

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA  
ÊNFASE EM SISTEMÁTICA, EVOLUÇÃO E ECOLOGIA DE ANGIOSPERMAS

ANDERSON LUIZ CHRIST

**ESTUDOS INTEGRATIVOS COM O COMPLEXO *Chromolaena congesta*  
(ASTERACEAE, EUPATORIEAE, PRAXELINAE)**

Porto Alegre

2022

ANDERSON LUIZ CHRIST

**Estudos integrativos com o complexo *Chromolaena congesta*  
(Asteraceae, Eupatorieae, Praxelinae)**

Tese apresentada como requisito parcial para  
obtenção do título de Doutor em Botânica com  
ênfase em Sistemática, Evolução e Ecologia de  
Angiospermas na Universidade Federal do Rio  
Grande do Sul.

Orientador(a): Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Mara Rejane Ritter

Co-orientador(a): Prof. Dr. Jimi Naoki  
Nakajima

**Porto Alegre**

**2022**

*“I can't be a mouth for the demon of doubt  
With all of last night's glitter showing”  
 (“Bruising” - Charlie Barnes)*

## AGRADECIMENTOS

Mais uma vez, agradecer. Essa, em geral, é a parte mais fácil dentre todas as que compõem uma tese, embora, após um trabalho como este, corre-se o risco de acabar por esquecer um nome ou instituição. Espero não ter esquecido ninguém, mas, seja como for, não sou menos grato mesmo àqueles que por falhas da memória escapem-me de citação neste momento.

Agradeço aos meus pais, Ivana Catarina Girardi Christ e Darci Luiz Christ (in memoriam), bem como às minhas irmãs Ana Paula Christ e Daiana Luísa Christ e à minha avó Zélia Teresinha Girardi Baú, por todo o apoio e amor que me deram durante esta caminhada, e por serem a minha mais importante e constante base. Sem essa gente maravilhosa, eu nunca teria conseguido chegar até aqui.

Agradeço ao meu namorado, José Fernando Richit, por todo o companheirismo, apoio e carinho, e por continuamente me dar forças e incentivos para seguir em frente. Não sei exatamente o que foi que eu fiz pra convencê-lo a me aturar ao seu lado por todos esses anos, mas ainda bem que o fiz. Agradeço também à Baunilha, minha gata, que foi e tem sido uma indispensável companheira nesta caminhada e um importantíssimo apoio emocional.

Agradeço aos meus orientadores, Mara Rejane Ritter e Jimi Naoki Nakajima, por toparem percorrer esse caminho incerto comigo, por acreditarem em mim às vezes muito mais do que eu mesmo acreditaria e por toda a ajuda que me deram durante a produção deste trabalho. Sinto também que preciso mais uma vez agradecer ao professor Renato Aquino Záchia, que me orientou nos meus primeiros trabalhos e me ensinou o que é ser um taxonomista e um apaixonado por botânica.

Agradeço aos colegas do LabTax, pelas conversas, dúvidas partilhadas, ensinamentos, saídas a campo e pelas horinhas de café com docinho da Tia, tão fundamentais para o desenvolvimento de qualquer pesquisa botânica. Em especial, agradeço à Claudenice Dalastra, à Julia Kilipper e à Monica Buchoski, também conhecidas como Lulus, pela amizade, pelas risadas e por me acompanharem nessa estrada, fazendo com que ela fosse menos solitária. Agradeço também aos demais colegas de PPG Botânica, principalmente àqueles com quem passei por esse país (e às vezes até pelo exterior) em busca das minhas Chromofilas ou com quem pude conversar sobre esse meio no qual vivemos e decidimos trabalhar. Nesse sentido, agradeço em especial ao Caleb Lima, à Cleusa Vogel Ely, à Eudes Maria Stiehl Alves, à Fernanda Schmidt, ao Guilherme Coelho, ao Igor Hedlund, ao Jordano Tavares de Carvalho, à Juliana Schaefer, à Mabel Rocio, ao Martin Grings, à Tamara Pastori e

ao Vinicius Resende Bueno. Agradeço também às gurias do Laboratório de Citogenética, em especial à Ariane Vieira, por toda a ajuda e pelas conversas que tivemos.

Agradeço às amigas dos tempos de UFSM e de Mestrado, não só pelas amizades em si mas pelo privilégio de poder seguir contando com elas apesar de não sermos mais colegas. Em especial, agradeço à Dilana Ferreira da Silva, à Edilvane Zonta, à Kassia Trapp, à Laiane Saccol, à Luísa Gonçalves Rodrigues e à Mayara Sagrilo.

Agradeço aos meus queridos amigos alheios a esse universo científico-botânico-biológico por todo o apoio, amizade, risadas e por serem continuamente um lembrete para mim que há muita vida do lado de fora dos muros da universidade. Agradeço primeiro à Ana Luísa Cecatto, ao Bruno Gallas, à Camila Dalavechia e à Caroline Dapper, que me acompanham desde as salas de aula do Dom Hermeto e são uma das minhas mais importantes âncoras nessa vida. Agradeço também à Fernanda Ferreira, ao Marlon Brendon e à Paola Faccioli, que também me conhecem há tanto tempo que até perdemos a conta e que aturam facetas minhas que (graças a Deus) ninguém conhece.

Agradeço aos meus co-autores e diversos colaboradores diretos e indiretos que contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho de uma forma ou de outra. Em especial agradeço ao Daniel Dutra Saraiva e aos professores Eliane Kaltchuk, Marcelo Reginato, e Tatiana Teixeira de Souza-Chies, por aceitarem participar desse estudo e me ajudarem a atravessar alguns caminhos que eu desconhecía. Agradeço à Eudes mais uma vez pela ajuda com as análises filogenéticas, e agradeço também à Marina Fülber pela ajuda com as exsiccatas, com a citogenética, com as coletas e trocas de desesperos comuns.

Agradeço aos demais professores, servidores e outros funcionários da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, em especial do Departamento de Botânica, inclusive à dona Maria, mais conhecida como Tia do Docinho, que alimentou a minha alma durante todos esses anos.

Agradeço às equipes e a todos os funcionários dos herbários e instituições que visitei ao longo desses anos, com menção especial às gurias do ICN, Camila Carneiro, Joana Rocha e Marcia Küpo, que sempre estiveram lá para ajudar, solucionar problemas e me ouvir chorar as minhas diversas pitangas.

Agradeço à Camila Trevisol Fernandes, minha psicóloga, por me ajudar a fazer com que a minha caminhada por essa vida seja um pouco menos penosa do que minha mente insiste em querer.

Agradeço aos meus ex-colegas docentes, aos funcionários e aos meus ex-alunos de Instituto Federal Catarinense lá em Concórdia, onde, apesar de ter passado quatro meses dando aulas, certamente aprendi muito mais do que ensinei.

Agradeço à CAPES e ao CNPq pelo apoio financeiro.

Agradeço à UFRGS pela estrutura física e por ter sido minha segunda morada por tanto tempo.

E, por último, mas de modo algum menos importante, mesmo correndo o risco de ser extremamente prepotente, eu agradeço a mim, incluindo todas as minhas versões passadas, às quais devo muito do que construí durante este doutorado.

## RESUMO

*Chromolaena* DC. (Asteraceae, Eupatorieae), anteriormente subordinado a *Eupatorium* L., é conhecido por ser um gênero taxonomicamente desafiador, abrangendo numerosos complexos de espécies e táxons de difícil delimitação. Entre estes, destaca-se o complexo *C. congesta*, um grupo informal de dez espécies nativas do sudeste da América do Sul e circunscrito com base em similaridade morfológica e distribuição geográfica comum. Em grupos de taxonomia complexa, onde abordagens morfológicas tradicionais falham em esclarecer as circunscrições dos táxons, faz-se desejável o emprego de múltiplas linhas de evidência, constituindo o que é conhecido como taxonomia integrativa. Neste sentido, o presente estudo objetivou a integração de diferentes linhas de evidência para auxiliar na delimitação dos táxons circunscritos no complexo *C. congesta*. Para este fim, foram conduzidas análises morfométricas de agrupamento, visando testar as delimitações morfológicas das espécies e detectar características úteis para sua identificação; análises de modelagem de distribuição geográfica, visando detectar diferentes padrões de distribuição e preferências climáticas entre as espécies do complexo; e análises filogenéticas com marcadores moleculares, visando reconstruir as relações de parentesco entre os táxons e testar seu monofiletismo e posicionamento em *Chromolaena*. Por meio dos resultados obtidos, foi possível detectar a necessidade de alterar a circunscrição de pelo menos seis espécies - *C. ascendens*, *C. congesta*, *C. elliptica*, *C. hirsuta*, *C. latisquamulosa* e *C. squarrulosa* - para contemplar ou excluir populações consideradas morfológicamente atípicas ou com diferentes padrões de distribuição e preferências climáticas. Além disso, foi obtido suporte para duas novidades taxonômicas, sendo uma delas o reconhecimento como táxon à parte de uma variedade tradicionalmente tratada em sinonímia; e a outra consistindo de uma espécie inédita para a ciência. Os resultados dessa tese também permitiram contestar sinonímias anteriormente propostas, bem como indicar a necessidade de sinonimizar *C. xylorhiza* sob *C. ascendens*. Estes resultados foram sumarizados em uma sinopse contendo chave de identificação atualizada, comentários pertinentes sobre o conceito de cada uma das espécies e avaliações de grau de ameaça para cada táxon. Este estudo contribuiu para a atualização do conhecimento sobre o complexo *C. congesta* e do gênero *Chromolaena* como um todo, enquanto também indicou a necessidade de realização de estudos adicionais visando responder questões ainda persistentes.

**Palavras-chave:** Campos sulinos, complexo de espécies, Filogenética, Morfometria, Modelagem de distribuição, Taxonomia Integrativa

## ABSTRACT

*Chromolaena* DC. (Asteraceae, Eupatorieae), previously included in *Eupatorium* L., is well known for being a taxonomically challenging genus, comprehending many species complexes and taxa with unclear circumscriptions. Among them, there is the *C. congesta* complex, an informal group of ten species native to southeastern South America and circumscribed based on morphological evidence and common geographic distribution. In taxonomically challenging groups, where traditional morphological methods fail in solving the circumscription of taxa, it is necessary to apply multiple lines of evidence, which is known as integrative taxonomy. In this context, the present study aimed to integrate different lines of evidence to aid in the delimitation of the taxa included in the *C. congesta* complex. To this end, this thesis includes morphometric clustering analyses, with the objective of testing the morphological delimitation of the species and searching for informative traits to aid in their identification; species distribution modelling, aiming to detect different distribution patterns and climatic preferences among the species of the complex; and phylogenetic analyses with molecular markers, aiming to reconstruct the evolutionary relationships among the taxa and to test their monophyletism and positioning in *Chromolaena*. Our results indicate the need to modify the circumscription of at least six species - *C. ascendens*, *C. congesta*, *C. elliptica*, *C. hirsuta*, *C. latisquamulosa* e *C. squarrolosa* - to contemplate or to exclude populations with atypical morphological traits or with different distribution patterns and climatic preferences. Furthermore, these results also support two new taxonomic novelties, one of them consisting in the recognition as species of a variety of *Eupatorium* traditionally treated as a synonym and its recombination to *Chromolaena*; and the other consisting of the description of a new species. The results of this thesis also confront traditionally held synonyms and suggest the treatment of *C. xylorhiza* as a synonym of *C. ascendens*. These results were summarized in a synopsis including an updated identification key, commentaries on the concept of each species and evaluations of conservation status for each taxon. This study has contributed to updating the current knowledge about the *C. congesta* complex and the *Chromolaena* genus as a whole, while also pointing towards further research to be conducted to solve questions still unanswered.

**Keywords:** Integrative Taxonomy, Morphometrics, Phylogeny, Southern Grasslands, Species Complex, Species Distribution Modelling



## SUMÁRIO

APRESENTAÇÃO .....	10
INTRODUÇÃO GERAL .....	11
<b>CAPÍTULO I — MORPHOMETRIC STUDIES SUGGEST TAXONOMIC CHANGES IN A SPECIES COMPLEX IN <i>Chromolaena</i> (ASTERACEAE, EUPATORIEAE)</b> .....	36
Abstract .....	38
Introduction .....	38
Material and Methods .....	41
Results .....	51
Discussion .....	62
Conclusion .....	77
References .....	79
<b>CAPÍTULO II — DO CLIMATE NICHE AND SPECIES DISTRIBUTION SUPPORT TAXA DELIMITATION IN <i>Chromolaena</i> (ASTERACEAE, EUPATORIEAE)?</b> .....	88
Abstract .....	89
Introduction .....	90
Material and Methods .....	92
Results .....	96
Discussion .....	105
Conclusion .....	112
References .....	113
<b>CAPÍTULO III — TOWARDS A BETTER UNDERSTANDING OF THE <i>Chromolaena congesta</i> COMPLEX (ASTERACEAE, EUPATORIEAE): UPDATED SYNOPSIS WITH TAXONOMIC NOVELTIES</b> .....	120
Abstract .....	121
Introduction .....	121
Material & Methods .....	123
Results .....	124
Taxonomic Treatment .....	124

Conclusion .....	152
References .....	153
<b>CAPÍTULO IV — ANÁLISES FILOGENÉTICAS PRELIMINARES DO COMPLEXO</b>	
<b><i>Chromolaena congesta</i> (ASTERACEAE, EUPATORIEAE, PRAXELINAE) .....</b>	<b>158</b>
Introdução .....	159
Material e Métodos .....	161
Resultados e Discussão .....	167
Conclusão e Perspectivas Futuras .....	174
Referências .....	175
CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	179
ANEXO: PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA DURANTE O DOUTORADO .....	182

## APRESENTAÇÃO

Esta tese encontra-se dividida em quatro capítulos, enumerados abaixo, antecedidos por uma Introdução Geral e sucedidos pelas Considerações Finais.

Os três primeiros capítulos encontram-se redigidos em inglês, na forma de artigos científicos, de acordo com as instruções específicas dos periódicos aos quais foram/serão submetidos para publicação.

Os capítulos incluídos nesta tese são:

1. Capítulo I, intitulado “**Morphometric studies suggest taxonomic changes in a species complex in *Chromolaena* (Asteraceae, Eupatorieae, Praxelinae)**”, redigido de acordo com as instruções do periódico **Acta Botanica Brasilica**, ao qual foi submetido e encontra-se em fase final de revisão.
2. Capítulo II, intitulado “**Do climate niche and species distribution support taxa delimitation in *Chromolaena* (Asteraceae, Eupatorieae)?**”, redigido de acordo com as instruções do periódico **Australian Journal of Botany**, ao qual será submetido.
3. Capítulo III, intitulado “**Towards a better understanding of the *Chromolaena congesta* complex (Asteraceae, Eupatorieae): updated synopsis with taxonomic novelties**”, redigido de acordo com as instruções do periódico **Phytotaxa**, ao qual será submetido.
4. Capítulo IV, intitulado “**Análises filogenéticas preliminares do complexo *Chromolaena congesta* (Asteraceae, Eupatorieae, Praxelinae)**”, redigido em português.

## INTRODUÇÃO GERAL

### 1. Taxonomia Integrativa

A taxonomia integrativa pode ser definida como uma abordagem para descrever e delimitar espécies por meio da integração de diferentes tipos de dados e metodologias (Pante *et al.* 2015). Levando-se em consideração a necessidade de delimitação objetiva de espécies e as limitações impostas pela abordagem morfológica tradicional, o uso integrativo de diferentes ferramentas faz-se extremamente desejável na taxonomia (Dayrat 2005). Este tópico tem se tornado cada vez mais popular nas últimas décadas à medida que novas ferramentas e metodologias de análise são desenvolvidas e à medida que novas formas de integrar diferentes áreas do conhecimento à taxonomia biológica são desenvolvidas. Neste sentido, inúmeras publicações debruçam-se especificamente sobre a necessidade, a importância e as metodologias de trabalho pertinentes à taxonomia (ou biologia) integrativa. Alguns exemplos incluem Wake (2003), Dayrat (2005), Schlick-Steiner *et al.* (2010), Padial *et al.* (2010) e Pante *et al.* (2015).

Outro aspecto central para o desenvolvimento de estudos taxonômicos é o conceito de espécie. Assim como os métodos utilizados para defini-lo, o próprio conceito de espécie continua sendo debatido nas últimas décadas, particularmente à luz da taxonomia integrativa (Mayr 1996; de Queiroz 2005, 2007; Duminil & Di Michele 2009; Naciri & Linder 2015). A discussão a respeito do conceito e da forma mais adequada para a delimitação de espécies é de extrema importância para a biologia em geral (de Queiroz 2005), tendo em vista a ampla gama de conceitos e estudos baseados em comparação de espécies. Segundo de Queiroz (2005), o chamado “*species problem*” é originário da dificuldade encontrada por biólogos para satisfatoriamente definir qual a natureza e a delimitação de uma espécie, um problema que já havia sido identificado anteriormente por autores como Mayr (1957) e Dobzhansky (1976). Neste estudo, é adotado um conceito unificado de espécie, o qual baseia-se na integração de múltiplas linhas de evidência, isto é, em taxonomia integrativa. Este ponto de vista tem sido cada vez mais adotado por pesquisadores (Padial *et al.* 2010), tanto por taxonomistas quanto por pesquisadores de áreas correlatas.

Neste contexto, o estudo aqui apresentado consiste na aplicação de taxonomia integrativa e de um conceito unificado de espécie em um complexo de espécies pertencente ao gênero *Chromolaena* DC., o qual insere-se em Praxelinae R.M.King & H.Rob., Eupatorieae Cass. e Asteraceae Bercht. & J.Presl.

## 2. Contextualização Taxonômica

Asteraceae é uma das maiores, se não a maior família de Angiospermas (Funk *et al.* 2009), com ca. 25.000 espécies e entre 1.600-1.700 gêneros. A família possui distribuição cosmopolita e é caracterizada por uma ampla gama de características morfológicas, como a inflorescência do tipo capítulo, as anteras sinânteras, o cálice profundamente modificado em pápus e os frutos do tipo cipsela (Bremer 1994; Funk *et al.* 2009). Apesar do monofiletismo de Asteraceae jamais ter sido questionado, a classificação da família tem sofrido grandes modificações nas últimas décadas, tanto do ponto de vista de alterações na circunscrição de tribos e subfamílias quanto na redefinição de gêneros (i.e. King & Robinson 1987; Panero & Funk 2008; Robinson 2009; Sancho *et al.* 2013; Panero & Crozier 2016; Susanna *et al.* 2020). Segundo a classificação mais recente, Asteraceae encontra-se dividida em 16 subfamílias e 50 tribos (Susanna *et al.* 2020). No Brasil, ocorrem 30 tribos, ca. 2.200 espécies e ca. 320 gêneros (Roque *et al.* 2020), distribuídas ao longo de todos os estados e dos biomas do país (Roque *et al.* 2017).

Entre as tribos atualmente aceitas, Eupatorieae é uma das 13 adotadas na primeira classificação proposta por Cassini (1819), tendo sido tradicionalmente reconhecida sem grandes modificações em sua circunscrição desde então (King & Robinson 1987, Bremer 1994). Eupatorieae consiste de uma das maiores tribos de Asteraceae, abrangendo ca. 2.000-2.500 espécies (King & Robinson 1987) e ca. 185 gêneros (Rivera *et al.* 2016), os quais se distribuem principalmente pelo Novo Mundo. Apesar de seu conceito tribal ter permanecido relativamente estável ao longo das décadas, a classificação de Eupatorieae em subtribos e gêneros foi drasticamente modificada ao longo do final do século XX devido à fragmentação do tradicional gênero *Eupatorium* L. em mais de 100 gêneros novos ou re-estabelecidos (King & Robinson 1987) e posterior divisão da tribo em 19 subtribos (Robinson *et al.* 2009). Por ser baseada principalmente em microcaracteres de difícil observação, a classificação de King & Robinson (1987) sofreu muita resistência e foi pouco reconhecida por muito tempo (i.e. Matzenbacher 1969; Cabrera & Klein 1989; Cabrera *et al.* 1996), apesar de consistir de uma das melhores tentativas de administrar o conceito artificial de *Eupatorium* até então (Bremer 1994). Atualmente, estudos filogenéticos recentes indicam que, apesar de *Eupatorium s.l.* consistir de um gênero polifilético e *Eupatorium s.s.* de um grupo monofilético (Schilling *et al.* 1999; Schmidt & Schilling 2000), muitos dos demais gêneros atualmente reconhecidos não formam grupos monofiléticos (Rivera *et al.* 2016), sendo necessário novos estudos a fim de melhor esclarecer as relações e circunscrições dos gêneros e subtribos de Eupatorieae.

Praxelinae foi uma das subtribos criadas durante a fragmentação de *Eupatorium*, incluindo os gêneros *Chromolaena*, *Eitenia* R.M.King & H.Rob., *Eupatoriopsis* R.M.King & H.Rob., *Lomatozona* Baker, *Osmiopsis* R.M.King & H.Rob., *Praxeliopsis* G.M.Barroso e *Praxelis* Cass. (King & Robinson 1980). A subtribo inclui ca. 190 espécies, das quais 90% encontram-se presentemente circunscritas em *Chromolaena* (King & Robinson 1987; Bremer 1994; Robinson *et al.* 2009), e ocorre predominantemente ao longo do continente Americano, com poucas espécies de *Chromolaena* e *Praxelis* ocorrendo como introduzidas em outras partes do mundo (King & Robinson 1987). Praxelinae caracteriza-se principalmente pelos involúculos completamente decíduos quando da maturação dos frutos, uma característica incomum em Eupatorieae e facilmente reconhecível em campo (King & Robinson 1987). Estudos filogenéticos recentes indicam o monofilétismo de Praxelinae, ainda que a delimitação dos gêneros provavelmente precise ser reajustada para torná-los monofiléticos (Rivera *et al.* 2016).

*Chromolaena* é um dos maiores gêneros oriundos da segregação de *Eupatorium*, incluindo ca. 170 espécies distribuídas do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina (King & Robinson 1987; Bremer 1994). O gênero pode ser diferenciado do restante da subtribo pelo involúcro imbricado, em geral de aspecto cilíndrico; pelas cipselas prismáticas, não comprimidas; pelo pápus de numerosas cerdas escabrosas, todas do mesmo tamanho; e pelos lobos da corola iguais entre si (King & Robinson 1970). *Chromolaena* é o maior gênero segregado de *Eupatorium* a ocorrer no Brasil (Esteves 2001), onde são atualmente reconhecidas 69 espécies, fazendo com que *Chromolaena* também seja o segundo maior gênero de Eupatorieae encontrado no Brasil, atrás apenas de *Mikania* Willd. (Christ & Rebouças 2020). Este gênero já era considerado um grupo natural e morfologicamente coerente mesmo antes da segregação de *Eupatorium*, quando a maioria das espécies atualmente circunscritas em *Chromolaena* pertenciam a *E.* sect. *Cylindrocephalum* DC. Apesar disso, sua taxonomia é considerada problemática do ponto de vista de delimitação de espécies, uma vez que muitas delas apresentam grande semelhança morfológica superficial (Barroso 1950). Neste sentido, não é incomum encontrar problemas de circunscrição ou dificuldade para identificação de algumas espécies, destacando-se como exemplos táxons como *C. horminoides* DC., *C. leucocephala* Gardner, *C. maximiliani* (Schrad. ex DC.) R.M.King & H.Rob., *C. odorata* (L.) R.M.King & H.Rob. e *C. squalida* (DC.) R.M.King & H.Rob., sendo possível reconhecer diversos grupos informais ou complexos de espécies em *Chromolaena* (Christ & Rebouças 2020).

No que tange a taxonomia e sistemática de *Chromolaena*, ainda não são conhecidos estudos integrativos focados na delimitação e identificação de espécies neste gênero. Os poucos estudos taxonômicos produzidos com *Chromolaena* desde sua separação de *Eupatorium* focam exclusivamente na delimitação de espécies com base em um conceito morfológico (e.g. Esteves 2001; Rodríguez-Cabeza 2013; Perez 2019; Christ & Ritter 2019). Além disso, estudos puramente descritivos com outros tipos de ferramentas também não são frequentes com este gênero. Entre os poucos estudos encontrados, destacam-se Rodríguez *et al.* (2014), que desenvolvem um estudo citológico de uma espécie de *Chromolaena* nativa da Colômbia; e Oliveira *et al.* (2017), que conduzem um estudo quimiotaxonômico com *C. congesta* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.

### 3. Revisão bibliográfica do complexo *Chromolaena congesta*

Um dos vários complexos de espécie identificados até o momento em *Chromolaena* é o complexo *Chromolaena congesta*, circunscrito por Christ & Ritter (2019) com base em características morfológicas, na distribuição geográfica das espécies e na sua tumultuada história taxonômica. De acordo com a circunscrição original de Christ & Ritter (2019), estão inclusas neste complexo as espécies *C. ascendens* (Sch.Bip.) R.M.King & H.Rob., *C. caaguazuensis* (Hieron.) R.M.King & H.Rob., *C. congesta*, *C. elliptica* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob., *C. gentianoides* (B.L.Rob.) R.M.King & H.Rob., *C. hirsuta* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob., *C. latisquamulosa* (Hieron.) R.M.King & H.Rob., *C. rhinanthacea* (DC.) R.M.King & H.Rob., *C. squarrulosa* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob. e *C. xylorhiza* (Sch.Bip.) R.M.King & H.Rob. Além destes nomes válidos, são conhecidos neste complexo táxons atualmente tratados em sinonímia, mas que já foram reconhecidos como entidades válidas por outros autores, como *Eupatorium ascendens* var. *parcisetosum* B.L.Rob. e *E. caaguazuense* var. *nervosum* Chodat.

Morfologicamente, este grupo de espécies caracteriza-se pela presença comum de estruturas subterrâneas de resistência, em geral xilopódios; pelo porte subarborescente em geral diminuto (menos de 0,5 m de altura); pelos capítulos com ca. 6-15 flores, densamente agrupados em capitulescências geralmente corimbiformes terminais; e pela presença de tricomas glandulares capitados principalmente na face abaxial das folhas, nos ápices das brácteas involucrais e nos lobos das corolas. Estas características, entretanto, possuem numerosas variações entre as espécies do complexo: *C. squarrulosa*, por exemplo, pode apresentar até ca. 25-30 flores em seus capítulos, enquanto *C. gentianoides*, *C. latisquamulosa* e *C. rhinanthacea* comumente não apresentam tricomas glandulares em

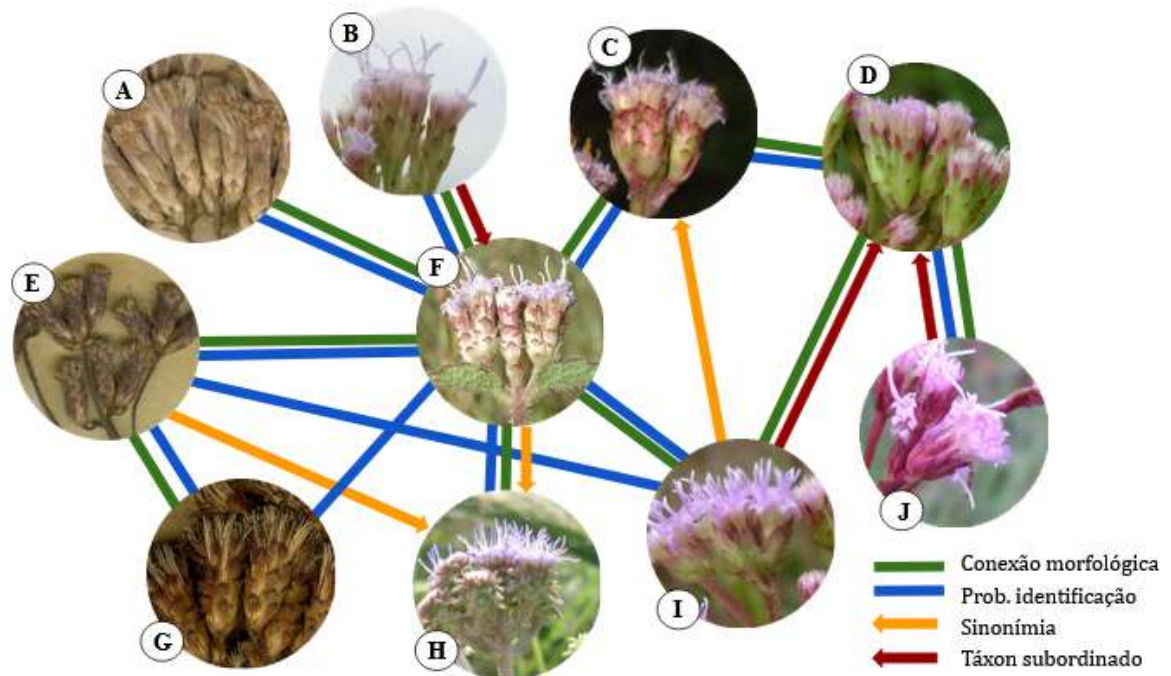
nenhuma de suas estruturas (Christ & Ritter 2019). O complexo *C. congesta* é um grupo de espécies recorrente nas formações campestres do sudeste da América do Sul, distribuindo-se do sudeste brasileiro (estados de Minas Gerais e São Paulo) até o nordeste da Argentina e do leste do Paraguai até a costa do Atlântico no Brasil, sendo mais proeminente nos três estados do sul do Brasil, onde ocorrem pelo menos sete das suas dez espécies (Christ & Ritter 2019; Christ & Rebouças 2020).

Além da semelhança morfológica e da distribuição geográfica comum, outro fator contribuinte para a circunscrição deste complexo de espécies é seu histórico taxonômico, o qual envolve tratamentos e circunscrições inconstantes por diferentes autores e resultou em numerosos problemas de identificação. A Tabela 1 inclui uma síntese dos principais estudos taxonômicos a tratarem das espécies do complexo *C. congesta*, leia-se: Baker (1876) e Barroso (1950), para todo o território do Brasil; Matzenbacher (1979), para o estado do Rio Grande do Sul; Cabrera & Klein (1989), para o estado de Santa Catarina; Cabrera *et al.* (1996), para o Paraguai; Freire & Ariza Espinar (2014), para a Argentina; Perez (2019), para o Uruguai; e Christ & Rebouças (2020), também para o Brasil. As conexões entre as espécies encontram-se sumarizadas na Figura 1 e são discutidas em detalhe a seguir, assim como as particularidades de cada uma e seus principais problemas taxonômicos.



Christ & Rebouças (2020)	Baker (1876)	Barroso (1950)	Matzenbacher (1979)	Cabrera & Klein (1989)	Cabrera et al. (1996)	Freire & Ariza Espinar (2014)	Perez (2019)
<i>C. ascendens</i>	<i>E. ascendens</i>	<i>E. ascendens</i>	-	-	Syn. of <i>E. squarulosum</i>	Syn. of <i>C. squarulosa</i>	
<i>C. caaguazuensis</i>	-	<i>E. caaguazuense</i>	-	-	<i>E. caaguazuense</i>	<i>C. caaguazuensis</i>	
<i>C. congesta</i>	<i>E. tozziifolium</i>		<i>E. congestum</i>		Syn. of <i>E. squarulosum</i> ( <i>C. squarulosa</i> )		
<i>C. elliptica</i>	-	<i>E. ellipticum</i>	<i>E. ellipticum</i>	-	<i>E. ellipticum</i>	<i>C. elliptica</i>	<i>C. elliptica</i>
			<i>E. umbelliforme</i>		-		
<i>C. gentianoides</i>	-	<i>E. gentianoides</i>	-	-	-	-	<i>C. gentianoides</i>
		<i>E. rhinanthaceum</i> var. <i>oinopolepis</i>		<i>E. oinopolepis</i>			
<i>C. hirsuta</i>	<i>E. bartsifolium</i>	<i>E. hirsutum</i>	<i>E. congestum</i> var. <i>hirsutum</i>	<i>E. hirsutum</i>	<i>E. hirsutum</i>	<i>C. hirsuta</i>	
			<i>E. sublaetatum</i>				
<i>C. latisquamulosa</i>	-	<i>E. latisquamulosum</i>		-		Syn. of <i>C. elliptica</i>	-
<i>C. rhinanthacea</i>	<i>E. rhinanthaceum</i>			-	<i>E. rhinanthaceum</i>	-	-
<i>C. squarulosa</i>	<i>E. liatrideum</i>		<i>E. squarulosum</i>			<i>C. squarulosa</i>	
<i>C. xylorhiza</i>	<i>E. xylorhizum</i>	<i>E. xylorhizum</i>	-	<i>E. xylorhizum</i>	-	-	-

**Tabela 1.** Síntese dos principais estudos taxonômicos a abordarem espécies do complexo *C. congesta*. A coluna mais à esquerda apresenta os nomes atualmente aceitos para as espécies do complexo, e as demais apresentam os nomes utilizados por cada autor para referir-se às espécies. Espaços preenchidos por um traço (-) sinalizam a ausência do táxon do tratamento taxonômico em questão.



**Figura 1.** Conexões observadas entre as espécies do complexo *Chromolaena congesta*. Conexões morfológicas indicam similaridade morfológica entre os táxons, enquanto problemas de identificação sinalizam os principais casos de identificações trocadas entre diferentes espécies. Uma conexão do tipo “Táxon subordinado” indica que a espécie no início da seta já foi tratada como variedade da espécie ao final da seta. Espécies: A. *C. caaguazuensis*. B. *C. hirsuta*. C. *C. elliptica*. D. *C. rhinanthacea*. E. *C. ascendens*. F. *C. congesta*. G. *C. xylorhiza*. H. *C. squarrulosa*. I. *C. latisquamulosa*. J. *C. gentianoides*. Imagens: Anderson Christ (imagens de campo) e Plataforma JStor (imagens de herbário).

### 3.1. *Chromolaena ascendens* (Sch.Bip.) R.M.King & H.Rob. e *Eupatorium ascendens* var. *parcisetosum* B.L.Rob.

*C. ascendens* é restrita ao Brasil, sendo conhecida para os estados de Minas Gerais, São Paulo e Rio de Janeiro e com ocorrência incerta para os estados do Paraná e Santa Catarina (Christ & Rebouças 2020). A espécie é típica de campos gerais, ocorrendo tanto nos biomas Cerrado quanto Mata Atlântica (Christ & Rebouças 2020). Apesar de indicações de ocorrência em outros estados do Brasil, como Rio Grande do Sul, ou de países limítrofes como Argentina e Paraguai, não há registros de indivíduos com morfologias típicas de *C. ascendens* nessas localidades (Christ & Ritter 2019).

A descrição original da espécie foi publicada em Baker (1876), tendo sido baseada em um manuscrito de Schult-Bipontinus para uma espécie denominada por ele de *Osmia ascendens* Sch.Bip. Entre as características ressaltadas na obra para a delimitação da espécie, estão o indumento griseo-tomentoso da face abaxial das folhas, que são crassas e regularmente crenadas nas margens, o indumento tomentoso dos caules e ramos e os capítulos com 15-17 flores. Entretanto, não houve designação de um tipo na descrição da espécie, e os sintipos indicados por Baker (1876) apresentam grande variação morfológica nestes

caracteres, sobretudo o espécime Sellow 574. Este espécime apresenta características morfológicas bastante distintas das descritas por Schultz-Bipontinus, e provavelmente se trata de um espécime de *Eupatorium caaguazuense* var. *nervosum* Chodat, variedade ainda não descrita quando da descrição de *E. ascendens*. Este cenário contribui para a dificuldade de delimitar objetivamente esta espécie desde sua descrição original, o que só foi parcialmente resolvido quando Freire & Ariza Espinar (2014) propuseram a escolha de um destes sítipos em um lectótipo (Martius 798). De acordo com os espécimes citados por Baker (1876), *E. ascendens* estaria provavelmente restrito ao estado de Minas Gerais.

Robinson (1923) descreveu *E. ascendens* var. *parcisetosum* B.L.Rob. com base em uma coleta de Saint-Hilaire feita no Rio Grande do Sul. Segundo o autor, esta variedade difere da variedade típica essencialmente pelo indumento menos denso nos ramos e folhas e pela distribuição geográfica: *E. ascendens* var. *parcisetosum* ocorreria exclusivamente no Rio Grande do Sul. Este posicionamento é seguido por Barroso (1950), Matzenbacher (1979), Cabrera & Klein (1989) e Christ & Ritter (2019). Entretanto, o nome varietal caiu em desuso com o passar do tempo, e, após a fragmentação de *Eupatorium* e recombinação de *E. ascendens* em *C. ascendens*, tornou-se usual identificar espécimes previamente assinalados a *E. ascendens* var. *parcisetosum* apenas como *C. ascendens*, fazendo com que um táxon descrito inicialmente apenas para Minas Gerais passasse a figurar na flora do Rio Grande do Sul.

Os problemas de identificação entre *C. ascendens*, *E. ascendens* var. *parcisetosum* e as demais espécies do complexo acentuaram-se com os tratamentos taxonômicos inconstantes produzidos nas décadas subsequentes. Cabrera *et al.* (1996), Freire & Ariza Espinar (2014) e Perez (2019) consideram *C. ascendens* como sinônimo de *C. squarrulosa*, enquanto Barroso (1950), Matzenbacher (1979), Cabrera & Klein (1989), Christ & Ritter (2019) e Christ & Rebouças (2020) discordam deste posicionamento, considerando ambas como espécies distintas com base principalmente nas características gerais dos involúcrulos e no formato e indumento das folhas. Christ & Ritter (2019) também enfatizam a distribuição geográfica de *C. ascendens* como determinante para discordar desta sinonímia: *C. ascendens* é considerada uma espécie endêmica do Brasil, uma vez que não foram encontrados espécimes com morfologias típicas desta espécie em outros países, enquanto que *C. squarrulosa* distribui-se também pela Argentina, Paraguai e Uruguai. *E. ascendens* var. *parcisetosum*, por sua vez, é tratada por Cabrera *et al.* (1996), Freire & Ariza Espinar (2014), Christ & Ritter (2019), Perez (2019) e Christ & Rebouças (2020) como sinônimo de *C. squarrulosa*. Apesar disto, Christ & Ritter (2019) sinalizam que existem numerosas diferenças morfológicas entre esta variedade e

a morfologia típica de *C. squarrulosa*, e indicam que esta sinonímia se mantém devido a intermediários morfológicos que dificultam a separação completa de *E. ascendens* var. *parcisetosum* desta espécie. Estes autores, entretanto, enfatizam a necessidade da realização de estudos subsequentes a fim de melhor investigar a relação morfológica entre estes fenótipos.

A ocorrência de *C. ascendens* no sul do Brasil, especificamente no Paraná e em Santa Catarina, permanece dúvida. Apesar de Christ & Ritter (2019) indicarem a ocorrência desta espécie nestes estados, os espécimes assinalados a esta espécie e usados como testemunho apresentam variações morfológicas notáveis em relação ao fenótipo típico, razão pela qual Christ & Rebouças (2020) optaram por indicar *C. ascendens* como apenas possivelmente ocorrente no Sul do Brasil.

### **3.2. *Chromolaena caaguazuensis* (Hieron.) R.M.King & H.Rob. e *Eupatorium caaguazuense* var. *nervosum* Chodat**

*C. caaguazuensis* foi descrita como *Eupatorium caaguazuense* por Hieronymus (1897) com base em Balansa 951, coletada na localidade de Caaguazú, no Paraguai. No ato de descrição da espécie, Hieronymus frisa a semelhança entre sua nova espécie e *E. congestum* e *E. bracteatum* (sinônimos de *C. congesta*), sendo as principais características morfológicas usadas pelo autor para delimitar sua nova espécie o formato cordiforme das bases das folhas e o menor número de flores nos capítulos. Freire & Ariza Espinar (2014) indicam um exemplar depositado no herbário G como lectótipo de *E. caaguazuense*, uma vez que, até então, existiam diversos sítipos em diversos herbários identificados como Balansa 951. Posteriormente, Perez (2019) conduziu uma lectotipificação secundária a fim de especificar qual o espécime de Balansa 951 depositado no herbário G que deve ser considerado o lectótipo.

A espécie era tradicionalmente conhecida apenas para a região oriental do Paraguai e para a província de Misiones, na Argentina, mas estudos recentes têm ampliado sua distribuição geográfica. A ocorrência desta espécie no Brasil, especificamente para o Rio Grande do Sul, já foi anteriormente sinalizada por Augusto (1946), Barroso (1950), Barroso (1952) e Cabrera *et al.* (1996) e sugerida por Matzenbacher (1979), em alguns casos inclusive com indicação de material examinado. Entretanto, os espécimes listados por estes autores tratavam-se sempre de espécimes de *C. congesta* identificados incorretamente, de modo que a ocorrência de *C. caaguazuensis* no Rio Grande do Sul nunca foi confirmada. Por outro lado, Christ & Rebouças (2020) confirmam a ocorrência desta espécie no Brasil pela primeira vez

com base em espécimes corretamente identificados, indicando sua ocorrência no estado do Mato Grosso do Sul, em geral próxima à fronteira com o Paraguai. Além disso, Perez (2019) reportou a ocorrência desta espécie para o Uruguai pela primeira vez.

*E. caaguazuense* var. *nervosum* foi descrito por Chodat (1902) com base em Balansa 942, em Caaguazú, e em Hassler 4567, proveniente de Carimbatay, esta última designada como lectótipo por Freire & Ariza Espinar (2014). De todas as variedades de *E. caaguazuense* já descritas, esta é a única que jamais foi considerada sinônimo da variedade típica, devido às dissimilaridades morfológicas existentes entre ambas. *Eupatorium caaguazuense* var. *nervosum* difere da variedade típica sobretudo pelas lâminas foliares maiores e mais robustas, com a nervação distintamente reticulada e emersa na face abaxial e pelo maior número de flores nos capítulos. Apesar disso, esta variedade jamais foi tratada como uma espécie à parte, tendo sido considerada sinônimo de *C. squarrulosa* por Cabrera *et al.* (1996), Freire & Ariza Espinar (2014), Christ & Ritter (2019) e Christ & Rebouças (2020). Apesar disto, o indumento dos caules e folhas e as características gerais do involúcro permitem a diferenciação desta variedade do fenótipo típico de *C. squarrulosa*, sugerindo que estudos aprofundados com estes táxons devem ser conduzidos para elucidar a circunscrição de ambos.

### **3.3. *Chromolaena congesta* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.**

*Chromolaena congesta* foi descrita como *Eupatorium congestum* por Hooker & Arnott (1836) com base em uma coleta de Tweedie proveniente provavelmente do Uruguai. Na descrição da espécie, os autores não enfatizam nenhuma característica morfológica em particular que seja diagnóstica, apenas ressaltando que a mesma se aproxima grandemente de *E. bracteatum* Hook. & Arn., descrita na mesma página, da qual difere pela ausência de brácteas subinvolucrais abaixo dos capítulos. Em Baker (1876), a espécie aparece sob o nome de *E. tozziifolium* DC., espécie descrita por Candolle (1836) com base em uma coleta de Gaudichaud em São Paulo e também considerada tradicionalmente um sinônimo de *C. congesta*. Barroso (1950), Matzenbacher (1979), Cabrera & Klein (1989), Esteves (2001), Christ & Ritter (2018) e Christ & Rebouças (2020) concordam com estas sinonímias.

Segundo Christ & Ritter (2019), *C. congesta* é uma espécie típica dos campos de Mata Atlântica nos estados da região sul do Brasil, onde é uma das mais frequentes espécies de *Chromolaena* neste tipo de ambiente. A espécie também é citada para os estados de São Paulo, Minas Gerais e Mato Grosso do Sul, e, fora do Brasil, sua ocorrência é indicada para o Uruguai, a Argentina e o Paraguai. Cabrera *et al.* (1996), Freire & Ariza Espinar (2014) e

Perez (2019) consideram *C. congesta* como sinônimo de *C. squarrulosa*, resultando em um cenário onde a espécie é reconhecida como táxon válido apenas no Brasil.

A inclusão de *C. ascendens* nesta sinonímia por estes mesmos autores dificulta mais a manutenção de *C. congesta* e *C. ascendens*. Ambas espécies possuem certa semelhança superficial, diferindo uma da outra sobretudo pelo indumento de caules e folhas, pelo número de flores nos capítulos e pelo indumento das cipselas. Apesar de *C. ascendens* ser típica dos estados de São Paulo e Minas Gerais, onde há registros de poucas populações de *C. congesta*, problemas de identificação entre estas espécies são comuns principalmente no sul do Brasil, devido à problemática envolvendo a identificação de *E. ascendens* var. *parcisetosum* e ao fato deste nome varietal ter caído em desuso em favor apenas de *E. ascendens* ou *C. ascendens*. Soma-se a isto o fato de que os poucos trabalhos a fornecerem descrições tanto para *E. congestum* quanto para *E. ascendens* var. *parcisetosum*, como Matzenbacher (1979) e Cabrera & Klein (1989), basearem suas descrições comumente em espécimes identificados incorretamente, resultando em um cenário em que *C. congesta* e *C. ascendens* acabam sendo conectadas por problemas de identificação e circunscrição apesar de praticamente não co-ocorrerem.

Outro fator problemático envolvendo esta espécie é sua proximidade morfológica com *C. hirsuta*, a qual também se reflete na história taxonômica de ambas as espécies. Malme (1933) já indicou a existência de possíveis híbridos entre ambas as espécies, e Christ & Ritter (2019) ressaltam a grande quantidade de indivíduos com morfologias intermediárias conectando ambas as espécies, de modo que, muitas vezes, torna-se muito difícil tomar decisões taxonômicas envolvendo estes táxons. Candolle (1836), na descrição de *E. tozziifolium*, também indica a proximidade desta espécie com *E. bartsiiifolium* DC., sinônimo de *C. hirsuta*. Cabrera & Vittet (1963), por sua vez, reduzem o basônimo de *C. hirsuta*, *E. hirsutum* Hook. & Arn., a uma variedade de *E. congestum*, também reforçando uma relação de proximidade entre ambos táxons. Por fim, *E. congestum* var. *truncatum*, descrito por Hassler (1916) com base em material coletado no Paraguai, é atualmente considerado sinônimo de *C. hirsuta*. Ambas as espécies vêm sendo tradicionalmente separadas com base principalmente no formato das folhas e na filotaxia, que é oposta em *C. congesta* e predominantemente alterna em *C. hirsuta*. Os indivíduos com morfologias intermediárias encontrados, entretanto, desafiam essa diferenciação, indicando que caracteres morfológicos tradicionais podem não bastar para delimitar ambas as espécies.

Também é notável o gradiente morfológico observado entre *C. congesta* e *C. latisquamulosa* sobretudo nos campos de altitude do Rio Grande do Sul, onde é comum a

ocorrência no campo indivíduos com morfologias intermediárias co-ocorrendo com indivíduos típicos de ambas as espécies. De modo geral, *C. congesta* e *C. latisquamulosa* podem ser diferenciadas pelo formato das folhas, pelo hábito e pelo indumento de folhas e involúcros (Christ & Ritter 2019). Os intermediários encontrados, entretanto, dificultam a identificação de *C. congesta* nas regiões de altitude do sul do Brasil.

A ausência de bons caracteres diagnósticos indicados pelos autores do nome reforça a dificuldade de identificação de *C. congesta*. Existe certa dificuldade na separação do morfotipo típico de *C. congesta* dos morfotipos característicos de outras espécies semelhantes, em grande parte devido a ausência de caracteres diagnósticos, mas também devido a variações morfológicas inter e intraespecíficas. Muitos indivíduos com morfologias consideradas atípicas para as demais espécies do grupo *C. congesta* acabam sendo atribuídas a *C. congesta*, que assume o papel de “espécie guarda-chuva” para acomodar morfotipos de difícil identificação. As relações entre estes morfotipos e possíveis explicações para suas origens ainda não estão claras, requerendo estudos focados na sistemática e na evolução deste grupo para serem melhor compreendidas.

#### **3.4. *Chromolaena elliptica* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.**

Esta espécie foi descrita como *Eupatorium ellipticum* por Hooker & Arnott (1836), com base em uma coleta de Tweedie do Rio Grande do Sul, atualmente depositada no herbário K. Baker (1876), ao compilar material referente a *E. rhinanthaceum* DC. na *Flora Brasiliensis*, erroneamente atribuiu o espécime-tipo de *E. ellipticum* a esta espécie, entretanto, sem inserir este binômio sob a sinonímia do primeiro. Segundo Robinson (1933), isto foi um equívoco de Baker, o qual resultou no negligenciamento de *E. ellipticum* até sua redescoberta nesta mesma publicação. Christ & Ritter (2019) concordam com Robinson (1933) quanto ao equívoco de Baker (1876) e quanto à manutenção de *C. elliptica* e *C. rhinanthacea* como espécies diferentes, com base principalmente no indumento do caule, folhas, eixos e brácteas involucrais.

*Chromolaena umbelliformis* (Dusén) R.M.King & H.Rob. foi descrita como *E. umbelliforme* em Malme (1933), com base em um manuscrito de Dusén e em coletas deste autor realizadas no Paraná e em Santa Catarina e depositadas no herbário S. As características morfológicas citadas no protólogo e observadas nos espécimes coletados por Dusén coincidem em grande parte com as observadas em *E. ellipticum*, sugerindo que *C. umbelliformis*, na realidade, seria um sinônimo de *C. elliptica*. Segundo Rambo (1956), haveria uma continuidade geográfica conectando estes táxons: *Eupatorium umbelliforme* seria

uma espécie do contingente setentrional com limite sul no Rio Grande do Sul, enquanto *E. ellipticum* pertenceria ao contingente meridional com limite norte no Rio Grande do Sul. Este fator geográfico, juntamente com a proximidade morfológica dos espécimes-tipo de ambas as espécies, foram decisivos para que Christ & Ritter (2019) optassem por incluir *C. umbelliformis* na sinonímia de *C. elliptica*.

*C. elliptica* ocorre em regiões campestres dos biomas Mata Atlântica e Pampa no sul do Brasil e no estado de São Paulo. A espécie também é registrada no Uruguai e na Argentina, embora de forma rara e com registros de poucas populações. Cabrera *et al.* (1996) indica a ocorrência de *E. ellipticum* no Paraguai, mas a ilustração presente neste trabalho e muitas das características morfológicas citadas na descrição não estão de acordo com o que consta no protólogo de *E. ellipticum*, levantando dúvidas acerca da ocorrência desta espécie no Paraguai.

Apesar de *C. elliptica* ser em geral bem caracterizada e poder ser reconhecida com facilidade pelo aspecto geral da planta e pelo formato das folhas, são observadas em comum numerosas populações com variações morfológicas no indumento, no formato das folhas e no aspecto geral dos espécimes. Estas variações resultam em uma espécie de difícil compreensão, e muitos espécimes com estes fenótipos discordantes tendem a ser identificados como outras espécies do complexo, particularmente como *C. congesta*. De fato, estes espécimes possuem certa proximidade morfológica com esta espécie, indicando possivelmente a ocorrência de híbridos entre *C. congesta* e *C. elliptica*. Entretanto, estudos focados na relação entre estas espécies e no seu comportamento reprodutivo jamais foram conduzidos, e não é possível confirmar neste momento se estes espécimes intermediários realmente se tratam de híbridos ou se consistem apenas de variações morfológicas de uma destas espécies.

### **3.5. *Chromolaena gentianoides* (B.L.Rob.) R.M.King & H.Rob.**

*Chromolaena gentianoides* foi descrita por Robinson (1923) como *Brickellia gentianoides* B.L.Rob. com base em material coletado por Saint-Hilaire no Rio Grande do Sul. Segundo este autor, o número de costelas das cípselas variando de 9 a 10 encontrado nesta espécie é característico de *Brickellia*, razão pela qual o autor optou por descrever sua nova espécie neste gênero e não em *Eupatorium*. Posteriormente, entretanto, Robinson (1932) opta por transferir *B. gentianoides* para *E. gentianoides* (B.L.Rob.) B.L.Rob. Segundo o autor, ao analisar mais espécimes oriundos do sul do Brasil, foi possível constatar que o número de costelas das cípselas no espécime-tipo consiste de um estado de caráter atípico na espécie,



cujo padrão é apresentar 5 costelas, como é usual em *Eupatorium*. Robinson (1932) posiciona *E. gentianoides* em *E. sect. Subimbricata*, diferentemente das demais espécies atualmente circunscritas em *Chromolaena*, que em geral estavam anteriormente posicionadas nas seções *Chromolaena* ou *Cylindrocephalum*. King & Robinson (1970), apesar disso, optam por incluir *C. gentianoides* na sua circunscrição de *Chromolaena*.

Segundo Christ & Ritter (2019), *C. oinopolepis* (Malme) R.M.King & H.Rob., uma espécie típica dos campos de altitude do Paraná e Santa Catarina, deve ser considerada sinônimo de *C. gentianoides*. Essa espécie foi inicialmente descrita como variedade de *E. rhinanthaceum* por Malme (1933), com base em coletas de Dusén no Paraná e em Santa Catarina, uma das quais - Dusén 14611 - consiste de um dos espécimes analisados por Robinson (1932) e que o levaram a transferir *B. gentianoides* a *E. gentianoides*. Posteriormente, Cabrera recombina *E. rhinanthaceum* var. *oinopolepis* a *E. oinopolepis* em Cabrera & Vittet (1963) e inclui esta espécie em *E. sect. Microstemon*. Da mesma forma que *E. gentianoides*, *E. oinopolepis* foi recombinação para *Chromolaena* por King & Robinson (1970) sem que comentários adicionais quanto ao posicionamento da espécie em *Eupatorium* fossem feitos. Posteriormente, Perez (2019) fornece a primeira descrição de *C. gentianoides* para o Uruguai, indicando que esta espécie não é exclusiva ao sul do Brasil.

*Chromolaena gentianoides* é uma espécie típica de campos de altitude, sendo considerada muito rara devido às poucas populações atualmente conhecidas. De modo geral, a espécie co-ocorre com *C. rhinanthacea*, com a qual compartilha numerosas características morfológicas, sobretudo do corpo vegetativo e ligadas ao indumento e formato das folhas. Apesar disso, ambas espécies diferem completamente no que diz respeito ao aspecto geral e aos detalhes dos involúcros, ao indumento dos eixos e ao número de flores nos capítulos. Os involúcros de *C. gentianoides* são considerados extremamente atípicos em *Chromolaena*, lembrando superficialmente muito mais espécies de *Praxelis* do que deste gênero. A semelhança superficial desta espécie com *C. rhinanthacea*, no entanto, é notável, de modo que estudos aprofundados visando esclarecer o posicionamento de *C. gentianoides* e sua relação com *C. rhinanthacea* são necessários.

### **3.6. *Chromolaena hirsuta* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.**

*Chromolaena hirsuta* é uma das espécies mais comuns de *Chromolaena*, e, de modo geral, de Eupatorieae a ocorrer nos campos do sul do Brasil. Também é uma espécie muito comum em locais antropizados, como terrenos baldios e beiras de estrada. O morfotipo típico da espécie é facilmente reconhecível no campo por apresentar folhas alternas ao longo de todo

o caule, uma característica única entre as espécies do complexo *C. congesta* e atípica em *Chromolaena*. *Chromolaena hirsuta* possui folhas deltóides a lanceoladas, em geral truncadas na base e longamente atenuadas no ápice, o que também auxilia em sua identificação. Apesar disso, os espécimes apresentam uma grande variação no que diz respeito ao indumento das folhas e do caule e às medidas das folhas e dos entrenós. A espécie distribui-se do norte da Argentina ao sudeste do Brasil, onde ocorre nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul. Também há registros de sua ocorrência no Uruguai e no Paraguai.

A espécie foi descrita como *Eupatorium hirsutum* por Hooker & Arnott (1836) com base em uma coleta de Tweedie do Rio Grande do Sul. Na descrição da espécie, os autores enfatizam o indumento dos caules e a rigidez das folhas. Hooker & Arnott (1836) também descrevem uma variedade não-nomeada (designada como “beta”) para *E. hirsutum*, a qual difere da variedade típica pelo indumento das folhas e ramos e pelo comprimento dos pedúnculos. Os ramos correspondentes aos espécimes-tipos de ambas as variedades foram montados em uma única prancha, a qual encontra-se depositada no herbário K. Ambas as variedades apresentam, em comum, as folhas alternas típicas de *C. hirsuta*, embora Hooker & Arnott (1836) indiquem que esta característica poderia estar presente apenas nos ramos férteis, algo que não se confirma nos espécimes analisados, que apresentam folhas alternas também no caule vegetativo. Hooker & Arnott (1836) também descrevem *E. subhastatum* Hook. & Arn. com base em espécimes coletados por Tweedie e Isabelle no Rio Grande do Sul e na Argentina. As características morfológicas usadas para descrever *E. subhastatum* e os espécimes analisados pelos autores aproximam-se de *E. hirsutum*, particularmente da variedade “beta”, razão pela qual ambas as espécies tradicionalmente foram consideradas sinônimos pela maioria dos autores a abordarem o grupo.

Candolle (1836) descreve, em uma mesma obra, três espécies com características morfológicas coincidentes com as de *E. hirsutum* e *E. subhastatum* e também tradicionalmente consideradas sinônimos de *C. hirsuta*: *E. bartsiiifolium* DC., *E. trichophorum* DC. e *E. hexanthum* DC., com espécimes-tipo coletados, respectivamente, no Rio Grande do Sul, em São Paulo e novamente no Rio Grande do Sul. As características observadas no conjunto de espécimes-tipo destas três espécies e de *E. hirsutum* e *E. subhastatum* corresponde grandemente às variações morfológicas observadas em *C. hirsuta*.

As características morfológicas de *C. hirsuta* a aproximam de *C. congesta*, assim como aspectos nomenclaturais: conforme mencionado acima, *E. hirsutum* foi considerado, por Cabrera & Vittet (1963) uma variedade de *E. congestum*, enquanto *E. congestum* var.

*truncatum* é considerado sinônimo de *C. hirsuta* por Christ & Ritter (2019). *Chromolaena hirsuta* também apresenta intermediários morfológicos já documentados com *C. squarrulosa*, espécie com a qual não apresenta conexões nomenclaturais. Observa-se, também, que os indivíduos intermediários entre estas espécies são poucos e, até o momento, são conhecidos apenas para o Rio Grande do Sul.

Problemas envolvendo o reconhecimento dos sinônimos consagrados de *C. hirsuta* citados acima também não são inéditos na literatura. Cabrera & Vittet (1963), apesar de reconhecerem *E. hirsutum* como variedade de *E. congestum*, consideram *E. subhastatum* como uma espécie à parte de ambas. Cabrera *et al.* (1996), por outro lado, considera tanto *E. hirsutum* quanto *E. subhastatum* como espécies válidas, diferindo uma da outra essencialmente pela filotaxia, que seria oposta em *E. hirsutum*. Este posicionamento do autor não é seguido por nenhum outro estudo envolvendo a taxonomia deste grupo, incluindo Matzenbacher (1979), Esteves (2001), Freire & Ariza Espinar (2014) e Christ & Ritter (2019).

### **3.7. *Chromolaena latisquamulosa* (Hieron.) R.M.King & H.Rob.**

*Chromolaena latisquamulosa*, da mesma forma que *C. oinopolepis*, foi descrita como uma variedade de *E. rhinanthaceum*, desta vez por Hieronymus (1897) com base em uma coleta de Sellow originária do Rio Grande do Sul ou do Uruguai e outra de Lorentz possivelmente proveniente de Misiones. Segundo o autor, a espécie difere da variedade típica essencialmente pelo formato das folhas e por algumas características das brácteas involucrais. Ainda segundo Hieronymus (1897), essa variedade já havia sido anteriormente identificada por Schultz-Bipontinus como algo diferente da sua *Osmia rhinanthacea* Sch.Bip. Os exemplares citados por Hieronymus (1897) não puderam ser localizados, sugerindo fortemente que ambos estavam no herbário B e foram perdidas no incêndio de 1943, o que compeliu Christ & Ritter (2018) a designarem um espécime coletado por Dusén no Paraná como neótipo desta espécie. Hieronymus (1897) indica que *E. rhinanthaceum* var. *latisquamulosum* ocorre no Brasil, nos estados de São Paulo e Rio Grande do Sul, na Argentina, em Misiones, e possivelmente no Uruguai. Apesar disso, não são conhecidas coletas de *C. latisquamulosa* no Uruguai, e a única referência à ocorrência de *C. latisquamulosa* na Argentina é a indicação de Hieronymus (1897) do espécime coletado por Lorentz. Além disso, na Flora Argentina, Freire & Ariza Espinar (2014) indicam *C. latisquamulosa* como sinônimo de *C. elliptica*, apesar das numerosas discontinuidades morfológicas entre ambas as espécies e a inexistência de espécimes intermediários que justifiquem esta sinonímia.

*Eupatorium rhinanthaceum* var. *latisquamulosum* foi considerado por Malme (1933) uma espécie à parte de *E. rhinanthaceum*. Nesta obra, através da análise de espécimes coletados no Paraná, Malme recombina esta variedade para *E. latisquamulosum*. Malme (1933) enfatiza também diferenças no hábito e no indumento de *E. latisquamulosum* e *E. rhinanthaceum* e sugere uma maior semelhança de *E. latisquamulosum* com *E. ascendens*, da qual esta espécie difere essencialmente pelo indumento e pelo formato das folhas. Devido à distribuição geográfica e aos seus caracteres morfológicos, é provável que Malme (1933) estivesse se referindo especificamente a *E. ascendens* var. *parcisetosum* e não à variedade típica de *E. ascendens*.

Desde então, este nome caiu em desuso, sendo negligenciado pela maioria dos autores posteriores que trabalharam com *Eupatorium s.l.* Os únicos estudos a fazerem referência à *E. latisquamulosum* são Barroso (1950), que indica sua ocorrência no Paraná e na Argentina; Esteves (2001), que escreve a espécie para o estado de São Paulo; e BFG (2015), que cita sua ocorrência para o Rio Grande do Sul, porém sem indicar espécimes examinados. Christ & Ritter (2019) recuperam o nome *C. latisquamulosa* e citam formalmente a espécie para o Rio Grande do Sul com base em espécimes examinados. Posteriormente, Christ & Rebouças (2020) formalizam a inclusão de *C. latisquamulosa* como uma espécie válida com base em espécimes corretamente identificados e expandindo sua distribuição também para Santa Catarina, Paraná e São Paulo.

*C. latisquamulosa* é típica de campos de altitude, assim como *C. gentianoides* e *C. rhinanthacea*, espécies com a qual compartilha conexões nomenclaturais e semelhanças morfológicas referentes ao indumento glabro a glabrescente das folhas, que as distinguem prontamente das demais espécies do complexo. A ocorrência desta espécie no Uruguai e na Argentina permanece incerta, uma vez que Freire & Ariza Espinar (2014) não a consideram uma espécie válida e Perez (2019) não a reporta para o Uruguai.

Os maiores problemas de identificação envolvendo *C. latisquamulosa* a conectam com *C. congesta*, devido a um contínuo morfológico comentado acima. Além disso, numerosos problemas de identificação também conectam *C. latisquamulosa* a *E. ascendens* var. *parcisetosum*. No entanto, não há uma grande proximidade morfológica entre essas espécies, uma vez que suas morfologias típicas diferem por características de indumento, formato das folhas e pelas características gerais dos capítulos.

### **3.8. *Chromolaena rhinanthacea* (DC.) R.M.King & H.Rob.**

Esta espécie é típica de campos de altitude do bioma Mata Atlântica, sendo conhecida para os estados de Minas Gerais, São Paulo, Paraná e Rio Grande do Sul. Segundo Esteves (2001), é uma das mais raras espécies do gênero *Chromolaena*, e os registros mais recentes da espécie ao longo de sua distribuição geográfica parecem confirmar isto: a últimas coletas da espécie em Minas Gerais, São Paulo e Paraná datam, respectivamente, de 1845, 1912 e 1969. Populações desta espécie são conhecidas a campo apenas em dois pontos de ocorrência confirmados, um no Rio Grande do Sul e outro em Santa Catarina, sendo possível que a espécie esteja extinta no restante da sua antiga área de ocorrência. Em seus locais de ocorrência, *C. rhinanthacea* é representada por poucos indivíduos que se distribuem em um raio menor do que 2 km, sendo, por isso, considerada extremamente rara e ameaçada. Além disso, não há confirmação quanto a ocorrência da espécie fora do Brasil: Cabrera *et al.* (1996) indicam sua ocorrência no Paraguai, mas a descrição fornecida pelo autor, assim como a ilustração apresentada, não condizem com o encontrado no protólogo e no espécime-tipo. Entretanto, o espécime analisado por Cabrera *et al.* (1996) ainda não foi encontrado, de modo que não é possível ainda tecer conclusões mais concretas quanto à ocorrência de *C. rhinanthacea* no Paraguai.

*Eupatorium rhinanthaceum* foi descrito por Candolle (1836) com base em uma coleta de Gaudichaud feita em São Paulo, a qual encontra-se depositada no herbário P. A espécie nunca foi sinonimizada, e só apresenta conexões nomenclaturais com *C. latisquamulosa* e *C. oinopolepis*, ambas descritas como suas variedades. Morfologicamente, *C. rhinanthacea* apresenta poucos indivíduos com morfologia intermediária conectando-a a *C. elliptica*, mas sua maior semelhança morfológica é com *C. gentianoides*, da qual difere essencialmente pelos involúculos e capítulos com menos flores.

### **3.9. *Chromolaena squarrosa* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.**

*Chromolaena squarrosa* foi descrita como *Eupatorium squarrosulum* Hook. & Arn. por Hooker & Arnott (1836) com base em coletas de Tweedie oriundas do Rio Grande do Sul e do Uruguai. O holótipo desta espécie, segundo Freire & Ariza Espinar (2014), encontra-se depositado no acervo do herbário K. *Chromolaena squarrosa* é típica das formações campestres da bacia do Rio da Prata, sendo conhecida no Uruguai, na Argentina, no Paraguai e no sul do Brasil, onde é amplamente dispersa na metade sul do Rio Grande do Sul e também registrada para o município de Lages, em Santa Catarina. A espécie é caracterizada sobretudo pelas brácteas involucrais com ápices griseo-tomentosos e recurvados a esgarçados, que conferem ao capítulo um aspecto bastante diferenciado. Este conjunto de caracteres é

exclusivo desta espécie, permitindo que seu fenótipo típico seja facilmente reconhecível a campo.

Conforme comentado acima, Cabrera *et al.* (1996), Freire & Ariza Espinar (2014) e Christ & Ritter (2019) consideram *E. ascendens* var. *parcisetosum* como sinônimo de *C. squarrulosa*, apesar de sua conexão histórica com *C. ascendens*. *Eupatorium ascendens* var. *parcisetosum* apresenta uma morfologia típica bastante distinta de *C. squarrulosa*, com indumento menos denso nos caules, ramos e folhas, folhas arredondadas ao invés de oblongas e capítulos sem o involúcro característico de *C. squarrulosa*. No entanto, *E. ascendens* var. *parcisetosum* pode apresentar as brácteas involucrais mais externas griseo-tomentosas e acentuadamente recurvadas, quase escurvas, e observa-se a existência de um contínuo morfológico conectando-a à *C. squarrulosa*. Os indivíduos com morfologias intermediárias encontrados apresentam um notável gradiente de variação do indumento, do formato das folhas e das características gerais do involúcro que acabam por conectar as duas espécies, de modo que é praticamente impossível separar uma da outra com segurança. Em virtude disto, Christ & Ritter (2019) optaram por manter *E. ascendens* var. *parcisetosum* na sinonímia de *C. squarrulosa*, apesar de reconhecer a possibilidade de que ambas sejam espécies diferentes. Observa-se também um aparente padrão geográfico reforçando a separação entre *C. squarrulosa* e *E. ascendens* var. *parcisetosum*: enquanto a morfologia típica da primeira é amplamente encontrada na Argentina, no Paraguai, no Uruguai e na metade sul do Rio Grande do Sul, a qual é dominada pelo bioma Pampa, a morfologia típica da segunda ocorre predominantemente na metade norte do Rio Grande do Sul, local de ocorrência do bioma Mata Atlântica, e também nas regiões de transição entre os dois biomas.

Candolle (1836) descreve *E. liatrideum*, um sinônimo tradicional de *C. squarrulosa* e reconhecido pela maioria dos autores que estudaram a espécie. *E. liatrideum* é o nome utilizado por Baker (1876) e Arechavaleta (1906) para se referir a esta espécie. O espécime-tipo de *E. liatrideum* foi coletado por Gaudichaud no Rio Grande do Sul.

Cabrera *et al.* (1996), Freire & Ariza Espinar (2014) e Perez (2019) reconhecem *C. ascendens* e *C. congesta* como sinônimos de *C. squarrulosa*. De acordo com Christ & Ritter (2019), as três espécies tratam-se de táxons diferentes, sobretudo devido às discontinuidades morfológicas observadas entre os espécimes-tipos das três espécies, as quais não são conectadas por contínuos morfológicos principalmente devido às brácteas involucrais características de *C. squarrulosa*. A única conexão que *C. squarrulosa* apresenta com *C. ascendens* é a sua relação com *E. ascendens* var. *parcisetosum*, comentada acima, uma vez que ambas as espécies nem mesmo co-ocorrem em seus locais de ocorrência. Apesar de *C.*

*squarrulosa* e *C. congesta* co-ocorrerem no sul do Brasil e no Uruguai, não é comum encontrar indivíduos das duas espécies co-ocorrendo em locais específicos, e, de modo geral, não se observam problemas de identificação envolvendo as duas espécies.

*C. squarrulosa* possui ainda conexões com *C. caaguazuensis* através de *E. caaguazuense* var. *nervosum*, considerado sinônimo de *C. squarrulosa* por Freire & Ariza Espinar (2014) e Christ & Ritter (2019), e com *C. hirsuta* através de poucos indivíduos com morfologia intermediária entre ambas as espécies encontrados no Rio Grande do Sul.

### **3.10. *Chromolaena xylorhiza* (Sch.Bip.) R.M.King & H.Rob.**

*Eupatorium xylorhizum* Sch.Bip. ex Baker, o basônimo de *C. xylorhiza*, aparece pela primeira vez em Baker (1876), onde é apresentada uma descrição para esta espécie, a qual baseia-se em uma coleta de Regnell em Minas Gerais e atribuída a Schultz-Bipontinus. Baker (1876) indica que o nome *E. xylorhizum* foi publicado por Schultz-Bipontinus em outra obra, mas não faz indicação quanto à autoria da descrição que apresenta para a espécie. Existem diversos espécimes assinalados como “Regnell 210”, o espécime citado no protólogo de *E. xylorhizum*, e nenhum deles jamais foi formalmente indicado como lectótipo.

*Chromolaena xylorhiza* é uma espécie enigmática e de difícil delimitação. As características presentes na descrição original da espécie coincidem grandemente com as ressaltadas por Schultz-Bipontinus na descrição de *C. ascendens* em Baker (1876). A principal diferença presente nas descrições destas espécies é o indumento das cípselas, que seria glabro em *C. ascendens* e setoso em *C. xylorhiza*. Com base nesta característica, Christ & Rebouças (2020) optam por reconhecer ambas espécies como táxons distintos, apesar da convergência dos demais caracteres morfológicos de ambas, principalmente no que diz respeito aos órgãos vegetativos. Apesar disso, análises subsequentes de material seco indicam variação no indumento das cípselas mesmo em indivíduos únicos.

Cabrera & Klein (1989) e Esteves (2001) indicam a ocorrência de *C. xylorhiza*, respectivamente, em Santa Catarina e em São Paulo. Em ambos os casos, os espécimes analisados pelos autores correspondem a *C. congesta*, espécie com a qual ambos os autores indicam que *C. xylorhiza* teria forte semelhança morfológica. Além disso, alguns espécimes analisados por Cabrera & Klein (1989) possuem semelhança com *E. caaguazuense* var. *nervosum*, e muitos espécimes coletados em São Paulo e assinalados a *C. xylorhiza* possuem maior semelhança com *C. ascendens*.

Deste modo, levando-se em consideração os numerosos problemas de identificação e circunscrição dos táxons do complexo *C. congesta*, fica evidente a necessidade de condução de estudos taxonômicos integrativos a fim de auxiliar na delimitação destas espécies e produzir ferramentas que auxiliem na identificação das mesmas.

## REFERÊNCIAS

ARECHAVALETA, J. 1906. Flora Uruguay. Montevideu: Talleres Gráficos A. Barreiro Y Ramos.

AUGUSTO, I. 1946. Flora do Rio Grande do Sul – Brasil. Porto Alegre: Imprensa Oficial.

BAKER, J.G. 1876. Compositae, II. Eupatoriaceae. In: Martius, CFP. de, Eichler, AG. (eds.) Flora Brasiliensis enumeratio plantarum in Brasilia hactenus detectarum quas suis aliorumque botanicorum studiis descriptas et methodo naturali digestas partim icone illustratas, vol. 6 (2). Leipzig: F. Fleischer. p. 182–398

BARROSO, G.M. 1950. Considerações sobre o gênero *Eupatorium*. Arquivos do Jardim Botânico do Rio de Janeiro 10: 13–116

BREMER, K. 1994. Asteraceae: cladistics and classification. Portland: Timber Press.

CABRERA, A.L.; HOLMES, W.C.; MCDANIEL, S. 1996. Compositae III. Asteroideae, Eupatorieae. In: SPICHIGER, R.; RAMELLA, L. (eds.) Flora del Paraguay, vol. 25. Genève: Conservatoire et Jardin Botaniques de la Ville de Genève. p. 1–349.

CABRERA, A.L.; KLEIN, R.M. 1989. Compostas 4 – Tribo: Eupatorieae. In: Reitz, R. (ed.), Flora Ilustrada Catarinense. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues. p. 415–750.

CABRERA, A.L.; VITTET, N. 1963. Compositae Catharinensis II. Eupatorieae. Sellowia 15: 149–258.

CANDOLLE, A.P. de. 1836 Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis, vol. 5. Paris: Treuttel & Würtz.

CASSINI, H. 1819. Suit du Sixième mémoire sur la famille des Synanthérées, contenant les caractères des tribus. Journal de Physique, de Chimie, d’Histoire Naturelle et des Arts, Paris, t. 88, p. 150–163.

CHODAT, R.H. 1902. Plantae Hasslerianae soit énumération des plantes récoltées au Paraguay par le Dr Émile Hassler, d’Aarau (Suisse) de 1885–1895 et de 1898–1900 et déterminées par le Prof. Dr R. Chodat avec l’aide de plusieurs collaborateurs (Suite). Bulletin de L’Herbier Boissier Sér. 2, 2 (4): 382–403

CHRIST, A.L.; RITTER, M.R. 2018. Typifications in *Chromolaena* and *Praxelis* (Asteraceae: Eupatorieae). Phytotaxa 362 (1): 112–114 <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.362.1.10>



CHRIST, A.L.; RITTER, M.R. 2019. A taxonomic study of Praxelinae (Asteraceae-Eupatorieae) in Rio Grande do Sul, Brazil. *Phytotaxa* 393(2): 141–197. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.393.2.5>

CHRIST, A.L.; REBOUÇAS, N.C. 2020. *Chromolaena* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB16052>, acesso 27 de Junho de 2022.

DAYRAT, B. 2005. Towards integrative taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society* 85:407–415. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.2005.00503.x>

DE QUEIROZ, K. 2005. A unified concept of species and its consequences for the future of taxonomy. *Proceedings of the California Academy of Sciences* 56(18): 196–215.

DE QUEIROZ, K. 2007. Species concepts and species delimitation. *Systematic Biology* 56(6): 879–886. <https://doi.org/10.1080/10635150701701083>

DOBZHANSKY, T. 1976. Organismic and molecular aspects of species formation. In: AYALA, F.J. (ed.), *Molecular Evolution*. Sunderland: Sinauer Associates, p. 95–105

DUMINIL, J; DI MICHELE, M. 2009. Plant species delimitation: a comparison of morphological and molecular markers. *Plant Biosystems* 143: 528–542.

ESTEVES, R.L. 2001. O gênero *Eupatorium* s.l. (Compositae – Eupatorieae) no estado de São Paulo – Brasil. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas.

FREIRE, S.E.; ARIZA ESPINAR, L. 2014. *Chromolaena* DC. In: ZULOAGA, F.O.; BELGRANO, M.J.; ANTON, A.M.R. (eds.) *Flora Argentina, Flora Vascular de la República Argentina, Dicotyledoneae, Asteraceae, 7 (1)*. Buenos Aires: Estudio Sigma S.R.L. p. 327–342

FUNK, V.A.; SUSANNA, A.; STUESSY, T.F.; BAYER, R.J. 2009. *Systematics, Evolution and Biogeography of Compositae*. Vienna: IAPT.

HASSLER, E. 1916. Ex herbario Hassleriano: novitates paraguarienses. xx. In: FEDDE, F. (ed.) *Repertorium specierum novarum regni vegetabilis, fasciculus XIV*. Gebrüder Borntraeger, Berlin, pp. 262–298

HIERONYMUS, G.H.E.W. 1897. Erster Beitrag zur Kenntnis der Siphonogamenflora der Argentina und der angrenzenden Länder, besonders von Uruguay, Paraguay, Brasilien und Bolivien. *Botanische Jahrbücher für Systematik, Pflanzengeschichte und Pflanzengeographie* 22: 672–798.

HOOKER, W.J.; ARNOTT, G.A.W. 1836. Contributions towards a flora of South America and the islands of the Pacific. *Companion to the Botanical Magazine* 1: 234–244.

KING, R.M.; ROBINSON, H. 1970. Studies in the Eupatorieae (Compositae). XXIX. The genus *Chromolaena*. *Phytologia* 20 (3): 196–209 <https://doi.org/10.5962/bhl.part.7118>

- KING, R.M.; ROBINSON, H. 1980. Studies in the Eupatorieae (Asteraceae). CC. Additions to the genus *Chromolaena*. *Phytologia* 47: 230–251 <https://doi.org/10.5962/bhl.part.4456>
- KING, R.M.; ROBINSON, H. 1987. The Genera of the Eupatorieae (Asteraceae). Lawrence: Missouri Botanical Garden.
- MALME, G.O.A.N. 1933. Compositae paranaenses dusenianae. *Kongliga Svenska Vetenskaps Akademien Handlingar* 12: 1–122
- MATZENBACHER, N.I. 1979. Estudo taxonômico do gênero *Eupatorium* L. (Compositae) no Rio Grande do Sul – Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul.
- MAYR, E. 1957. The Species Problem. Washington: American Association for the Advancement of Science.
- MAYR, E. 1996. What is a species, and what is not? *Philosophy of Science* 63(2): 262–277.
- NACIRI, Y.; LINDER, H.P. 2015. Species delimitation and relationships: The dance of the seven veils. *Taxon* 64(1): 3–16.
- OLIVEIRA, J.A.M. de; BERNARDI, D.I.; BALBINOT, R.B.; AVÍNCOLA, A.S.; PILAU, E.; CARMO, M.R.B.; SARRAGIOTTO, M.H.; BALDOQUI, D.C. 2017. Chemotaxonomic value of flavonoids in *Chromolaena congesta* (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology* 70: 7–13.
- PADIAL, J.M.; MIRALLES, A.; DE LA RIVA, I.; VENCES, M. 2010. The integrative future of taxonomy. *Frontiers in Zoology*, 7: 16
- PANERO, J.L.; FUNK, V.A. 2008. The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: major clades of the Compositae revealed. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, Orlando, 47(2): 757–782.
- PANERO, J.L.; CROZIER, B.S. 2016. Macroevolutionary dynamics in the early diversification of Asteraceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 99: 116–132.
- PANTE, E.; SCHOENLICK, C.; PULLANDRE, N. 2015. From integrative taxonomy to species description: one step beyond. *Systematic Biology*, 64(1):152–160.
- PEREZ, C. 2009. Revisión taxonómica *Chromolaena* DC. (Asteraceae: Eupatorieae) en Uruguay. Dissertação de Mestrado. Universidad de la República.
- RAMBO, B. 1952. Análise geográfica das compostas sul-brasileiras. *Anais Botânicos do Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí* 4: 87–160
- RIVERA, V.L.; PANERO, J.L.; SCHILLING, E.E.; CROZIER, B.S.; MORAES, M.D. 2016. Origins and recent radiation of Brazilian Eupatorieae (Asteraceae) in the eastern Cerrado and Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 97: 90–100.

RODRÍGUEZ-CABEZA, B.V. 2013. El género *Chromolaena* DC. (Eupatorieae: Asteraceae) en Colombia: revisión taxonómica y evaluación de su estatus genérico. Dissertação de Mestrado. Universidad Nacional de Colombia.

RODRÍGUEZ, J.D.; MUÑOZ-ACEVEDO, A.; MÉNDEZ, A.L.; JIMÉNEZ, R.A.; GUTIÉRREZ, R.G. 2014. Analysis of the germination rate, mitotic index and karyotype of *Chromolaena barranquillensis* (Hieron.) R.M.King & H.Rob. - Asteraceae. South African Journal of Botany, 94:149–154.

ROBINSON, B.L. 1923. Records preliminary to a general treatment of the Eupatorieae – III. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University 68: 3–42.

ROBINSON, B.L. 1932. Records preliminary to a general treatment of the Eupatorieae – x. Contributions from the Gray Herbarium of Harvard University 100: 3–19.

ROBINSON, B.L. 1933. Taxonomic notes on several South American Eupatoriums. *Ostenia* 1933: 349–358.

ROBINSON, H.; SCHILLING, E.E.; PANERO, J. 2009. Eupatorieae. In: FUNK, V.A.; SUSANNA, A.; STUESSY, T.F.; ROBINSON, H. (eds). Systematic, Evolution and Biogeography of Compositae. Vienna: IAPT.

ROQUE, N.; TELES, A.M.; NAKAJIMA, J.N. 2017. A família Asteraceae no Brasil: classificação e diversidade. Salvador: EDUFBA.

ROQUE, N.; NAKAJIMA, J.; HEIDEN, G. *et al.* Asteraceae in Flora e Funga do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB55>>, acesso em 27 de Junho 2022

SANCHO, G.; FUNK, V.A.; ROQUE, N. 2013. *Moquiniastrum* (Gochnatieae, Asteraceae): disentangling the paraphyletic *Gochnatia*. *Phytotaxa* 147(1): 26–34.

SCHILLING, E.E.; PANERO, J.L.; COX, P.B. 1999 Chloroplast DNA restriction site data support a narrowed interpretation of *Eupatorium* (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* 219: 209–223

SCHLICK-STEINER, B.C.; STEINER, F.M.; SEIFERT, B.; STAUFFER, C.; CHRISTIAN, E.; CROZIER, R.H. 2010. Integrative taxonomy: a multisource approach to exploring diversity. *Annual Review of Entomology*, 55: 421–438

SCHMIDT, G.J.; SCHILLING, E.E. 2000. Phylogeny and biogeography of *Eupatorium* (Asteraceae: Eupatorieae) based on nuclear ITS data. *American Journal of Botany* 87 (5): 716–726.

SUSANNA, A.; BALDWIN, B.G.; BAYER, R.J.; BONIFACINO, J.M.; GARCIA-JACAS, N.; KEELEY, S.; MANDEL, J.R.; ORTIZ, S.; ROBINSON, H.; STUESSY, T.F. 2020. The classification of the Compositae: A tribute to Vicki Ann Funk (1947–2019). *Taxon* 69(4): 807–814.

WAKE, M.H. 2003. What is “integrative biology”? *Integrative and Comparative Biology*, 43: 239–241.

## CAPÍTULO IV

### Análises filogenéticas preliminares do complexo *Chromolaena congesta* (Asteraceae, Eupatorieae, Praxelinae)



## **Análises filogenéticas preliminares do complexo *Chromolaena congesta* (Asteraceae, Eupatorieae, Praxelinae)**

### **INTRODUÇÃO**

Análises filogenéticas com marcadores moleculares são de extrema importância para o estudo da biodiversidade, sobretudo com o intuito de reconstruir as relações de parentesco entre táxons e esclarecer questionamentos a respeito da identidade e da circunscrição de espécies e táxons superiores (Souza-Chies *et al.* 2014). No contexto de taxonomia e sistemática integrativas, a busca pela reconstrução das relações de parentesco evolutivo tem se tornado uma das chaves para a resolução de problemas com grupos taxonomicamente desafiadores, como é o caso de complexos de espécies (Tautz *et al.* 2002). Neste sentido, análises filogenéticas empregando marcadores moleculares configuram uma das principais ferramentas utilizadas por taxonomistas e sistematas na atualidade para lidar com grupos de taxonomia desafiadora. Exemplos recentes de aplicações de estudos filogenéticos com o uso de marcadores moleculares para a resolução de problemas taxonômicos em grupos vegetais incluem Pastori *et al.* (2018), Li *et al.* (2019), Phillips & Bytebier (2020), O'Donnell *et al.* (2021) e Jara-Muñoz *et al.* (2022).

Em Asteraceae, estudos filogenéticos com marcadores moleculares têm auxiliado a esclarecer as relações de parentesco entre as principais linhagens que constituem a família, o que, conseqüentemente, vem acarretando em profundas alterações na classificação de subfamílias, tribos e gêneros. Exemplos recentes de mudanças na classificação de Asteraceae ocasionados por estudos filogenéticos incluem a descrição de Famatinanthoideae (Panero *et al.* 2014); o reconhecimento de Tarchonanthoideae e Dicomioideae como subfamílias distintas de Carduoideae (Mandel *et al.* 2019); a alteração da classificação sub-tribal em Cardueae (Herrando-Moraia *et al.* 2019); e uma nova classificação infragenérica para *Baccharis* L., um dos maiores gêneros da família (Heiden *et al.* 2019).

No que diz respeito a Eupatorieae, estudos filogenéticos realizados nas últimas décadas vêm favorecendo a manutenção do tradicional gênero *Eupatorium* L. com uma circunscrição mais restrita (Schilling *et al.* 1999, Schmidt & Schilling 2000), ainda que a vigente classificação proposta por King & Robinson (1987) precise ser retrabalhada para acomodar descobertas recentes a respeito do não-monofiletismo de diversos gêneros e subtribos (*e.g.* Rivera *et al.* 2016). Entre estes gêneros, inclui-se *Chromolaena* DC., um dos maiores e mais complexos gêneros inseridos em Eupatorieae do ponto de vista de delimitação e reconhecimento de espécies. Conforme explicitado pela filogenia preliminar de Rivera *et al.*

(2016), o relacionamento entre *Chromolaena* e os demais gêneros de Praxelinae ainda é incerto, apesar da subtribo ser confirmada como monofilética. O estudo de Rivera *et al.* (2016) indicou a possibilidade do gênero ser recircunscrito para melhor refletir sua história evolutiva, o que acarretou na necessidade de uma filogenia molecular de Praxelinae focada em *Chromolaena*, a qual encontra-se atualmente em desenvolvimento (comunicação pessoal). Soma-se a este cenário a existência de numerosos complexos de espécies e táxons de identidade duvidosa conforme mencionados por Christ & Rebouças (2020) em seu tratamento de *Chromolaena* para a Flora do Brasil Online, o que apenas reforça a necessidade de estudos filogenéticos visando a resolução dos problemas taxonômicos e sistemáticos observados neste gênero.

Entre os diversos grupos taxonômicos informais observados em *Chromolaena*, destaca-se o complexo *C. congesta*, delimitado por Christ & Ritter (2019). Os resultados dos estudos conduzidos recentemente com dados morfológicos, geográficos e climáticos vêm contribuindo grandemente para o esclarecimento da circunscrição e identidade da maioria das espécies deste complexo. Porém, diversas questões permanecem sem resposta, e mesmo os estudos já conduzidos não foram suficientes para esclarecer a identidade de populações com morfologias consideradas “intermediárias” entre diferentes espécies. Além disso, a reconstrução das relações de parentesco e a testagem do monofiletismo não apenas de cada espécie, mas do complexo como um todo, seria imprescindível para uma melhor compreensão da natureza e evolução deste grupo de espécies e para a tomada de determinadas decisões taxonômicas. Entre os principais pontos que podem ser esclarecidos com o uso dos dados moleculares, destacam-se o posicionamento de *C. gentianoides* (B.L.Rob.) R.M.King & H.Rob., uma espécie morfológicamente bastante distinta do restante do complexo; o esclarecimento do relacionamento entre *C. congesta* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob. e *C. elliptica* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob., bem como seus intermediários; e a obtenção de dados adicionais para dar suporte à descrição de *C. diversifolia* A.L.Christ, ao reconhecimento de *C. nervosa* (Chodat) A.L.Christ e à manutenção de *Eupatorium ascendens* var. *parcisetosum* B.L.Rob. como sinônimo de *C. squarrulosa* (Hook. & Arn.) R.M.King & H.Rob.

Neste sentido, este estudo objetivou a produção de uma filogenia molecular do complexo *C. congesta* baseada em marcadores nucleares e plastidiais. Os objetivos específicos inicialmente propostos foram: a) testar o monofiletismo do complexo *C. congesta* e seu posicionamento em *Chromolaena* e Praxelinae; b) testar o monofiletismo e reconstruir as relações de parentesco das espécies que compõem o complexo *C. congesta*; c) auxiliar no

esclarecimento da identidade de populações com morfologias intermediárias; e d) fornecer dados que contribuam para o entendimento da evolução do complexo e para a resolução de problemas taxonômicos existentes. Porém, devido à pandemia de COVID-19, este estudo não pôde ser completamente conduzido e finalizado no prazo inicialmente proposto. Com isto, estas análises foram conduzidas visando apenas testar as sequências obtidas e as condições laboratoriais para condução da extração de DNA e da amplificação das amostras. Os dados apresentados a seguir são considerados apenas preliminares e um primeiro passo em direção à reconstrução das relações filogenéticas entre as espécies do complexo *C. congesta*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Coleta e extração de material genômico**

Para coleta de amostras para extração de material genômico, foram conduzidas expedições a campo em todos os estados do sul do Brasil entre dezembro de 2017 e abril de 2021. Durante as expedições de campo, folhas de plantas do complexo *C. congesta* foram coletadas e acondicionadas em embalagens preservadas com sílica-gel, conforme metodologia usual. Também foram coletadas folhas de outras espécies de *Chromolaena* encontradas durante as expedições de campo a fim de elucidar o posicionamento do complexo dentro do gênero, e também folhas de espécies de *Praxelis* Cass. (Eupatorieae, Praxelinae) e *Calea* L. (Asteraceae, Neurolaeneae) para uso como *outgroups* nas análises filogenéticas. Espécimes-testemunho de todo o material coletado foram incluídos no acervo do herbário ICN. No total, foram coletadas 55 amostras de espécimes do complexo *C. congesta* e outras 15 de outras espécies de *Chromolaena* ou de *outgroups*. A relação completa de espécimes coletados encontra-se na Tabela 1.

Para a reconstrução das relações filogenéticas entre os espécimes coletados com base em marcadores moleculares, foram escolhidas o espaçador interno transcrito (ITS) e espaçador externo transcrito (ETS) do genoma nuclear e, do genoma plastidial, o gene *ndhI*, o espaçador intergênico *ndhI-ndhG* e o gene *ndhF*, incluindo parte do espaçador intergênico *ndhF-ycf1*. Estas regiões foram utilizadas por Rivera *et al.* (2016) para a produção de sua filogenia preliminar de Eupatorieae, com resultados satisfatórios, e também por serem as regiões escolhidas para a produção de uma filogenia preliminar de Praxelinae focada em *Chromolaena* (comunicação pessoal). A extração do material genômico a partir das folhas coletadas em sílica-gel foi adaptado de Doyle & Doyle (1987), incluindo modificações na quantidade de  $\beta$ -Mercaptoetanol adicionado ao tampão de extração (32  $\mu$ l). As extrações foram realizadas em 2019 com a infraestrutura do Laboratório de Sistemática Molecular da



UFRGS. A qualidade das extrações foi acessada através de eletroforese em gel de agarose 1%, e os resultados da extração foram posteriormente quantificados com uso de espectrofotômetro no Laboratório de Fisiologia Vegetal da UFRGS.

**Tabela 1.** Dados dos espécimes coletados para extração de material genômico e seus respectivos testemunhos. Espécimes marcados com asterisco (\*) não tiveram seu material genômico extraído até a finalização deste manuscrito. Espécimes marcados com acento circunflexo (^) não fazem parte do complexo *C. congesta*.

<b>Espécie</b>	<b>Espécime</b>	<b>Voucher</b>	<b>Dados da coleta</b>
<i>Calea triantha</i>	ALC 587^	ICN 203075	BR, SC, Lages, BR-116, 08.III.2019
<i>Chromolaena callilepis</i>	ALC 509^	ICN 198191	BR, RS, Dom Pedrito, Ponche Verde, IV.2017
<i>Chromolaena congesta</i>	ALC 483	ICN 197187	BR, RS, Jaquirana, Propriedade das Irmãs, 26.I.2018
	ALC 496	ICN 198161	BR, RS, Jaquirana, Propriedade das Irmãs, 03.III.2018
	ALC 503*	ICN 198165	BR, RS, Jaquirana, PE Tainhas, 04.III.2018
	ALC 536	ICN 200756	BR, RS, Cambará do Sul, estrada p/ o PN dos Aparados da Serra, 18.XII.2019
	ALC 547	ICN 200719	BR, RS, Arvorezinha, RS-332, 07.II.2019
	ALC 555	ICN 200716	BR, RS, Espumoso, Depósito, 08.II.2019
	ALC 569	ICN 200726	BR, SC, Capão Alto, próximo a BR-116, 07.III.2019
	ALC 586	ICN 200737	BR, SC, Lages, BR-116, 08.III.2019
	ALC 622	ICN 201693	BR, SC, São Bento do Sul, Minas de Caulim, 01.IV.2019
	ALC 633	ICN 201691	BR, PR, Balsa Nova, São Luiz do Purunã, 02.IV.2019
	ALC 638	ICN 201694	BR, PR, Balsa Novas, caminho p/ Ponte dos Arcos, 02.IV.2019
<i>Chromolaena christieana</i>	ALC 520^	ICN 200762	BR, RS, Barra do Quaraí, Parque Estadual do Espinilho, 24.XI.2018
	ALC 526^	ICN 200763	BR, RS, Uruguaiana, beira da rodovia, 24.XI.2018
<i>Chromolaena elliptica</i>	ALC 505	ICN 198168	BR, RS, Jaquirana, PE Tainhas, 04.III.2018
	ALC 550	ICN 200717	BR, RS, Arvorezinha, RS-332, 07.II.2019
	ALC 576	ICN 200732	BR, SC, Capão Alto, próximo a BR-116, 07.III.2019
	ALC 580	ICN 200735	BR, SC, Cerro Negro, interior do município, 07.III.2019
	ALC 702	ICN 203294	BR, SC, Painele, estrada acessada pela SC-114, 28.II.2020
	ALC 732*	ICN 203302	BR, RS, Porto Alegre, Morro da Tapera, 01.IV.2021
<i>Chromolaena gentianoides</i>	ALC 501	ICN 198158	BR, RS, Jaquirana, PE Tainhas, proximidades do Passo do S, 03.III.2018
	ALC 600	ICN 200745	BR, SC, Painele, 08.III.2019
<i>Chromolaena hirsuta</i>	ALC 494	ICN 198162	BR, RS, Jaquirana, Propriedade das Irmãs, 03.III.2018
	ALC 557	ICN 200712	BR, RS, Espumoso, Depósito, 08.II.2019
	ALC 572	ICN 200729	BR, SC, Capão Alto, próximo a BR-116, 07.III.2019
	ALC 585	ICN 200736	BR, SC, Lages, BR-116, 08.III.2019
	ALC 621	ICN 200741	BR, RS, São José dos Ausentes, RS-020, 10.III.2019
	ALC 637	ICN 201701	BR, PR, Balsa Nova, São Luiz do Purunã, 02.IV.2019
	ALC 715*	ICN 203298	BR, RS, Uruguaiana, BR-290, 01.XII.2020

	ALC 722*	ICN 203310	BR, RS, São Pedro do Sul, BR-287, 03.XII.2020
<i>Chromolaena ivifolia</i>	ALC 518^	ICN 200761	BR, RS, Uruguaiana, entre Uruguaiana e Barra do Quaraí, 24.XI.2018
<i>Chromolaena kleinii</i>	ALC 630^	ICN 201699	BR, PR, Balsa Nova, São Luiz do Purunã, 02.IV.2019
<i>Chromolaena laevigata</i>	ALC 388^*	ICN 197123	BR, RS, Parque Estadual do Tainhas, 19.III.2017
	ALC 708^	ICN 203311	BR, SC, Painei, SC-114, 28.II.2020
<i>Chromolaena latisquamulosa</i>	ALC 479	ICN 197166	BR, RS, Cambará do Sul, estrada p/ o PN dos Aparados da Serra, 05.XII.2017
	ALC 502	ICN 198164	BR, RS, Jaquirana, PE Tainhas, 04.III.2018
	ALC 537	ICN 200753	BR, RS, Cambará do Sul, estrada p/ o PN dos Aparados da Serra, 18.XII.2019
	ALC 538	ICN 200754	BR, RS, Cambará do Sul, estrada p/ o PN dos Aparados da Serra, 18.XII.2019
	ALC 609	ICN 200746	BR, SC, Bom Jardim da Serra, Serra do Rio do Rastro, 09.III.2019
	ALC 635	ICN 201702	BR, PR, Balsa Nova, São Luiz do Purunã, 02.IV.2019
	ALC 699	ICN 203309	BR, SC, Bom Jardim da Serra, Serra do Rio do Rastro, 27.II.2020
<i>Chromolaena odorata</i>	ALC 664^	ICN 201704	BR, SP, Itararé, SP-258, 04.IV.2019
<i>Chromolaena palmaris</i>	ALC 626^	ICN 201698	BR, PR, Balsa Nova, São Luiz do Purunã, 02.IV.2019
<i>Chromolaena paraguariensis</i>	ALC 689^	ICN 200535	BR, RS, Santa Maria, Morro Pedra do Lagarto, 29.IV.2019
<i>Chromolaena pedunculosa</i>	ALC 710^	ICN 203292	BR, RS, Jaquirana, 29.II.2020
<i>Chromolaena rhinanthacea</i>	ALC 480	ICN 197167	BR, RS, Cambará do Sul, Parque Nacional dos Aparados da Serra, 06.XII.2017
	ALC 480*	ICN 197167	BR, RS, Cambará do Sul, Parque Nacional dos Aparados da Serra, 06.XII.2017
	ALC 582	ICN 200738	BR, SC, Lages, BR-116, 08.III.2019
<i>Chromolaena sp. nov.</i>	ALC 577	ICN 200733	BR, SC, Capão Alto, próximo a BR-116, 07.III.2019
	ALC 546	ICN 200708	BR, RS, Arvorezinha, RS-332, 07.II.2019
	ALC 620	ICN 200752	BR, RS, São José dos Ausentes, RS-020, 10.III.2019
	ALC 674	ICN 201686	BR, PR, Jaguariaíva, 05.IV.2019
<i>Chromolaena squalida</i>	ALC 666^	ICN 201681	BR, SP, Itararé, SP-258, 04.IV.2019
<i>Chromolaena squarrosoramosa</i>	ALC 519^	ICN 200757	BR, RS, Barra do Quaraí, Parque Estadual do Espinilho, 24.XI.2018
<i>Chromolaena squarrulosa</i>	ALC 532	ICN 200755	BR, RS, Alegre, estrada para o Cerro da Ponte de Pedra, 25.XI.2018
	ALC 562	ICN 200713	BR, RS, Passa Sete, interior do município, 09.II.2019
	ALC 705	ICN 203297	BR, SC, Painei, estrada acessada pela SC-114, 28.II.2020
	ALC 721*	ICN 203295	BR, RS, São Pedro do Sul, BR-287, 03.XII.2020
" <i>Chromolaena congesta</i> x <i>C. hirsuta</i> "	ALC 495	ICN 198163	BR, RS, Jaquirana, Propriedade das Irmãs, 03.III.2018
" <i>Chromolaena congesta</i> x <i>C. latisquamulosa</i> "	ALC 634	ICN 201692	BR, PR, Balsa Nova, São Luiz do Purunã, 02.IV.2019
	ALC 540	ICN 200710	BR, RS, Jaquirana, Parque Estadual do Tainhas, 13.I.2019
" <i>Chromolaena elliptica</i> x <i>C. congesta</i> "	ALC 548	ICN 200715	BR, RS, Arvorezinha, RS-332, 07.II.2019
	ALC 677	ICN 201687	BR, PR, Jaguariaíva, 05.IV.2019
" <i>Chromolaena squarrulosa</i> x <i>C.</i> "	ALC 545	ICN 200709	BR, RS, Arvorezinha, RS-332, 07.II.2019

<i>congesta</i> "	ALC 506	ICN 198167	BR, RS, Jaquirana, PE Tainhas, proximidades do Passo do S, 04.III.2018
<i>Eupatorium caaguazuense</i> var. <i>nervosum</i>	ALC 556	ICN 200711	BR, RS, Espumoso, Depósito, 08.II.2019
	ALC 720*	ICN 203296	BR, RS, São Pedro do Sul, BR-287, 03.XII.2020
	ALC 724*	ICN 203307	BR, RS, Porto Alegre, Moro São Pedro, 01.IV.2021
<i>Praxelis sanctopaulensis</i>	ALC 627^	ICN 201724	BR, PR, Balsa Nova, São Luiz do Purunã, 02.IV.2019

### Amplificação e sequenciamento

A amplificação das sequências-alvo por meio de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) baseou-se na metodologia utilizada por Rivera *et al.* (2016). Do mesmo modo, também foram empregados os mesmos *primers* utilizados por estes autores. Para a região ETS, foram utilizados os *primers* Ast-1 (CGTAAAGGTGTGTGAGTGGTTT) e 18S-Alt (TGAGCCATTTCGAGTTTCACAGTC). Para a região ITS, foram utilizados os *primers* ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) e ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG). Para a amplificação das regiões *ndhI* e *ndhG-I*, foram utilizados os *primers* *ndhGF* (CCGACCCTAGAAAGACTAAAAG) e *ndhAexon2R* (CGTCCCAACTTCTTTCACTG). Por fim, para o marcador *ndhF*, foram utilizados os *primers* *ndhF52* (AGGTAAGATCCGGTGAATCGGAAA) e *ndhF1212* (GGTGGGAATACCACAAAGA) para amplificação da região *ndhF52-1212* e os *primers* *ndhF607* (ACCAAGTTCAATGTTAGCGAGATTAGTC) e *ndhF972* (GTCTCAATTGGGTTATATGATG) para amplificação da região *ndhF 972-1587*. Antes das reações de PCR, as amostras obtidas por meio do processo de extração foram diluídas em H<sub>2</sub>O Milli-Q® à concentração de 100 ng/μl e volume de 30 μl.

Para a realização das reações de PCR, foi produzido um mix de reação incluindo 100 μM de dNTPs, 0,5 μM de *primer F*, 0,5 μM de *primer R*, 1 x de solução *buffer* da enzima, 2,5 μM de MgCl<sub>2</sub>, 1,25 unidades de enzima GoTaq® Hot Start Polymerase, 2 ng/μl de DNA a ser amplificado e H<sub>2</sub>O Milli-Q® até completar o volume de 25 μl/tubo. As condições de PCR adotadas foram as seguintes: 95°C por 2 min. seguido de 36 ciclos de 95°C por 1 min., 50°C por 45 s., 72°C por 1 min. + 2 segundos por ciclo e uma extensão final de 72°C por 8 min. A qualidade do material amplificado foi acessada através de eletroforese em gel de agarose e quantificado através de comparação com marcador molecular de peso conhecido *low DNA mass*. As reações de PCR também foram conduzidas no Laboratório de Sistemática Molecular da UFRGS.

O sequenciamento das amostras foi realizado por sequenciamento de Sanger pela empresa ACTGene Análises Moleculares filiada à Universidade Federal do Rio Grande do

Sul. Foram utilizados os mesmos *primers* adotados para a amplificação, com exceção da região *ndhF972-1587*, que foi sequenciada com os *primers ndhF972* e *ndhF 1587* (CCAACCCTTTCTTTCTATTCCG).

Em decorrência da pandemia de COVID-19, a amplificação das amostras, que inicialmente estava prevista para ser iniciada em 2020 após a finalização das extrações, só pôde ser iniciada no segundo semestre de 2021. Em um primeiro momento, foram conduzidas apenas amplificações com a região *ndhI* e *ndhG-I* para o máximo de amostras possível. Porém, devido ao pouco tempo disponível para a finalização das reações segundo o cronograma vigente à época, optou-se por conduzir testes de amplificação com amostras selecionadas para as demais regiões escolhidas, a fim de testar as condições de PCR e qualidade do material genômico extraído. A relação completa de espécimes utilizados nas amplificações de cada região encontra-se na Tabela 2. Das amostras com amplificações positivas, foram selecionadas 32 para encaminhamento ao sequenciamento, conforme indicado também na Tabela 2.

**Tabela 2.** Relação de amostras utilizadas nas reações de amplificação. Amplificações bem-sucedidas são indicadas por um sinal de positivo (+). Espécimes indicados por NA não foram submetidos à amplificação para a região especificada. Espécimes marcados com asterisco (\*) foram enviados para sequenciamento.

Espécime	Espécie/morfotipo	ndhI e ndhG-I	ndhF52-1212	ndhF972-1587	ETS	ITS
ALC 480	<i>C. rhinanthacea</i>	+*	+*	+*	+*	-
ALC 483	<i>C. congesta</i>	+*	+*	+*	+*	-
ALC 494	<i>C. hirsuta</i>	+*	+*	+*	+*	-
ALC 495	<i>C. congesta x C. hirsuta</i>	+*	+*	+*	+*	-
ALC 496	<i>C. congesta</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA
ALC 501	<i>C. gentianoides</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA
ALC 502	<i>C. latisquamulosa</i>	+*	+*	+*	+*	-
ALC 505	<i>C. elliptica</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA
ALC 532	<i>C. squarrulosa</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA
ALC 536	<i>C. congesta</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA
ALC 550	<i>C. elliptica</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA
ALC 562	<i>C. squarrulosa</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA
ALC 576	<i>C. elliptica</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA
ALC 586	<i>C. congesta</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA
ALC 600	<i>C. gentianoides</i>	+*	+*	+*	+*	-
ALC 622	<i>C. congesta</i>	+*	+*	+*	+*	-
ALC 626	<i>C. palmaris</i>	+	+	+	+	-
ALC 627	<i>P. sanctopaulensis</i>	+	NA	NA	NA	NA
ALC 634	<i>C. congesta x C.</i>	Negativo	NA	NA	NA	NA

	<i>latisquamulosa</i>					
ALC 635	<i>C. latisquamulosa</i>	+	NA	NA	NA	NA
ALC 637	<i>C. hirsuta</i>	+*	+*	+*	+*	-

### Alinhamento e edição das sequências

As sequências obtidas foram inicialmente editadas no *software* CodonCode Aligner 6.0.2 (CodonCode Corp., Dedham, MA, USA) e posteriormente alinhadas com a ferramenta MUSCLE do *software* MEGA 11 (Tamura *et al.* 2021). Devido a problemas com o *assemble* das sequências *forward* e reversa da segunda metade da região *ndhF* (*ndhF*972-1587), apenas a primeira metade desta região (*ndhF*52-1212) pôde ser incluída nas análises finais. Para complementação do banco de dados, foram feitas buscas de sequências de outras espécies de *Chromolaena* e da subtribo Praxelinae na plataforma GenBank através da ferramenta BLAST, também do *software* MEGA 11. Como *outgroups*, foram selecionados os gêneros *Guayania* R.M.King & H.Rob., *Hebeclinium* DC. e *Kaunia* R.M.King & H.Rob., todos pertencentes à tribo Eupatorieae e indicados por Rivera *et al.* (2016) como *outgroups* de Praxelinae. As quatro regiões sequenciadas - ETS, *ndhI*, *ndhI-ndhG* e *ndhF* - foram concatenadas em uma matriz completa e, com exceção da região ETS, as demais sequências foram também concatenadas em uma matriz plastidial.

### Análises filogenéticas

Foram conduzidas análises de Máxima Parcimônia (MP), Máxima Verossimilhança (MV) e Inferência Bayesiana (BI) para cada uma das regiões sequenciadas independentemente, para a matriz concatenada plastidial e para a matriz completa.

Análises de MP foram realizadas no *software* PAUP\* 4.0a169 (Swofford 2003). Foi utilizado o método de busca heurística (*heuristic search*) com 1.000 replicatas aleatórias (*random addition replicates*) e com *tree bisection reconnection* (TBR) *branch swapping* e a opção *multrees* marcada. *Gaps* foram tratados como dados faltantes e todos os caracteres avaliados foram tratados como não-ordenados (*unordered*) e com o mesmo peso atribuído (*equally weighted*). A partir das árvores mais parcimoniosas obtidas, foi calculada uma árvore de consenso estrito para cada marcador e para as matrizes concatenadas, com valores de suporte estatístico calculados a partir de análise de *bootstrap* com 1.000 iterações e as mesmas opções de busca heurística, com exceção da opção *multrees*.

As análises de MV foram conduzidas com a ferramenta RAxML 8.2.12. (Stamatakis 2014), utilizando o modelo GTRGAMMA. Para estas análises, as matrizes concatenadas

foram particionadas, com cada marcador sendo considerado uma partição. A validade dos modelos produzidos foi avaliada por análises de *bootstrap* com 1.000 iterações. As análises de IB foram conduzidas com a ferramenta MrBayes 3.2.7a (Ronquist *et al.* 2012), também utilizando o modelo GTRGAMMA para todos os marcadores. Foram conduzidas duas corridas de MCMC, cada uma com quatro cadeias de Markov iniciadas com uma árvore aleatória. Foram analisadas 10 milhões de gerações e árvores foram amostradas a cada 10.000 gerações. As primeiras 1.000 árvores amostradas (10%) foram descartadas como *burn-in*. Todas as análises de MV e IB foram conduzidas na plataforma CIPRES (Miller *et al.* 2010).

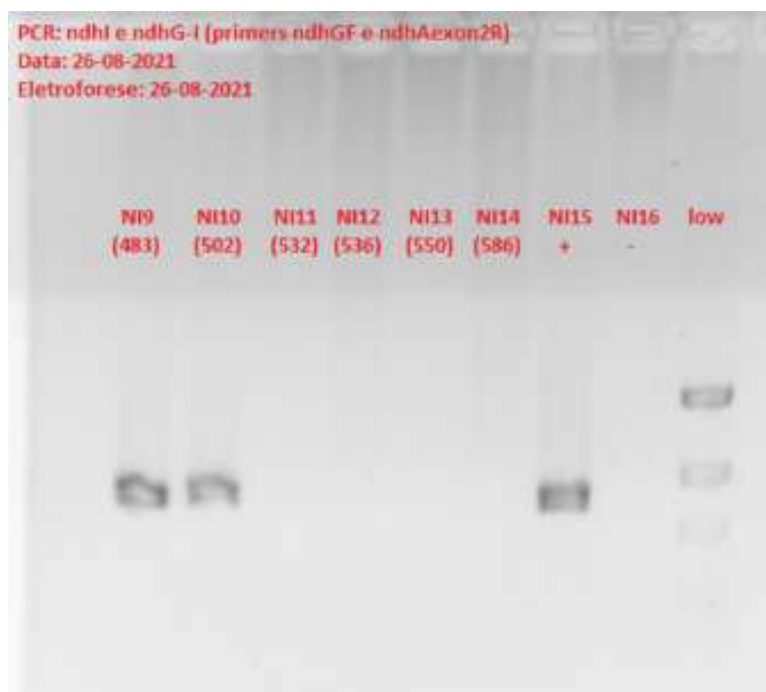
Todas as árvores produzidas foram posteriormente analisadas e editadas com o *software* TreeGraph 2 (Stöver 2010), sendo todas enraizadas com *Kaunia* como *outgroup* mais externo, de acordo com o indicado por Rivera *et al.* (2016). Os valores de *bootstrap* de MP e MV e de probabilidade posterior da IB foram tratados da seguinte forma, respectivamente:  $\leq 80\%$  e  $< 0,95$  suporte baixo; 81–90% e 0,95–0,97 suporte moderado; e 91–100% e 0,98–1 suporte alto.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Extração e amplificação de amostras

Das 55 amostras coletadas durante o andamento deste estudo, 46 foram submetidas ao processo de extração de material genômico. Destas, 21 passaram por testes de amplificação, das quais apenas 11 produziram bandas satisfatórias nas quantificações por eletroforese em gel de agarose para pelo menos uma das regiões avaliadas.

As primeiras reações de amplificação realizadas foram conduzidas com as regiões *ndhI* e *ndhI-ndhG*, para a qual todas as 21 amostras utilizadas nos PCRs foram testadas. Os resultados das amplificações para este marcador variaram de acordo com a amostra utilizada (Fig. 1), não sendo observada nenhuma relação específica entre as espécies e a amplificação deste marcador. Isto sugere que o protocolo e as condições de PCR adotados são efetivos e que resultados negativos durante a amplificação podem ter sido causados por material genômico extraído com baixa qualidade ou com grande quantidade de metabólitos secundários. Além disso, Rivera *et al.* (2016), os únicos autores a produzirem uma filogenia com amostragem significativa de *Chromolaena*, conduziram suas reações de extração de DNA com kit de extração Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA, EUA), o que pode ter contribuído para a obtenção de amostras com melhor qualidade. O uso deste kit não chegou a ser testado durante o desenvolvimento deste estudo.



**Figura 1.** Exemplo de resultado de eletroforese em gel de agarose para quantificação de DNA oriundo de amplificação das regiões *ndhI* e *ndhI-ndhG* (ca. 1.000 pb) evidenciando variação no resultado da reação de acordo com a amostra analisada. As bandas visíveis indicam amplificação positiva da região. Para quantificação do DNA amplificado, foi utilizado marcador molecular de tamanho conhecido *low DNA mass*. O controle positivo empregado consiste de uma amostra de *C. palmaris* (ALC626) amplamente utilizada nos testes de PCR e com amplificação já confirmada para este marcador. Entre as amostras presentes na imagem, uma (ALC 502 - *C. latisquamulosa*) foi posteriormente enviada para sequenciamento e utilizada nas análises filogenéticas.

Dentre os espécimes com amplificações positivas para as regiões *ndhI* e *ndhI-ndhG*, oito foram selecionados para a condução de testes de amplificação com os demais marcadores. Com exceção da região ITS, todos os demais marcadores obtiveram amplificação positiva para todas as amostras testadas, mais uma vez sugerindo a eficiência do protocolo e condições de PCR. Dificuldades na amplificação do ITS foram reportadas por Rivera (2015), com sugestão de utilização de *primers* intermediários (ITS-3 e ITS-4) durante o PCR. Esta alternativa ao protocolo inicialmente utilizado (com apenas dois *primers* para o ITS), entretanto, não pôde ser testada durante o andamento deste estudo.

### **Análises filogenéticas**

Foram geradas matrizes de dados de tamanhos diferentes para a matriz nuclear e plastidial (respectivamente 22 e 24 táxons) (Tabela 3), havendo diferenças inclusive entre as amostras coletadas especialmente para este estudo: dentre as amostras selecionadas para o sequenciamento, não foi possível obter sequências de ETS de ALC495 (“*Chromolaena hirsuta* x *C. congesta*”) devido à existência de bandas múltiplas no resultado da amplificação. No que diz respeito aos marcadores plastidiais, não foi possível sequenciar a segunda parte da

região *ndhF*, conforme explicitado acima, e observou-se pouca variação entre as amostras sequenciadas para estes marcadores, mesmo na região não-codificante *ndhI-ndhG*. Informações completas sobre o comprimento das sequências e quantidade de táxons incluídos em cada matriz de dados utilizada nas análises filogenéticas estão indicadas na Tabela 3.

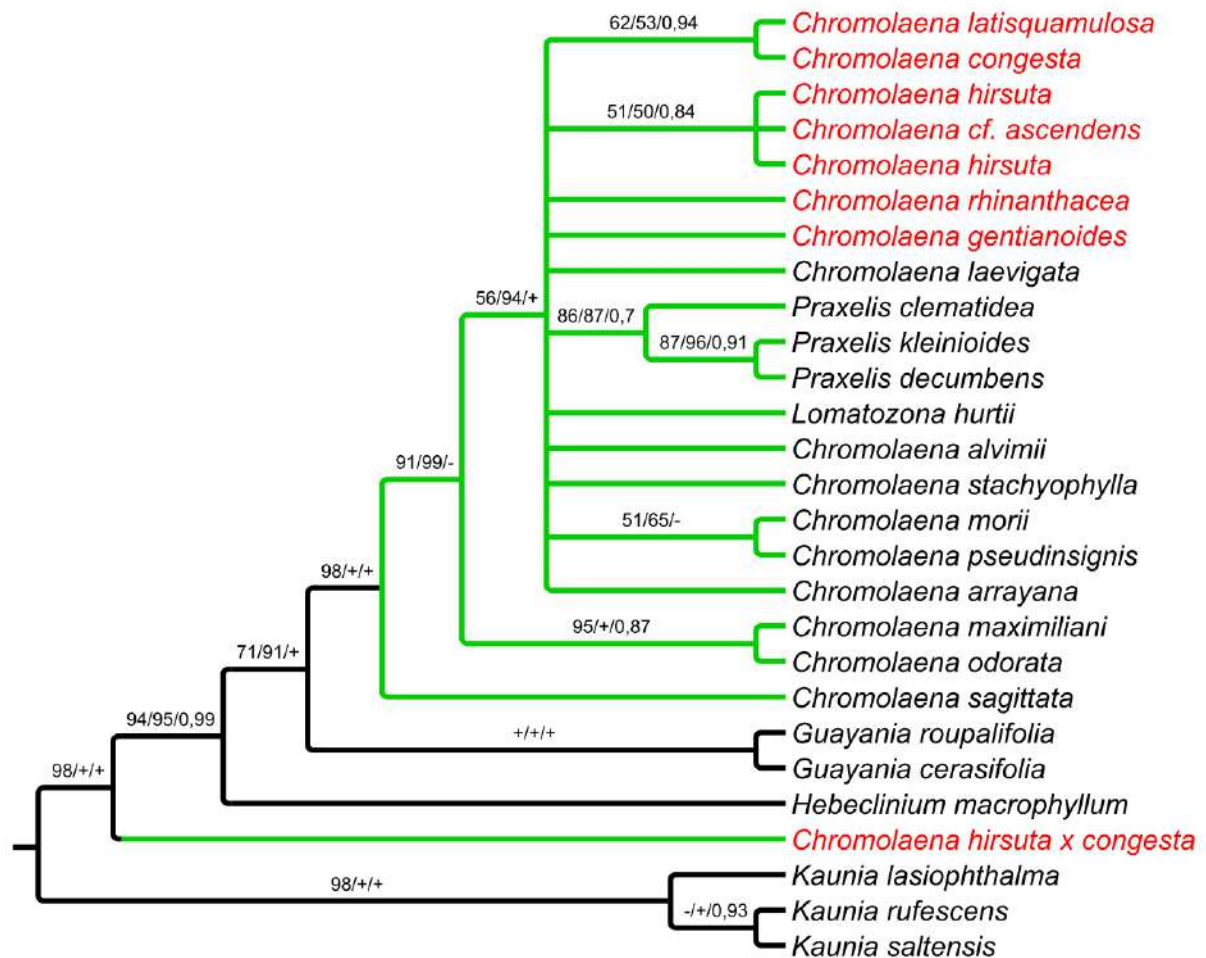
**Tabela 3.** Regiões sequenciadas para as análises filogenéticas e seus respectivos número de táxons, número total de caracteres e número de caracteres variáveis. Os números entre parênteses nas últimas duas colunas à direita referem-se à porcentagem de caracteres variáveis/informativos em relação ao comprimento total da sequência.

Região	Número de táxons	Comprimento da sequência	Número de caracteres variáveis	Número de caracteres parcimoniosamente informativos
ETS	22	513	154 (30%)	115 (22,4%)
<i>ndhI</i>	22	501	16 (3,2%)	7 (1,4%)
Espaçador <i>ndhI-ndhG</i>	20	393	31 (7,9%)	15 (3,8%)
<i>ndhF</i>	23	2232	105 (4,7%)	51 (2,3%)
Concatenada plastidial	24	3126	152 (4,9%)	73 (2,3%)
Completa	27	3639	306 (8,4%)	188 (5,2%)

Essa baixa variação também foi observada nas matrizes de dados completas (já contemplando as sequências do GenBank) (Tabela 3). De modo geral, a região nuclear mostrou-se muito mais informativa do que a plastidial para os táxons selecionados, apesar de incluir apenas um marcador (ETS). Quanto ao número de caracteres parcimoniosamente informativos, observou-se uma quantidade ainda menor de caracteres, especialmente para as regiões plastidiais.

No que diz respeito às análises conduzidas, as árvores produzidas pelas análises de MV e IB obtiveram, no geral, resoluções melhores do que as árvores obtidas pela MP, o que pode ser explicado principalmente pela baixa quantidade de caracteres informativos mencionados acima. Entre elas, as análises de MV em geral obtiveram topologias melhor resolvidas nos ramos terminais. Não foram observadas incongruências significativas entre as árvores produzidas pelas diferentes análises, com exceção de poucos agrupamentos divergentes entre a IB e as análises de MV e MP, os quais serão discutidos adiante. A seguir, são apresentadas as árvores com melhor *score* da análise de MV para a matriz de evidência completa (Fig. 2), nuclear (Fig.3A) e plastidial (Fig. 3B).

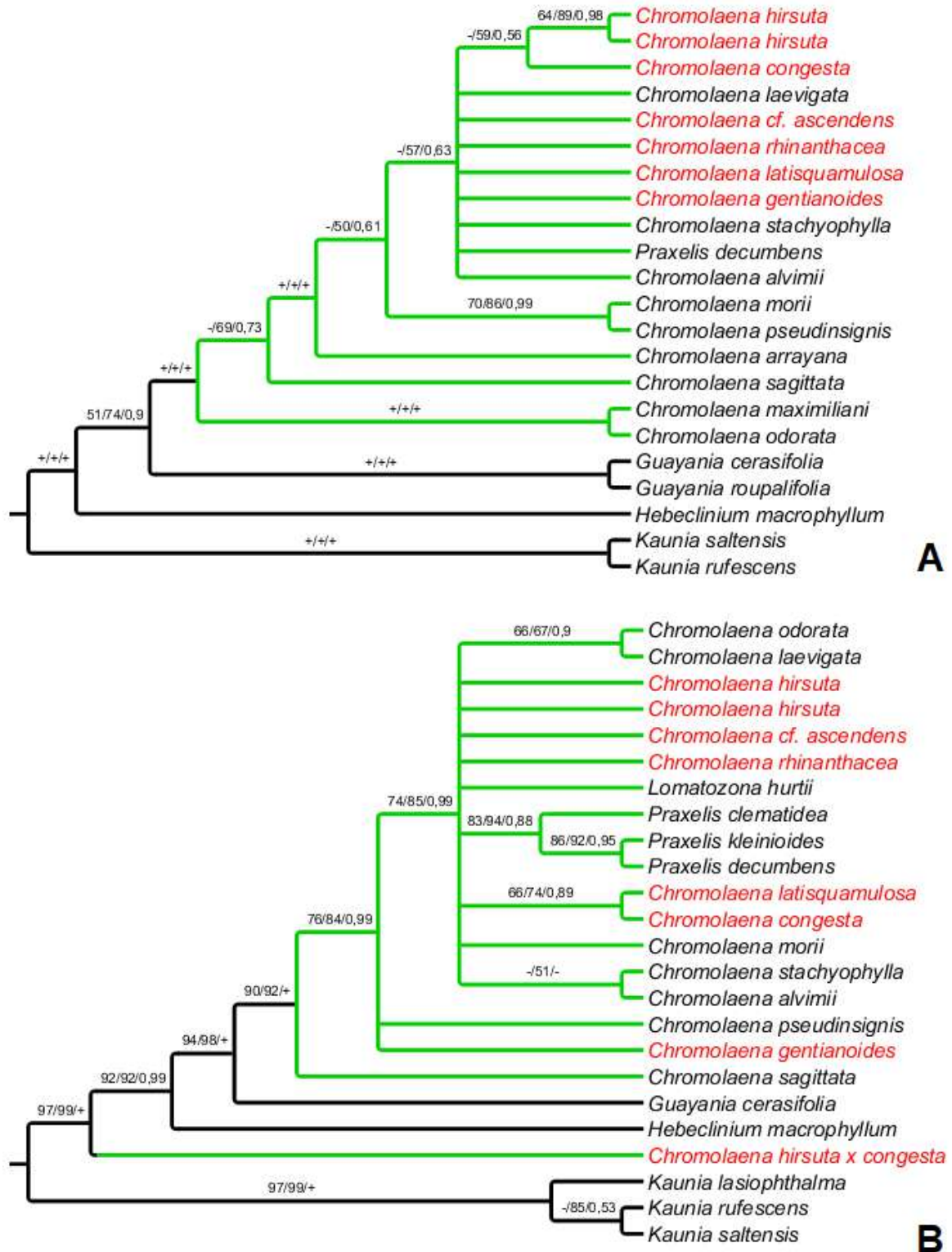




**Figura 2.** Árvore com melhor *score* de MV para a matriz de evidência completa. Os ramos em verde indicam táxons pertencentes à Praxelinae, enquanto os nomes em vermelho indicam espécimes do complexo *C. congesta* coletados durante o andamento deste estudo. Valores de suporte são indicados sobre cada ramo da seguinte forma: *bootstrap* da MP/*bootstrap* da MV/probabilidade posterior da IB. Suporte total é indicado por um sinal de positivo (+), enquanto um sinal negativo (-) denota inexistência de suporte na análise correspondente. Ramos com suporte inferior a 50% na ML foram colapsados.

As análises com a matriz de evidência completa (Fig. 2) e com a matriz plastidial (Fig. 3B) recuperam *Guayania* como grupo-irmão de Praxelinae com alto suporte, enquanto as análises com ETS (Fig. 3A) também indicam essa relação, porém com suporte baixo. As análises com ETS recuperam Praxelinae como um grupo monofilético com suporte total, enquanto as análises com a matriz de evidência completa e a matriz plastidial também indicam que a maioria dos táxons de Praxelinae constituem um grupo monofilético com suporte elevado, com exceção do espécime ALC495 (“*C. hirsuta x C. congesta*”). Todas as análises conduzidas com marcadores plastidiais recuperam este espécime como irmão de um

clado composto por *Hebeclinium*, *Guayania* e os demais táxons pertencentes a Praxelinae, sempre com suporte alto ou completo.



**Figura 3.** Árvore com melhor *score* de MV para ETS (A) e para a matriz plastidial (B). Os ramos em verde indicam táxons pertencentes à Praxelinae, enquanto os nomes em vermelho indicam espécimes do complexo *C. congesta* coletados durante o andamento deste estudo. Valores de suporte são indicados sobre cada ramo da seguinte forma: *bootstrap* da MP/*bootstrap* da MV/probabilidade posterior da IB. Suporte total é indicado por um sinal de positivo (+), enquanto um sinal negativo (-) denota inexistência de suporte na análise correspondente. Ramos com suporte inferior a 50% na ML foram colapsados.

O posicionamento externo de *C. hirsuta* x *C. congesta* em relação ao restante de Praxelinae pode ser resultado da ausência de uma sequência de ETS para este táxon, resultando em dados genômicos exclusivamente uniparentais para este espécime. Entretanto, buscas realizadas com a ferramenta BLAST do *software* MEGA 11 indicam que as sequências plastidiais utilizadas de *C. hirsuta* x *C. congesta* aproximam-se mais de sequências disponíveis para espécies de *Mikania* Willd. (Eupatorieae) e *Kaunia* do que de espécies de *Chromolaena*. A espécie deste gênero com as sequências plastidiais mais semelhantes a este espécime é *C. haenkeana* (DC.) R.M.King & H.Rob., uma espécie nativa do México e não inserida em nossas matrizes de dados. Além disso, análises visuais do alinhamento produzido no MEGA confirmam mais semelhanças das sequências de *ndhF* e *ndhI* de *C. hirsuta* x *C. congesta* com as das espécies de *Kaunia* utilizadas do que com as demais sequências de Praxelinae, sugerindo que este resultado não tenha sido produzido por ruídos ou erros de análise. No entanto, este espécime foi coletado no município de Jaquirana, RS, Brasil, em meio a populações de *C. hirsuta* e *C. congesta*, e sua morfologia intermediária entre estes dois táxons sugeriu seu tratamento como híbrido putativo durante a coleta e amostragem de suas sequências. Foram também coletados espécimes com morfologias típicas de *C. hirsuta* e *C. congesta* nesta mesma localidade a fim de compará-las com a do híbrido putativo, sendo que uma das amostras de *C. hirsuta* inseridas em nossa matriz de dados é originária desta localidade (ALC494). Neste sentido, o fato de *C. hirsuta* x *C. congesta* não ter agrupado próximo a este espécime e fora do clado contendo o restante de Praxelinae chama a atenção e não pode ser explicado completamente pelos dados disponíveis, devendo ser investigado futuramente com novas análises, preferivelmente que incluam sequências nucleares deste espécime.

No que diz respeito aos demais espécimes de Praxelinae, nossos resultados estão de acordo com os encontrados por Rivera *et al.* (2016) quanto à inserção de espécimes de *Praxelis* e *Lomatozona* Baker entre os espécimes de *Chromolaena*, sugerindo o não-monofiletismo deste gênero. As relações filogenéticas entre *Chromolaena* e os demais gêneros de Praxelinae estão atualmente sendo investigados por outro grupo de pesquisadores com os mesmos marcadores utilizados por Rivera *et al.* (2016) (comunicação pessoal), de modo que se espera que estudos futuros respondam melhor aos questionamentos quanto ao monofiletismo destes táxons e as decisões taxonômicas a serem tomadas. Quanto às relações internas em Praxelinae, a maioria das análises conduzidas não permitiu a reconstrução inequívoca de relações entre a maioria dos táxons, resultando em politomias com a maioria

das amostras utilizadas. As análises conduzidas com a matriz plastidial (Fig. 3B) recuperam *C. sagittata* (A.Gray) R.M.King & H.Rob. como irmã do restante da subtribo, enquanto as análises com ETS (Fig. 3A) recuperam um clado composto por *C. odorata* (L.) R.M.King & H.Rob. e *C. maximiliani* (Schard. ex DC.) R.M.King & H.Rob. como grupo-irmão do restante da subtribo. A árvore de evidência completa (Fig. 2) indica que *C. sagittata* seria o grupo-irmão do restante da subtribo, seguida do clado composto por *C. odorata* e *C. maximiliani* (esta última relação não-suportada pelas análises de IB), um resultado semelhante ao observado por Rivera *et al.* (2016). Por fim, de modo geral, as demais espécies de Praxelinae aparecem como politomias ou como clados com suporte baixo.

Em relação ao complexo *C. congesta*, as análises conduzidas não permitiram a testagem do seu monofiletismo devido à baixa resolução dos ramos terminais. Este resultado possivelmente seja reflexo da ausência do ITS ou da escolha de marcadores inadequados, uma vez que foi averiguada pouca variabilidade nas regiões plastidiais selecionadas, apesar de serem as mesmas utilizadas por Rivera *et al.* (2016). Relações específicas entre as espécies também não puderam ser investigadas a fundo, principalmente devido à baixa amostragem disponível para o estudo, a qual não contempla todas as espécies do complexo, e pelo suporte baixo encontrado nos clados recuperados que consistem de espécies do complexo. Entre estes clados, o único a obter suporte moderado foi um clado composto por dois espécimes de *C. hirsuta* na análise de ETS, que obteve PP = 0,98 na IB. Além deste clado, também foram indicadas relações de proximidade entre *C. congesta* e *C. latisquamulosa* nas análises de evidência completa e com a matriz plastidial e entre *C. hirsuta* e *C. cf. ascendens* nas análises com evidência completa, porém sempre com suporte baixo. Por fim, as análises de MV e IB de ETS também apontam *C. congesta* como espécie-irmã de *C. hirsuta*, porém, mais uma vez, com baixo suporte.

Quanto à congruência das análises filogenéticas com as demais linhas de evidência investigadas, chama a atenção a possível proximidade de *C. congesta* e *C. hirsuta* recuperada pela matriz nuclear e entre *C. hirsuta* e *C. cf. ascendens* pela matriz completa. A semelhança morfológica entre *C. congesta* e *C. hirsuta* já foi amplamente reportada e, conforme discutido em nosso estudo morfológico (Christ *et al.* 2022 in press), já ocasionou numerosos problemas de identificação entre essas espécies e sugestões de hibridação natural entre elas. O espécime *C. cf. ascendens* (ALC 622), apesar do nome utilizado nesta análise, aproxima-se morfológicamente mais de *C. congesta* de acordo com nossos estudos morfométricos (Christ *et al.* 2022 in press), além de ter sido coletado no estado de SC, onde *C. ascendens* não é encontrada. Deste modo, a interpretação de *C. cf. ascendens* como um espécime

morfologicamente atípico de *C. congesta* resulta na indicação também pela matriz de evidência completa de uma possível proximidade evolutiva entre esta espécie e *C. hirsuta*. Entretanto, devido ao baixo suporte existente para estes ramos, é preciso que mais análises sejam conduzidas para que essa relação entre *C. hirsuta* e *C. congesta* seja definitivamente recuperada e discutida, também por causa da possível proximidade entre *C. congesta* e *C. latisquamulosa* indicada pelas análises com a matriz completa e a matriz plastidial.

## CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS FUTURAS

As análises filogenéticas aqui apresentadas consistem nas primeiras a incluírem amostras de táxons do complexo *C. congesta*. Apesar disso, não foi possível investigar a fundo o monofiletismo do complexo, das suas espécies e nem o seu posicionamento em *Chromolaena*, principalmente devido ao baixo número de amostras que puderam ser amplificadas e sequenciadas.

Os resultados dos testes de amplificação conduzidos sugerem a necessidade de novas extrações de material genômico com outras condições de extração, visando propiciar amostras com melhor qualidade para que possam ser amplificadas as regiões necessárias. Além disso, é necessário conduzir novos testes de amplificação com a região ITS, principalmente adotando a utilização de *primers* internos sugerida por Rivera (2015). Com isso, espera-se que estudos futuros permitam a inclusão de múltiplas amostras das demais espécies do complexo, bem como a inclusão da região ITS e o sequenciamento completo da região *ndhF*, que podem se mostrar informativos em análises futuras e auxiliar na compreensão das relações de parentesco entre as espécies deste complexo.

De qualquer modo, nosso estudo permitiu a obtenção de sequências de ETS, *ndhF* (parciais), *ndhI* e *ndhI-ndhG* para pelo menos sete espécies do complexo *C. congesta*, as quais estarão disponíveis para análises futuras, incluindo o estudo filogenético de Praxelinae e *Chromolaena* que está sendo atualmente desenvolvido por outro grupo de pesquisadores; e a testagem de condições de extração e amplificação de material genômico para este grupo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço à Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Tatiana Teixeira de Souza-Chies, do Departamento de Botânica da UFRGS, pelo auxílio com o delineamento deste estudo, com a extração de material genômico, com o sequenciamento, com as análises filogenéticas e com a preparação e finalização deste manuscrito; à Dr.<sup>a</sup> Eudes Maria Stiehl-Alves pelo auxílio com as reações de

amplificação e com as análises filogenéticas; ao colega Martin Grings pelo auxílio com as análises filogenéticas; e à CAPES e ao CNPq pelo financiamento deste estudo.

## REFERÊNCIAS

Christ, AL, Rebouças, NC. 2020. *Chromolaena* in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB16052>, acesso 20 Abril 2022.

Christ, AL, Ritter, MR. 2019. A taxonomic study of Praxelinae (Asteraceae-Eupatorieae) in Rio Grande do Sul, Brazil. *Phytotaxa* 393(2): 141-197. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.393.2.5>

Christ, A.L., Saraiva, D.D., Nakajima, J.N., Ritter, M.R. 2022. How useful is morphology for disentangling species complexes in taxonomically challenging genera? A study case in *Chromolaena* (Asteraceae, Eupatorieae). *Acta Botanica Brasilica in press*.

Doyle, J.J., Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bulletin*, 19:11-15.

Herrando-Moraia, S., Calleja, J.A., Casals, M.G. *et al.* 2019. Nuclear and plastid DNA phylogeny of tribe Cardueae (Compositae) with Hyb-Seq data: A new subtribal classification and a temporal diversification network. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 137: 313-332.

Heiden, G., Antonelli, A., Pirani, J.R. 2019. A novel phylogenetic infrageneric classification of *Baccharis* (Asteraceae: Astereae), a highly diversified American genus. *Taxon* 68(5): 1048-1081.

Jara-Muñoz, O.A., White, D.M., Rivera-Díaz, O. 2022. Morphological and molecular evidence support elevating *Erythroxyllum macrophyllum* var. *savannarum* (Erythroxyllaceae) to specific status. *Systematic Botany*, 47(2): 467-476 <https://doi.org/10.1600/036364422X16512572274990>

King, R.M. & Robinson, H. 1987. The Genera of the Eupatorieae (Asteraceae). Missouri Botanical Garden, Lawrence, 581 pp

Li, Y, Wen, J, Ren, Y, Zhang, J. 2019. From seven to three: integrative species delimitation supports major reduction in species number in *Rhodia* section *Trifida* (Crassulaceae) on the Qinghai-Tibetan Plateau. *Taxon* 68(2): 268-279

Mandel, J.R., Dikow, R.B., Siniscalchi, C., Thapa, R., Watson, L.E., Funk, V.A. 2019. A fully resolved backbone phylogeny reveals numerous dispersals and explosive diversifications throughout the history of Asteraceae. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116(28): 201903871.

Miller, M.A., Pfeiffer, W., Schwartz, T. 2010. Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 14 Nov. 2010, New Orleans, LA pp 1-8.

O'Donnel, R.P., Wilson, T.C., Andrew, R.L., Telford, I.R.H., Taseski, G.M., Zimmer, H., Bruhl, J.J. 2021. Molecular phylogenetic analysis of the *Prostanthera phyllicifolia* (Lamiaceae) assemblage resolves relationships of the 'Critically Endangered' *P. gilesii* and other putative new species. *Telopea* 24: 359-376 <https://doi.org/10.7751/telopea15561>

Panero, J.L., Freire, S.E., Ariza Espinar, L., Crozier, B.S., Barboza, G.E., Cantero, J.J. 2014. Resolution of deep nodes yields an improved backbone phylogeny and a new basal lineage to study early evolution of Asteraceae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 80: 43-53.

Pastori, T, Eggers, L, Souza-Chies, TT, Chauveau, O. 2018. Iterative taxonomy based on morphological and molecular evidence to estimate species boundaries: a case study in *Cypella* (Iridaceae: Iridoideae). *Plant Systematics and Evolution*, 304: 1117-1140. <https://doi.org/10.1007/s00606-018-1536-x>

Philips, DP, Bytebier, B. 2020. A morphometric and and molecular phylogenetic analysis of the African orchid genus *Stenoglottis* (Orchidaceae: Orchidoideae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 193(3): 340-362 <https://doi.org/10.1093/botlinnean/boaa018>

Rivera, V.L. 2015. Phylogeny and evolutionary diversification of a South American radiation: the Brazilian Eupatorieae (Asteraceae). Tese de Doutorado, University of Texas at Austin, Austin, EUA.

Rivera, V.L., Panero, J.L., Schilling, E.E., Crozier, B.S. & Moraes, M.D. 2016. Origins and recent radiation of Brazilian Eupatorieae (Asteraceae) in the eastern Cerrado and Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 97: 90–100.

Ronquist, F., Teslenko, M., vander Mark, P., Ayres, D.L., Darling, A., Höhna, S., Larget, B., Liu, L., Suchard, M.A., Huelsenbeck, J.P. 2012. MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539–542.

Schilling, E.E. & Panero, J.L., Cox, P.B. 1999 Chloroplast DNA restriction site data support a narrowed interpretation of Eupatorium (Asteraceae). *Plant Systematics and Evolution* 219: 209–223

Schmidt, G.J., Schilling, E.E. 2000. Phylogeny and biogeography of Eupatorium (Asteraceae: Eupatorieae) based on nuclear ITS data. *American Journal of Botany* 87 (5): 716–726.

Souza-Chies, T.T., Burchardt, P., Stiehl-Alves, E.M., Essi, L., Santos, E.K. 2014. O estudo da biodiversidade e evolução vegetal através de marcadores de DNA e citogenética: exemplos em Iridaceae e Poaceae. *Ciência e Natura* 36: 279-293.

Stamatakis, A.. 2014. RAxML Version 8: A tool for Phylogenetic Analysis and Post- Analysis of Large Phylogenies. *Bioinformatics* 30 (9): 1312–1313.

Stöver, B.C., Müller, K.F. 2010. *TreeGraph 2*: Combining and visualizing evidence from different phylogenetic analyses. *BMC Bioinformatics* 11:7

Swofford, D.L. 2003. PAUP\*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods). Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts.



Tamura, K., Stecher, G., and Kumar, S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 11. *Molecular Biology and Evolution* 38: 3022–3027.

Tautz D, Arctander P, Minelli A, Thomas RH, Vogler AP (2002) DNA points the way ahead in taxonomy. *Nature* 418:479. <https://doi.org/10.1038/418479a>

## **ANEXO: PRODUÇÃO BIBLIOGRÁFICA DURANTE O DOUTORADO**

Além dos artigos científicos que compõem o corpo principal desta tese, os dados provenientes dos estudos realizados durante o doutorado também contribuíram direta ou indiretamente para diversas produções bibliográficas, inclusive outros artigos científicos. Estas produções são citadas abaixo.

### **I. Artigos publicados em periódicos**

BFG - The Brazil Flora Group; CHRIST, A.L. Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network. *Taxon*, v. 71, p. 178-198, 2022.

FULBER, M.; FERNANDES, V.L.P.; CHRIST, A.L.; RITTER, M.R. Florística de Asteraceae no Parque Estadual de Itapeva, Torres, Rio Grande do Sul, Brasil. *Pesquisas, Botânica*, v. 76, p. 73-96, 2022.

BFG - The Brazil Flora Group; CHRIST, A.L. Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). *Rodriguésia*, v. 69, p. 1513-1527, 2018.

### **II. Outras produções bibliográficas**

CHRIST, A.L.; BUENO, V.R.; KILIPPER, J.T.; HEDLUND, I.E. Asteraceae Bercht. & J.Presl. In: Liliana Essi; Renato Aquino Záchia. (Orgs.). Flora de Santa Maria Revisitada: Angiospermas Nativas e Naturalizadas. 1 ed.: Editora UFSM, 2022, p. 46-163.

CHRIST, A.L.; REBOUÇAS, N.C. *Chromolaena* DC. in Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2020. Lista on-line. Disponível em: <<https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB16052>>

### **III. Apresentações orais de trabalhos em eventos científicos**

CHRIST, A.L.; FULBER, M.; RITTER, M.R. Sinopse de *Eupatorium sensu lato* (Asteraceae - Eupatorieae) no Rio Grande do Sul, Brasil. 2021. 71º Congresso Nacional de Botânica

CHRIST, A.L.; KALTCHUK-SANTOS, E.; RITTER, M.R.; NAKAJIMA, J.N. Estimativas de tamanho de genoma nuclear em espécies de *Chromolaena* (Asteraceae, Eupatorieae) por meio de citometria de fluxo. 2021. 71º Congresso Nacional de Botânica.

CHRIST, A.L. Desatando os nós taxonômicos de *Chromolaena*: um estudo de caso com taxonomia integrativa. 2020. I Simpósio Digital de Sistemática e Evolução de Plantas.

CHRIST, A.L.; RITTER, M.R.; NAKAJIMA, J.N. Morfometria tradicional como suporte à delimitação de espécies em *Chromolaena* (Asteraceae, Eupatorieae). 2019. 70º Congresso Nacional de Botânica.

## IV. Resumos publicados em anais de eventos



**71º CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA**  
XIII Encontro de Botânicos do Centro-Oeste

27/06 a 02/07 de 2021  
Município: Goiânia - Estado: Goiás - Universidade: UFPA

A Botânica e as bases sustentáveis do desenvolvimento científico, tecnológico e social

---



**Sinopse de *Eupatorium* L. *sensu lato* (Asteraceae, Eupatorieae) no Rio Grande do Sul, Brasil**

Anderson L. Christ<sup>1</sup>, Marina Fülber<sup>1</sup> & Mara R. Ritter<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
anderson.christ@ufrgs.br



Introdução	
A segregação do gênero <i>Eupatorium</i> L. em ca. 80 gêneros <sup>[1]</sup> teve reconhecimento limitado. Muitos estudos e coleções científicas permanecem utilizando o antigo conceito genérico, o que gera dificuldade na identificação das espécies.	
No Rio Grande do Sul, o estudo taxonômico mais completo abrangendo <i>Eupatorium</i> <sup>[2]</sup> ainda utilizava o seu antigo conceito, e, além disso, são observadas numerosas discordâncias quanto à ocorrência de algumas espécies entre este estudo e a lista de espécies da Flora do Brasil <sup>[3]</sup> . Neste sentido, faz-se necessária a revisão desta lista e a atualização das coleções de herbários do estado.	
Material e Métodos	
Revisão de herbários	
Expedições a campo	
Análise e identificação de material	
Resultados e Discussão	
Até o momento, foram confirmadas 57 espécies e 21 gêneros. Maiores gêneros: <i>Chromolaena</i> (17 espécies) (Fig. 1E), <i>Dianaphia</i> (6) (Fig. 1F) e <i>Gnaphalium</i> (5) (Fig. 1G). Também foram encontrados gêneros que não são citados para o RS pela Flora do Brasil <sup>[3]</sup> : <i>Fleischmannia</i> Sch.Bip. e <i>Vitelia</i> R.M.King & H. Rob.	
Além disso, a Flora do Brasil <sup>[3]</sup> indica a ocorrência de <i>Chacoa</i> R.M.King & H. Rob. e <i>Hebecium</i> DC. para o estado, ambos gêneros para os quais até o momento não foram encontrados registros de ocorrência.	
Considerações Finais	
Este estudo ainda está em andamento. É necessária a confirmação de algumas espécies e gêneros, além da finalização das chaves de identificação e da sinopse taxonômica.	
Referências Bibliográficas	
[1] King, R.M. & Robinson, H. 1987. Missouri Bot. Gard. 22. [2] Matzenbacher, N.I. 1979. Dissertação de Mestrado. UFRGS. [3] Flora do Brasil 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <a href="http://floradobrasil.jbrj.gov.br/">http://floradobrasil.jbrj.gov.br/</a> >. Acesso em 18 de maio de 2021.	

Financiamento:  

Fig. 1. Representantes de *Eupatorium* s.l. encontrados no RS: *Acanthosyris bairdii* (A), *Austrogeopogon laetevirens* (B), *Borreria betonicifolia* (C), *Campovassouria cruciata* (D), *Chromolaena callitropis* (E), *Dianaphia arcolides* (F), *Gnaphalium nummularia* (G), *Gynerium lanigera* (H), *Urologia hirsutissima* (I). Imagens: R. Rolim (A), C. Vogel Ely (B-D, F-G, I), A. Christ (E), M. Grings (H).

CHRIST, A.L.; FULBER, M.; RITTER, M.R. Sinopse de *Eupatorium sensu lato* (Asteraceae - Eupatorieae) no Rio Grande do Sul, Brasil. In: 71º Congresso Nacional de Botânica, 2021, Goiânia. Anais do 71º Congresso Nacional de Botânica, 2021. p. 539-539.



## Estimativas do tamanho de genoma nuclear em espécies de *Chromolaena* DC. (Asteraceae, Eupatorieae) por meio de citometria de fluxo



Anderson L. Christ<sup>1</sup>, Eliane Kaltchuk-Santos<sup>1</sup>, Mara R. Ritter<sup>1</sup> & Jimi N. Nakajima<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande do Sul

<sup>2</sup> Universidade Federal de Uberlândia

anderson.christ@ufrgs.br

### Introdução

Informações sobre o tamanho de genoma nuclear de uma espécie vegetal podem ser de grande importância para estudos taxonômicos e sistemáticos, sendo a citometria de fluxo uma importante ferramenta para inferir a quantidade de DNA do núcleo (valor C)<sup>[1]</sup>. Apesar disto, existem poucos dados referentes ao tamanho de genoma de espécies tropicais. Em *Chromolaena* DC., por exemplo, não há estimativas reportadas para este dado.

Esta análise é parte de um estudo de taxonomia integrativa com o complexo *Chromolaena congesta*. Este complexo abrange ca. 10 espécies típicas de formações campestres e ocorrentes no Sul-Sudeste da América do Sul.

### Material e Métodos<sup>[1]</sup>

Amostras de folhas frescas maceradas em tampão LB01

Solução filtrada e corada com iodeto de propídio (PI)

Padrão: *Secale cereale* L. (Poaceae) (valor 2C = 16,19pg)

Análise em citômetro de fluxo na UFRGS

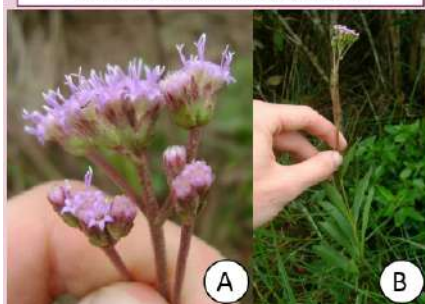


Fig. 1. Espécies do complexo *C. congesta* com tamanhos de genoma estimado neste estudo: (A) *C. latiquamulosa* (Hieron.) R.M.King & H.Rob., (B) *C. rhinanthacea* (DC.) R.M.King & H.Rob.

### Referências Bibliográficas

- [1] Dolezel *et al.* 2007. Nature Protocols 2(9): 2233-2244.  
[2] Vidie *et al.* 2009. Ecol. Applications 19: 1515-1521.

### Resultados e Discussão

Até o momento, das sete espécies do complexo já analisadas, foram obtidas leituras satisfatórias de duas espécies: *C. latiquamulosa* (Fig. 1A, 2A) (valor 2C = 4,69pg) e *C. rhinanthacea* (Fig. 1B, 2B) (valor 2C = 5,82pg). Os valores 2C obtidos foram considerados pequenos. A presença de metabólitos secundários pode estar comprometendo a obtenção de leituras claras das demais espécies.

Os valores obtidos são os primeiros estimados em *Chromolaena* e são próximos aos reportados para espécies de *Eupatorium* (valor médio 2C = 5,65pg)<sup>[2]</sup>, gênero ao qual estas espécies estiveram anteriormente subordinadas.

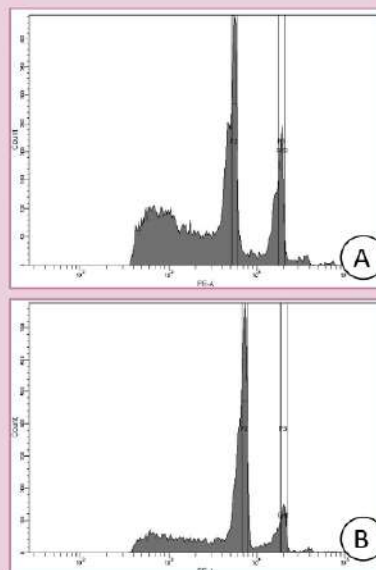


Fig. 2. Histogramas da citometria de fluxo de duas espécies de *Chromolaena*. (A) *C. latiquamulosa* 2C = 4,69pg. (B) *C. rhinanthacea* 2C = 5,82pg.

### Considerações Finais

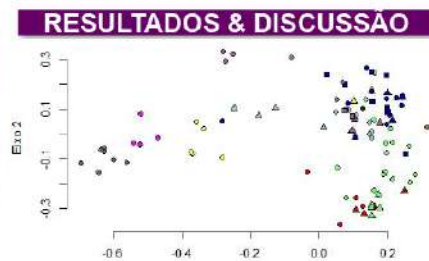
Os resultados de tamanho de genoma obtidos são inéditos para *Chromolaena*. Espera-se que, com a adaptação dos protocolos, seja possível obter leituras das demais espécies do complexo.

Financiamento:

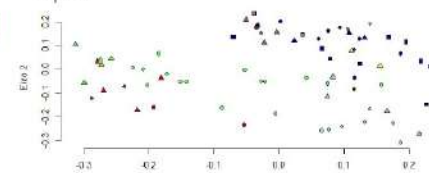
CHRIST, A.L.; KALTCHUK-SANTOS, E.; RITTER, M.R.; NAKAJIMA, J.N. Estimativas de tamanho de genoma nuclear em espécies de *Chromolaena* (Asteraceae, Eupatorieae) por meio de citometria de fluxo. 2021. In: 71º Congresso Nacional de Botânica, 2021, Goiânia. Anais do 71º Congresso Nacional de Botânica, 2021. p. 548-549.

**MORFOMETRIA TRADICIONAL COMO SUPORTE À  
 DELIMITAÇÃO DE ESPÉCIES EM *CHROMOLAENA*  
 (ASTERACEAE, EUPATORIEAE)**

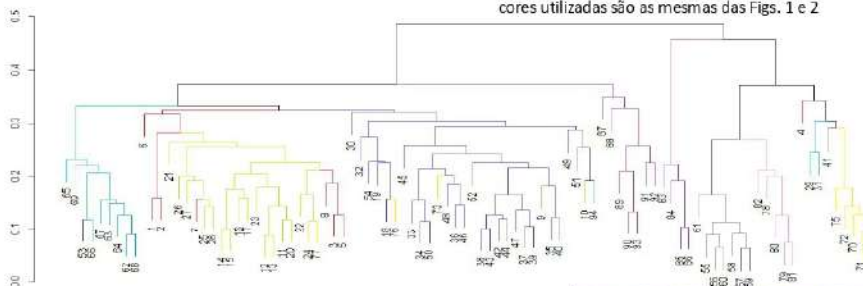
**Anderson Luiz Christ<sup>1</sup>, Mara Rejane Ritter<sup>1</sup> & Jimi Naoki Nakajima<sup>2</sup>**  
<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Brasil  
<sup>2</sup>Universidade Federal de Uberlândia (UFU), Uberlândia, Brasil  
 anderson.christ@ufrgs.br



**Figs. 1-2:** Gráficos da PCoA com 94 (1) e 72 (2) observações (cinza: *C. gentianoides*; rosa: *C. rhinanthacea*; amarelo: *C. latisquamulosa*; anil: *C. hirsuta*; azul: *C. elliptica*; vermelho: *C. ascendens*; verde-claro: *C. congesta*; laranja: *C. caaguazuensis*; verde-escuro: *C. sp. nov.*; lilás: *C. squarulososa*). As diferentes formas correspondem a diferentes morfotipos de cada espécie.



**Fig. 3:** Gráfico da CA com 94 observações. As cores utilizadas são as mesmas das Figs. 1 e 2



**CONSIDERAÇÕES FINAIS**

- Integração com outros métodos;
- Tendências morfológicas;
- Decisões taxonômicas;
- Amostragem mais completa.

**Fig. 4:** *Chromolaena congesta*, a principal espécie do complexo.



**REFERÊNCIAS**

1: Christ, A.L. & Ritter, M.R. 2019. Phytotaxa 393(2):141-197  
 2: Henderson, A. 2006. Bot. Jor. Linnean Soc. 151(151):103-111.

**Apoio:**