.1	AY460464.1
<i>Clidemia bullosa</i> DC	<i>M. bullosa</i> (DC) Michelang.		30	2	MK006572.1	MK020520.1
<i>Clidemia capilliflora</i> (Naudin) Cogn.	<i>M. capilliflora</i> (Naudin) R.Goldenb.	17		11	KF820627.1	EU055654.1
<i>Clidemia capitellata</i> (Bonpl.) D. Don	<i>M. dependens</i> (D.don) Judd & Majure	17		2	KF820629.1	EU055655.1
<i>Clidemia ciliata</i> Pav. ex D. Don	<i>M. domociliata</i> Michelang.	24-26; 51		6; 9	KF820633.1	AY460472.1
<i>Clidemia clandestina</i> Almeda	<i>M. clandestina</i> (Almeda) Almeda	23		8	KF820634.1	EU055656.1
<i>Clidemia cursoris</i> Wurdack	<i>M. cursoris</i> (Wurdack) Michelang.	17		2	N/A	N/A
<i>Clidemia cymifera</i> Donn. Sm.	<i>M. cymifera</i> (Donn. Sm.) Michelang.	17		4	N/A	N/A
<i>Clidemia densiflora</i> (Standl.) Gleason	<i>M. approximata</i> Gamba & Almeda	17		9	KF820643.1	EU055658.1
<i>Clidemia dentata</i> Pav. ex D. Don	<i>M. dentata</i> (D.Don) Michelang.		34	2	KF820644.1	EF418800.1
<i>Clidemia epiphytica</i> (Triana) Cogn.	<i>M. neoepiphytica</i> Michelang.		30	2	KF820651.1	EF418801.1
<i>Clidemia erythropogon</i> DC.	<i>M. erythropogon</i> (DC.) Judd & Ionta	15	30	2	KF820652.1	KF821435.1
<i>Clidemia evanescens</i> Almeda	<i>M. evanescens</i> (Almeda) Gamba & Almeda	17		9	KF820653.1	KF821436.1
<i>Clidemia folsomii</i> Almeda	<i>M. folsomii</i> (Almeda) Almeda	17		9	KF820655.1	EU055661.1
<i>Clidemia garcia-barrigae</i> Wurdack	<i>M. garcia-barrigae</i> (Wurdack) Almeda	23		8	N/A	EU055662.1

<i>Clidemia globuliflora</i> (Cogn.) L.O. Williams	<i>M. reflexa</i> (Gleason) Michelang.	17		9	KF820657.1	KF821437.1
<i>Clidemia grandifolia</i> Cogn.	<i>M. badilloi</i> Michelang.	17		2	N/A	N/A
<i>Clidemia hammelii</i> Almeda	<i>M. hammelii</i> (Almeda) Almeda	17		9	KF820662.1	KF821441.1
<i>Clidemia heptamera</i> Wurdack	<i>M. heptamera</i> (Wurdack) Michelang.	ca. 23		2	KF820663.1	EF418803.1
<i>Clidemia hirta</i> (L.) D. Don	<i>M. crenata</i> (Vahl.) Michelang.	17		3	KF820666.1	AY460479.1
<i>Clidemia insularis</i> Domin	<i>M. capillaris</i> (Sw.) M. Gomez	17		2	N/A	N/A
<i>Clidemia involucrata</i> DC.	<i>M. cephaloides</i> Michelang.	ca. 23		2	KF820668.1	EF418804.1
<i>Clidemia japurensis</i> (DC.) Wurdack	<i>M. heteroclita</i> (Naudin) Michelang.		30	2	KF820669.1	KF820669.1
<i>Clidemia lanuginosa</i> Almeda	<i>M. neolanuginosa</i> Almeda	17		9	MK006419.1	MK020485.1
<i>Clidemia monantha</i> L.O. Williams	<i>M. monantha</i> (L.O. Williams) Michelang.	17		2	KF820672.1	KF821445.1
<i>Clidemia octona</i> (Bonpl.) L.O. Williams	<i>M. octona</i> (Bopl.) Judd & Majure	17	34	2	KF820678.1	KF821449.1
<i>C. petiolaris</i> (Schltdl. & Cham.) Schltdl. ex Triana	<i>M. petiolaris</i> (Schtdl. & Cham.) Michelang.	17		2	KF820682.1	KF821452.1
<i>Clidemia pilosa</i> Pav ex D. Don	<i>M. neopilosa</i> Michelang.	23(22)		2	N/A	N/A
<i>Clidemia plumosa</i> (Desr.) DC.	<i>M. berteroi</i> (DC.) Judd & Ionta	17		2	KF820685.1	EU055669.1
<i>Clidemia pustulata</i> DC.	<i>M. fenestrata</i> (Benth) Michelang.	17		2	KF820687.1	KF821455.1
<i>Clidemia ruddae</i> Wurdack	<i>M. ruddae</i> (Wurdack) Michelang.	23		2	N/A	N/A
<i>Clidemia sericea</i> D. Don	<i>M. sericea</i> (D.Don) Michelang.	17		2	KF820696.1	KF821460.1
<i>Clidemia spectabilis</i> Gleason	<i>M. spectabilis</i> (Gleason) Michelang.	17		9	KF820701.1	KF821462.1
<i>Clidemia stellipilis</i> (Gleason) Wurdack	<i>M. sororopana</i> Michelang.	ca. 17		2	N/A	N/A
<i>Clidemia strigillosa</i> (Sw.) DC.	<i>M. strigillosa</i> (Sw.) Judd & Ionta	25(26)	ca. 54	2	KF820704.1	KF821466.1

<i>Clidemia tillettii</i> Wurdack	<i>M. stephentillettii</i> Michelang.	17		2	N/A	N/A
<i>Clidemia ulei</i> Pilg.	<i>M. ernstulei</i> Michelang.		34	2	N/A	N/A
<i>Clidemia urceolata</i> DC.	<i>M. neourceolata</i> Michelang.	ca. 25; 17		2	KF820713.1	EU055675.1
<i>Clidemia utleyana</i> Almeda	<i>M. utleyana</i> (Almeda) Almeda	17		8	KF820714.1	EU055676.1
<i>Clidemia verticillata</i> (Vahl) DC.	N/A	17		2	N/A	N/A
<i>Conostegia arborea</i> Steud.	<i>M. galeottii</i> Michelang.		34	2	N/A	N/A
<i>Conostegia icosandra</i> (Sw. ex Wikstr.) Urb.	<i>M. subhirsuta</i> (DC.) M. Gomez	17		2	KF820719.1	KM893618.1
<i>Conostegia montana</i> (Sw.) D. Don ex DC.	<i>M. cooperi</i> (Cogn.) Michelang.	17	34	2	KF820722.1	AY460488.1
<i>Conostegia oerstediana</i> O. Berg ex Triana	<i>M. oerstediana</i> (O.Berg ex Triana) Michelang.		34	2	KF820724.1	KF821473.1
<i>Conostegia setosa</i> Triana	<i>M. conosetosa</i> Michelang.	17		9	KF820728.1	EU055680.1
<i>Conostegia subcrustulata</i> (Beurl.) Triana	<i>M. subcrustulata</i> Beurl.	17	34	2	KF820730.1	EU055681.1
<i>Conostegia superba</i> Naudin	<i>M. baillonii</i> M. Gómez	17		2	KF820731.1	KF821474.1
<i>Conostegia xalapensis</i> (Bonpl.) D. Don	<i>M. xalapensis</i> (Bonpl.) M. Gomez	17	34	2	KF820733.1	EU055682.1
<i>Eriocnema fulva</i> Naudin [OUTGROUP]	N/A	17		12	KF820735.1	EF418811.1
<i>Heterotrichum umbellatum</i> Mill.	<i>M. umbellata</i> (Mill.) Judd. & Ionta	15	30	2	KF820711.1	MK020479.1
<i>Leandra acutiflora</i> (Naudin) Cogn.	<i>M. acutiflora</i> (Naudin) R.Goldenb.	17		11	KF820758.1	EF418813.1
<i>Leandra amplexicaulis</i> DC.	<i>M. pectinata</i> (Cogn.) R.Goldenb.	17		11	KF820761.1	EU055685.1
<i>Leandra australis</i> (Cham.) Cogn.	<i>M. australis</i> (Cham.) R.Goldenb.	17	ca. 34	11	KF820766.1	EU055686.1
<i>Leandra breviflora</i> Cogn.	<i>M. breviflora</i> (Cogn.) R.Goldenb.	ca. 17		11	KR062375.1	KR062491.1
<i>Leandra caquetensis</i> Gleason	<i>M. caquetensis</i> (Gleason) Ocampo & Almeda		34	2	N/A	N/A

<i>Leandra carassana</i> (DC.) Cogn.	<i>M. sublanata</i> (Cogn.) R. Goldenb.	17; 34	11	KF820771.1	EU055688.1
<i>Leandra dendroides</i> (Naudin) Cogn.	<i>M. dendroides</i> (Naudin) R. Goldenb.	17	11	KR062388.1	KR062503.1
<i>Leandra dichotoma</i> (Pav. ex D. Don) Cogn.	<i>M. sulcicaulis</i> (Poepp. ex Naudin)	34	2	KF820782.1	EF418825.1
<i>Leandra diffusa</i> Cogn.	<i>M. diffusa</i> (Cogn.) R. Goldenb.	ca. 17	11	KR062391.1	KR062506.1
<i>Leandra fallacissima</i> Markgr.	<i>M. fallacissima</i> (Markgr.) R. Goldenb.	17	11	KF820787.1	GQ139306.1
<i>Leandra granatensis</i> Gleason	<i>M. granatensis</i> (Gleason) G. Ocampo & Almeda	30	2	KF820794.1	EU055691.1
<i>Leandra grandifolia</i> Cogn.	<i>M. secungrandifolia</i> G. Ocampo & Almeda	17	9	MK006557.1	MK020476.1
<i>Leandra hirta</i> Raddi	<i>M. dubia</i> (DC.) R. Goldenb.	ca. 17	11	KR062404.1	KR062517.1
<i>Leandra ionopogon</i> (Mart.) Cogn.	<i>M. ionopogon</i> (Mart.) R. Goldenb.	17	11	KF820799.1	EF418836.1
<i>Leandra longicoma</i> Cogn.	<i>M. longicoma</i> (Cogn.) G. Ocampo & Almeda	17	2	KF820803.1	EF418839.1
<i>Leandra melastomoides</i> Raddi	<i>M. melastomoides</i> (Raddi) R. Goldenb.	17; 34	11	KF820810.1	EF418841.1
<i>Leandra mexicana</i> (Naudin) Cogn.	<i>M. secunmexicana</i> G. Ocampo & Almeda	34	2	KF820811.1	GU968799.1
<i>Leandra multiplinervis</i> (Naudin) Cogn.	<i>M. oocarpa</i> (A. Gray) R. Goldenb.	17	4	KR062422.1	KR062535.1
<i>Leandra nianga</i> (DC.) Cogn.	<i>M. nianga</i> (DC.) R. Goldenb.	34	11	KR062425.1	KR062538.1
<i>Leandra paulina</i> DC.	<i>M. paulina</i> (DC.) R. Goldenb.	17	11	N/A	N/A
<i>Leandra purpureovillosa</i> Hoehne	<i>M. purpureovillosa</i> (Hoehne) R. Goldenb.	17	11	KF820822.1	KF821513.1
<i>Leandra quinquedentata</i> (DC.) Cogn.	<i>M. quinquedentata</i> (DC.) R. Goldenb.	17	11	KF820823.1	EF418867.1
<i>Leandra reitzii</i> Wurdack	<i>M. reitzii</i> (Wurdack) R. Goldenb.	17	11	KF820827.1	EU055700.1
<i>Leandra riedeliana</i> (O. Berg. ex Triana) Cogn.	<i>M. leariedeliana</i> R. Goldenb.	17	11	KR062441.1	KR062553.1

<i>Leandra rufescens</i> (DC.) Cogn.	<i>M. asperiuscula</i> (Rich. ex DC.) R.Goldenb.	30(28)	2	KF820832.1	KF821516.1
<i>Leandra sanguinea</i> subsp. <i>tepuiensis</i> Wurdack	<i>M. secunsanguinea</i> G.Ocampo & Almeda	17	2	MK006558.1	MK020477.1
<i>Leandra secunda</i> (D. Don) Cogn.	<i>M. neosecunda</i> G.Ocampo & Almeda	34	2	KF820835.1	AY460495.1
<i>Leandra solenifera</i> Cogn.	<i>M. solenifera</i> (Cogn.) G.Ocampo & Almeda	17	2	KF820837.1	EF418856.1
<i>Leandra subseriata</i> (Naudin) Cogn.	<i>M. subseriata</i> (Naudin) R.Goldenb. & Michelang.	17	34	2	KF820841.1 AY460496.1
<i>Leandra subulata</i> Gleason	<i>M. subulata</i> (Gleason) R.Goldenb. & Michelang.	17		9	KF820842.1 AY460497.1
<i>Leandra xanthostachya</i> Cogn.	<i>M. xanthostachya</i> (Cogn.) R.Goldenb.	34	2	KF820850.1	EF418869.1
<i>Maieta guianensis</i> Aubl.	<i>M. mayeta</i> (D.Don.) Michelang.	34	2	KF820857.1	AY460498.1
<i>Maieta poeppigii</i> Mart. ex Cogn.	<i>M. alternidomatia</i> Michelang.	46	2	KF820858.1	AY460499.1
<i>Mecranium latifolium</i> (Cogn.) Skean	<i>M. boriquirensis</i> Skean, Judd & Majure	12		1; 5	KF820866.1 N/A
<i>Mecranium microdictyum</i> Urb. & Ekman	<i>M. microdictya</i> (Urb. & Ekman) Skean	17		5	KJ933919.1 KJ933965.1
<i>Miconia aeruginosa</i> Naudin		17		2	KF820895.1 AY460501.1
<i>Miconia affinis</i> DC.			34	2	KF820905.1 KF821551.1
<i>Miconia albicans</i> (Sw.) Triana				48; 34	2 KF820909.1 KF821554.1
<i>Miconia anisotricha</i> (Schltdl.) Triana		17		4	MK006416.1 MK020490.1
<i>Miconia appendiculata</i> Triana			34	2	KF820920.1 EU055716.1
<i>Miconia araguensis</i> Wurdack		17		2	KF820921.1 KF821561.1
<i>Miconia argentea</i> (Sw.) DC.		22-23		9	KF820923.1 AY460503.1
<i>Miconia astroplocama</i> Donn. Sm.			ca. 48	2	KF820927.1 EU055719.1

<i>Miconia avia</i> Wurdack	17		2	N/A	N/A
<i>Miconia azuensis</i> Urb. & Ekman		34	2	N/A	N/A
<i>Miconia bernardii</i> Wurdack	17		2	N/A	N/A
<i>Miconia bracteata</i> (DC.) Triana		ca. 48	2	KF820943.1	EF418884.1
<i>Miconia breteleri</i> Wurdack	17		2	N/A	N/A
<i>Miconia calvescens</i> DC.		34	2	KF820955.1	EU055736.1
<i>Miconia canaguensis</i> Wurdack	17		2	N/A	N/A
<i>Miconia cannabina</i> Markgr.		32	2	MK006545.1	N/A
<i>Miconia caudata</i> (Bonpl.) DC.		34	4; 2	KF820962.1	KF821576.1
<i>Miconia ceramicarpa</i> (DC.) Cogn.		34	2	KF820965.1	KF821578.1
<i>Miconia ciliata</i> (Rich.) DC.	17		2	KF820978.1	KF821581.1
<i>Miconia colliculosa</i> Almeda	17		9	KM893523.1	KM893635.1
<i>Miconia concinna</i> Almeda	17		9	KF820988.1	EU055755.1
<i>Miconia costaricensis</i> Cogn.	17		9	KF820993.1	EU055757.1
<i>Miconia crocata</i> Almeda	17		9	KF820997.1	EU055759.1
<i>Miconia dodecandra</i> Cogn.	34; 68		2; 6	KF821020.1	KF821600.1
<i>Miconia dolichopoda</i> Naudin	17		2	KF821022.1	KF821601.1
<i>Miconia donaeana</i> Naudin	17		9	N/A	N/A
<i>Miconia elaeoides</i> Naudin	17		2	KX073113.1	KX073159.1
<i>Miconia elata</i> (Sw.) DC.		44-48	2	KF821031.1	KF821606.1

<i>Miconia eriocalyx</i> Cogn.		34	2	KF821034.1	KF821608.1
<i>Miconia fallax</i> DC.	ca. 17	58-68	7; 10	MH743820.1	MH743885.1
<i>Miconia foveolata</i> Cogn.	17		6	KF821041.1	AY460511.1
<i>Miconia friedmaniorum</i> Almeda & Umaña	17		9	KF821042.1	EU055776.1
<i>Miconia funkii</i> Wurdack	17		2	N/A	N/A
<i>Miconia goniostigma</i> Triana	17		9	KF821050.1	EU055778.1
<i>Miconia ibaguensis</i> (Bonpl.) Triana		62	2	KF821063.1	EU055785.1
<i>Miconia impetolaris</i> (Sw.) D. Don	ca. 27		2	KF821064.1	AY460513.1
<i>Miconia jahnii</i> Pittier	17		2	KF821069.1	EU055787.1
<i>Miconia lacera</i> (Bonpl.) Naudin	17		2	KF821079.1	MK020474.1
<i>Miconia laevigata</i> (L.) DC.	ca. 24	ca.48	2	N/A	AY460515.1
<i>Miconia lateriflora</i> Cogn.	16	34	9	KF821083.1	KF821636.1
<i>Miconia lauriformis</i> Naudin		34	2	N/A	N/A
<i>Miconia ligulata</i> Almeda	17		9	KF821090.1	EF418894.1
<i>Miconia livida</i> Triana	17		4	KF821093.1	KF821639.1
<i>Miconia lucida</i> Naudin	17		2	N/A	N/A
<i>Miconia macrodon</i> (Naudin) Wurdack	17		2	KF821106.1	KF821645.1
<i>Miconia macrothyrsa</i> Benth.	17		2	KF821107.1	KF821646.1
<i>Miconia madreensis</i> Standl.	17; 18		9	MK006413.1	MK020497.1
<i>Miconia meridensis</i> Triana	17		2	KF821117.1	KF821652.1

<i>Miconia mesmeana</i> subsp. <i>jabonensis</i> Wurdack	17		2	MK006489.1	EU055804.1
<i>Miconia militis</i> Wurdack	17		4	MK006509.1	MK020626.1
<i>Miconia minutiflora</i> (Bonpl.) DC.		34	2	KF821124.1	KF821656.1
<i>Miconia mirabilis</i> (Aubl.) L.O. Williams	68	ca. 134	2	KF821125.1	EU055806.1
<i>Miconia moorei</i> Wurdack	17		4	MK006411.1	MK020492.1
<i>Miconia mulleola</i> Wurdack	17		2	KX073118.1	KX073164.1
<i>Miconia multiplinervia</i> Cogn.	17		9	KF821129.1	EU055807.1
<i>Miconia nervosa</i> (Sm.) Triana		34	2	KF821133.1	KF821663.1
<i>Miconia nitidissima</i> Cogn.	17		2	KF821134.1	EU055809.1
<i>Miconia oinochrophylla</i> Donn. Sm.		34	2	KF821141.1	KF821669.1
<i>Miconia pachyphylla</i> Cogn.	ca. 17		1	KF821145.1	AY460519.1
<i>Miconia paleacea</i> Cogn.		34	2	KF821146.1	KF821671.1
<i>Miconia pepericarpa</i> Mart. ex DC.		34	10	KF821153.1	KF821676.1
<i>Miconia pisinna</i> Wurdack	17		2	N/A	N/A
<i>Miconia prasina</i> (Sw.) DC.		48-52	2	KF821165.1	AY460520.1
<i>Miconia racemosa</i> (Aubl.) DC.	17	34	2	KF821182.1	EU055823.1
<i>Miconia ravenii</i> Wurdack	68		6	N/A	N/A
<i>Miconia rubiginosa</i> (Bonpl.) DC.		50	2	KF821196.1	AY460525.1
<i>Miconia salebrosa</i> Wurdack	17		2	KF821201.1	KF821698.1
<i>Miconia sanctiphilippi</i> Naudin		34	2	N/A	N/A

<i>Miconia saxicola</i> Brandegee	17		4	MK006403.1	MK020489.1
<i>Miconia schlimii</i> Triana	17		9	KF821205.1	EU055834.1
<i>Miconia serrulata</i> (DC.) Naudin	46		2	KF821212.1	AY460535.1
<i>Miconia sintenisii</i> Cogn.		34	2	KF821215.1	AY460529.1
<i>Miconia spinulosa</i> Naudin	ca. 46		2	KF821222.1	AY460530.1
<i>Miconia squamulosa</i> (Sm.) Triana	ca. 38		2	KF821225.1	KF821705.1
<i>Miconia stenostachya</i> DC.	ca. 26		7	KF821229.1	EU055843.1
<i>Miconia superba</i> Ule	ca. 34		2	KF821234.1	EU055846.1
<i>Miconia talamancensis</i> Almeda	17		9	N/A	N/A
<i>Miconia tamana</i> Wurdack	17		2	KX073132.1	KX073177.1
<i>Miconia theizans</i> (Bonpl.) Cogn.	17	34	2	KF821243.1	KF821714.1
<i>Miconia tillettii</i> Wurdack	17		2	KF821246.1	KF821716.1
<i>Miconia tinifolia</i> Naudin	17		2	KF821247.1	KF821717.1
<i>Miconia tomentosa</i> (Rich.) D. Don ex DC.		34	2	KF821248.1	EF418905.1
<i>Miconia tonduzii</i> Cogn.	17		9	KF821251.1	KF821719.1
<i>Miconia towarensis</i> Cogn.	17		2	KX073133.1	KX073178.1
<i>Miconia trinervia</i> (Sw.) D. Don ex Loudon		34	2	KF821256.1	KF821722.1
<i>Miconia tuberculata</i> (Naudin) Triana	17		6	KF821261.1	KF821723.1
<i>Miconia tuerckheimii</i> Cogn.	17		4	MK006397.1	MK020506.1
<i>Miconia ulmarioides</i> Naudin	ca. 34		2	KF821263.1	AY460536.1

<i>Miconia virescens</i> (Vahl) Triana			46+-2	2	N/A	N/A
<i>Ossaea angustifolia</i> (DC.) Triana	<i>M. corcovadensis</i> (Raddi) R.Goldenb	17		11	KF821278.1	GQ139309.1
<i>Ossaea congestiflora</i> Cogn.	<i>M. leacongestiflora</i> R.Goldenb.	17		11	KF821288.1	EF418912.1
<i>Ossaea coriacea</i> (Naudin) Triana	<i>M. leabiscoriacea</i> R.Goldenb.	ca. 17		11	KR062470.1	KR062579.1
<i>Ossaea hirsuta</i> (Sw.) Triana	<i>M. hirsuta</i> (Sw.) Judd	17		2	KF821292.1	KF821741.1
<i>Ossaea micrantha</i> (Sw.) Macfad. ex Cogn.	<i>M. rubescens</i> (Triana) Gamba & Almeda	17		6	KF821299.1	AY460539.1
<i>Ossaea quinquenervia</i> (Mill.) Cogn.	<i>M. quinquenervia</i> (Mill.) Gamba & Almeda		34	2	N/A	N/A
<i>Ossaea robusta</i> (Triana) Cogn.	<i>M. variabilis</i> Gamba & Almeda	17		9	KF821309.1	AY460538.1
<i>Ossaea spicata</i> Gleason	<i>M. spicata</i> (Gleason) Gamba & Almeda	17		9	KF821315.1	EU055868.1
<i>Tetrazygia bicolor</i> (Mill.) Cogn.	<i>M. bicolor</i> (Mill.) Triana	17		2	KF821358.1	AY460543.1
<i>Tetrazygia crotonifolia</i> (Desr.) DC.	<i>M. crotonifolia</i> (Desr.) Judd & Ionta		34	2	KF821361.1	KF821766.1
<i>Tetrazygia discolor</i> (L.) DC.	<i>M. christophoriana</i> (Ham.) Judd & Majure		28	2	KF821363.1	EF418920.1
<i>Tetrazygia pallens</i> (Spreng.) Cogn.	<i>M. bicolor</i> (Mill.) Triana		34	2	KF821371.1	KF821770.1
<i>Tococa coronata</i> Benth.	<i>M. tococoronata</i> Michelang.		56	2	KF821383.1	AY460552.1
<i>Tococa guianensis</i> Aubl.	<i>M. tococa</i> (Desr.) Michelang.	17	34	2	KF821385.1	AY460554.1
<i>Tococa nitens</i> (Benth.) Triana	<i>M. nitens</i> Benth	17		2	KF821388.1	AY460557.1
<i>Tococa perclara</i> Wurdack	<i>M. perclara</i> (Wurdack) Michelang.		34	2	KF821389.1	AY460558.1
<i>Tococa platyphylla</i> Benth.	<i>M. platyphylla</i> (Benth.) L.O.Williams	17		9	KF821390.1	EU055896.1