



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DE LONDRINA

CAMILA LUCAS CHAVES

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE
Hypochoeris catharinensis CABRERA (ASTERACEAE)
UTILIZANDO MARCADORES DE MICROSSATÉLITES**

Londrina
2013

CAMILA LUCAS CHAVES

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE
Hypochaeris catharinensis CABRERA (ASTERACEAE)
UTILIZANDO MARCADORES DE MICROSSATÉLITES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

Orientador(a): Prof. Dr. Paulo Maurício Ruas
Co-Orientador(a): Dr. Eduardo Augusto Ruas

Londrina
2013

**Catálogo elaborado pela Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central da
Universidade Estadual de Londrina.**

Dados Internacionais de Catalogação-na-Publicação (CIP)

C512e Chaves, Camila Lucas.

Estrutura genética de populações de *Hypochoeris catharinensis* Cabrera
(Asteraceae) utilizando marcadores de microssatélites / Camila Lucas Chaves.
– Londrina, 2013.
67 f. : il.

Orientador: Paulo Maurício Ruas.

Coorientador: Eduardo Augusto Ruas.

Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina,
Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Agronomia, 2013.
Inclui bibliografia.

1. Genética de populações – Teses. 2. Marcadores biológicos – Teses. 3. Plantas
– Evolução – Teses. 4. Biodiversidade – Teses. I. Ruas, Paulo Maurício. II. Ruas,
Eduardo Augusto. III. Universidade Estadual de Londrina. Centro de Ciências
Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDU 575.17

CAMILA LUCAS CHAVES

**ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Hypochoeris*
catharinensis CABRERA (ASTERACEAE) UTILIZANDO
MARCADORES DE MICROSSATÉLITES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Estadual de Londrina.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Eduardo Augusto Ruas
UEL – Londrina – PR

Prof. Dr. Alberto José Prioli
UEM – Maringá – PR

Prof. Dr. Edmilson Bianchini
UEL – Londrina – PR

Prof.Dra. Valéria Carpentieri Pipolo
UEL – Londrina – PR

Prof. Dra. Claudete de F. Ruas
UEL – Londrina – PR

Orientador. Prof. Dr. Paulo Ruas
UEL – Londrina - PR

Londrina, 27 de fevereiro de 2013.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para a realização dessa dissertação. Agradeço a Deus minha fortaleza nos momentos mais difíceis. Agradeço a minha família por todo apoio e amor, aos meus pais Zélia Ap. Lucas Chaves e Valdir Nascimento Chaves, aos meus irmãos Thiago Lucas Chaves e Zenaide Lucas Chaves.

Agradeço ao meu orientador Paulo M. Ruas não só pela constante orientação neste trabalho, mas sobretudo pela sua amizade, a sua esposa Claudete de F. Ruas que também acompanhou o andamento deste trabalho e ao co-orientador Eduardo A. Ruas.

Aos colegas e grandes amigos de laboratório e de turma, Kátia, Luana, Sara, Gabi, Camila, Marcos, Ana Paula e Jéssica, aos quais compartilhei as alegrias, sofrimentos e dificuldades do dia-a-dia, em especial a Luana A. Rodrigues pela amizade e ajuda em várias ocasiões.

Gostaria de agradecer também ao Programa de Pós Graduação de Agronomia, aos professores que contribuíram para minha formação e funcionários em geral.

À Capes pela concessão de bolsa e financiamento do projeto.

CHAVES, Camila Lucas. **Estrutura genética de *Hypochoeris catharinensis* Cabrera (Asteraceae) utilizando marcadores de microssatélites.** 2013, 67f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

RESUMO

O gênero *Hypochoeris* L. (Asteraceae) é considerado um modelo evolutivo, no qual teriam ocorrido eventos de especiação decorrentes principalmente da diversificação dos sistemas reprodutivos. Demonstrou-se em estudo recente, que as espécies sul-americanas de *Hypochoeris* são irmãs de uma ancestral de *H. angustifolia* (Litard. e Maire) Maire. Ocorre naturalmente no Marrocos, Norte da África. Na América do Sul o grupo *Hypochoeris*, possivelmente foi introduzido por dispersões a longas distâncias com subsequente radiação e diversificação. Os marcadores microssatélites podem ser utilizados como uma ferramenta, na genética de populações, para o entendimento dos processos evolutivos que levaram ao padrão de estruturação genética das populações de *H. catharinensis*. Para tal propósito, desenvolveram-se nove pares de *primers* de microssatélites, empregando-os no estudo de 13 populações da espécie. A amplificação por PCR detectou 80 alelos diferentes nas 13 populações com um total de 441 indivíduos, com média de 12 (Hcat24b) a 35 (Hcat24a) alelos por *locus* e 4,78 (Cambará/RS) a 9,56 (Painel/SC) alelos por população. A média de heterozigosidade observada e esperada foi de 0,337 a 0,484 respectivamente, a heterozigosidade observada variou de 0,275 (São Francisco de Paula-Cambará/RS) a 0,472 (São José dos Ausentes-Sera da Rocinha/RS) e a heterozigosidade esperada variou de 0,371 (Coxilha Rica II/SC) a 0,562 (Painel/SC). Os valores de endogamia foram significativos para oito populações. A análise de variância aponta para uma taxa moderada de diferenciação genética entre populações ($F_{st}=0,13436$) e uma variação dentro das populações de 86,56%. A estimativa de gargalo genético foi significativa para todas as populações no modelo *Stepwise mutation*. Verificou-se migração para todas as populações, Rancho Queimado/SC contribuiu com 84,6% de migrantes em 11 populações, Cambará/RS contribuiu com 69,23% de migrantes para nove populações e Caçador-153/SC contribuiu com 23,1% de migrantes para três populações. Os valores de F_{st} par a par entre as populações variou de 0,0324 a 0,3645, o teste de correlação de Pearson não foi significativo ($r = -0,6205$; $P = 0,1887$) para distância genética e geográfica. O número de possíveis agrupamentos populacionais foi $k=3$. Os resultados mostram redução do tamanho populacional e sugerem a ocorrência de efeito fundador. Subdivisões populacionais podem ter ocorrido por expansão das florestas sobre os campos, e a redução do fluxo gênico teria aumentando a diferenciação entre populações. É provável que a primeira população tenha surgido na região de Rancho Queimado, Santa Catarina.

Palavras-chave: Diversidade genética. Marcadores codominantes. Modelo evolutivo. SSR.

CHAVES, Camila Lucas. **Genetic estrutura of *Hypochaeris catharinensis* Cabrera (Asteraceae) using markers of microsatellites**. 2013, 67p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2013.

ABSTRACT

The genus *Hypochaeris* L. (Asteraceae) is considered an evolutionary model, in which would have occurred speciation events mainly due to the diversification of reproductive systems. It was demonstrated in a recent study that the South American species of *Hypochaeris* are sisters an ancestor of *H. angustifolia* (Litard. and Maire) Maire, that naturally occur in Morocco, North African. The South American group of *Hypochaeris* was, possibly introduced by dispersion over long distances with subsequent radiation and diversification of the genus. Microsatellite markers can be used as a tool, in population genetics, to understand the evolutionary processes that led to the patterns of genetic structure of population of *Hypochaeris catharinensis*. For such purpose, nine microsatellite primers were developed and employed in the study of thirteen natural occurring populations of this species. PCR amplification detected 80 different alleles in 13 populations with a total of 441 individuals with a mean of 12 (Hcat24b) to 35 (Hcat24a) alleles per locus and 4,78 (Cambará/RS) to 9,56 (Painel/SC) alleles per population. The average observed and expected heterozygosity was 0,337 to 0,484 respectively. The observed heterozygosity ranged from 0,275 (São Francisco de Paula-Cambará/RS) to 0,472 (São José dos Ausentes-Serra da Rocinha/RS) and expected heterozygosity ranged from 0,371 (Coxilha Rica II/SC) to 0,562 (Painel/SC). Inbreeding values were significant for eight populations. The analysis of variance indicates a moderate rate of genetic differentiation between populations ($F_{st} = 0,13436$) and the variation within populations was 86,56%. The estimated Bottleneck were significant for all population on stepwise mutation model. There was migration to all populations, Rancho Queimado/SC with 84,6% contribution of migrants in 11 populations, Cambará/RS contributed 69,23% of migrants to Caçador-153/SC nine populations and contributed to 23,1% of migrant on three populations. Values of pairwise F_{st} between populations ranged from 0,0324 to 0,3645 and the Pearson correlation test was not significant ($r = -0,6205$; $P = 0,1887$) for genetic and geographic distance. The K number of grouping populations $k = 3$. These results show a reduction in population size and suggest the occurrence of founder effect. Population subdivisions may have occurred by expansion of forests over the fields, and reduced gene flow would increase the differentiation between populations. It is likely that the first population has appeared in the region of Rancho Queimado, Santa Catarina.

Keywords: Genetic diversity. Codominant markers. Evolutionary model. SSR.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Locais de coleta das amostras de <i>Hypochaeris catharinensis</i> na região sul-brasileira e número (n) de indivíduos.....	32
Tabela 2 – Sequências de pares de <i>primers</i> desenvolvidos para <i>H. catharinensis</i> com as respectivas temperaturas de anelamento (T_M) e tamanho de pares de bases (pb)	35
Tabela 3 – Estimativas de parâmetros genéticos de diversidade em nove loci de microssatélites para 13 populações de <i>Hypochaeris catharinensis</i> , sendo N: número de indivíduos por população; A: número médio de alelos por população; H_o : média de heterozigosidade observada; H_e : média de heterozigosidade esperada sob equilíbrio de Hardy-Weinberg; Fis: coeficiente de endogamia (*Fis no intervalo de confiança de 95%); PHW: p-valor para desvio de equilíbrio de Hardy-Weinberg com 95% de confiança; R: riqueza de alelos por população	38
Tabela 4 – Teste de Wilcoxon para desequilíbrio de mutação-deriva, excesso/deficiência de heterozigosidade, utilizando Bottleneck (LUIKART et al., 1998), para nove locos microssatélites em 13 populações de <i>Hypochaeris catharinensis</i> ($P \leq 0,05$).....	40
Tabela 5 – Análise de variância molecular (AMOVA) em 13 populações de <i>Hypochaeris catharinensis</i> utilizando nove loci microssatélites.....	43
Tabela 6 – Médias e intervalo de confiança a 95% (IC) das distribuições de proporção de indivíduos não-migrantes e migrantes para 13 populações de <i>Hypochaeris catharinensis</i> , com base no método de atribuição bayesiana de Wilson e Rannala (2003) em BAYESASS	45
Tabela 7 – Distância geográfica em km das populações estudadas, acima da diagonal, e valores de F_{st} par a par das populações de <i>Hypochaeris catharinensis</i> abaixo da diagonal. Valores significativos $P=0,01$ dada por 1023 permutações	48

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** – Mapa mostrando a Serra Geral das regiões do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul25
- Figura 2** – Mapa das áreas de coleta (cada número corresponde a uma amostragem caracterizada pelas siglas ao lado, para maiores detalhes consulte Tabela 2) nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, Brasil33
- Figura 3** – A- Diversidade de alelos por locus e B- Diversidade de alelos por populações de *Hypochaeris catharinensis*41
- Figura 4** – Agrupamentos (k=3) formados por análise de estrutura populacional em treze populações analisadas de *Hypochaeris catharinensis*46

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	12
2.1 EVOLUÇÃO E FILOGENIA DE ASTERACEAE E DO GÊNERO <i>HYPOCHAERIS</i>	12
2.1.1 Estrutura Genética de Populações	17
2.1.1.1 Marcadores moleculares	20
2.1.1.1.1 <i>Formação e caracterização da Serra Geral</i>	24
3 ARTIGO – ESTRUTURA GENÉTICA DE <i>Hypochaeris catharinensis</i> CABRERA (ASTERACEAE) UTILIZANDO MARCADORES DE MICROSSATÉLITES	29
3.1 RESUMO E ABSTRACT	29
3.2 INTRODUÇÃO	30
3.3 MATERIAL E MÉTODOS	32
3.3.1 Amostragem	32
3.3.1.1 Extração de DNA e PCR	33
3.3.1.1.1 <i>Análise dos dados</i>	35
3.4 RESULTADOS E DISCUSSÕES	36
3.5 CONCLUSÕES	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS	54

1 INTRODUÇÃO

O gênero *Hypochaeris* L. é considerado um modelo para estudos evolutivos. Está distribuído na região Mediterrânea, Ilhas Canárias, Europa e Ásia com cerca de 15 espécies, e na América do Sul onde ocorrem mais de 50 espécies (TREMETSBERGER et al., 2005).

O centro de origem mais provável do gênero é no Mediterrâneo e na América do Sul, o centro de diversificação (STEBBINS, 1971). O surgimento de *Hypochaeris* ocorreu a aproximadamente 3,5 a 0,25 milhões de anos, durante o Plioceno ou Pleistoceno com rápida evolução entre 0,25 a 1 milhão de anos no Pleistoceno (SAMUEL et al., 2003; TREMETSBERGER et al., 2005).

Na América do Sul o provável surgimento do gênero teria ocorrido por mecanismos de dispersão a longas distâncias (CERBAH et al., 1998; TREMETSBERGER et al., 2005, 2006; WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2008). Dados citogenéticos e moleculares mostram uniformidade cariotípica e pouca variação nas sequências de DNA dentro do taxa na América do Sul, sugerindo um tempo de divergência curto com rápida diversificação geográfica, ecológica e morfológica (CERBAH et al., 1998; TREMETSBERGER et al., 2005, 2006; WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2008).

As espécies de *Hypochaeris* da América do Sul se distinguem das Europeias por serem diplóides ($2n = 8$), com ocorrência também de tetraplóides (WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2003, 2008), e por apresentarem cariótipos assimétricos do tipo bimodal (SILJAK-YAKOVLEV et al., 1994; RUAS et al., 1995, 2005; WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2003, 2007). As espécies do Mediterrâneo apresentam número básico de cromossomos, $x = 3, 4, 5$ e 6 e cariótipos simétricos, característicos deste grupo (STEBBINS, 1971; ARISTA; TALAVERA; ORTIZ, 1995; WEISS et al., 2003). Em geral a morfologia uniforme dos cromossomos não é acompanhada pela uniformidade de número cromossômico e posição de constrições secundárias (WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2003).

Após a dispersão de *Hypochaeris* na América do Sul, o gênero conseguiu colonizar grande variedade de habitats, exceto áreas extremamente áridas como costas de desertos e as florestas tropicais (CABRERA; WILLINK, 1980). No Brasil são encontradas entre oito a dez espécies com maior distribuição nas

regiões Sul do país, diminuindo em direção ao Norte (CERBAH; COULAUD; SILJAK-YAKOVLEV 1998).

Substâncias e mecanismos de adaptação encontrados em *Hypochoeris* evidenciam a plasticidade adaptativa do gênero e seu potencial evolutivo, principalmente devido a sua diversificação reprodutiva, apresentando autoincompatibilidade que favorece a alogamia (NETTANCOURT, 1977; LANE, 1996). Algumas substâncias de reserva, principalmente os frutanos, nos órgãos subterrâneos e simbioses micorrízicas garantem maior adaptação ao solo pobre e raso (FIGUEIREDO-RIBEIRO et al., 1986, NEWMAN; REDDELL, 1987; TERTULIANO; FIGUEIREDO-RIBEIRO, 1993; SMITH; READ, 1997).

Metabólitos secundários como flavonóides e óleos voláteis atraem agentes polinizadores e lactonas sesquiterpênicas e compostos poliacetilênicos (POSER; MENTZ, 2001; ZIDORN, 2006) tornam as plantas impalatáveis aos predadores e patógenos (LEVIN, 1976; CRONQUIST, 1977), já os compostos fenólicos e carotenóides protegem as plantas contra a exposição aos picos de UV-B (280-320 nm) que aumentam com a altitude (KÖRNER, 1999; ZIDORN; SCHUBERT; STUPPNER, 2005; ZIDORN, 2006).

A espécie *Hypochoeris catharinensis* Cabrera é uma erva perene que se adaptou aos solos pobres, com alto teor de alumínio, das regiões de topografia acentuada e baixa capacidade de retenção de água, onde estão expostas a temperaturas extremas, frequente nebulosidade e ventos constantes.

É considerada endêmica da região Sul do Brasil (CABRERA, 1963), principalmente nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, ocupando as áreas mais frias e de altitudes na Encosta Nordeste e Campos de Cima da Serra (AZEVEDO-GONÇALVES; MATZENBACHER, 2007), nos domínios da Floresta Ombrófila Mista e Campos de Altitude.

Estudos com *H. catharinensis* são recentes e somente dados referentes a estudos citogenéticos e filogenéticos estão disponíveis, nos quais não se conseguiu delimitar uma estrutura genética clara que evidencie a evolução e o modo de distribuição da espécie. Devido a sua origem recente, as populações de *H. catharinensis* tendem a apresentar uma baixa diferenciação, com maior variabilidade dentro das populações que entre elas.

Informações com marcadores genéticos codominantes como os microssatélites aliados as características ecológicas podem contribuir para um

melhor entendimento da estrutura genética e distribuição das populações de *H. catharinensis* e no entendimento da evolução do gênero, tendo como objetivo a análise da variabilidade genética proveniente de diferentes populações para entender como estas estão estruturadas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 EVOLUÇÃO E FILOGENIA DE ASTERACEAE E DO GÊNERO *HYPOCHAERIS*

A ordem Asterales abrange cerca de 13,6% da diversidade das Eudicotiledôneas (MAGALLÓN; CRANE; HERENDEEN, 1999), contando com 11 famílias botânicas (APG III, 2009). Asterales é de origem monofilética, evidenciada pela presença de pétalas valvadas, armazenamento de carboidratos como inulina e oligossacarídeos, presença de ácido elágico e polinização por mecanismo de êmbolo (PERSON, 1995; JUDD et al., 2009).

A ordem apresenta origem geográfica relacionada à Gondwana Ocidental, cujo registro fóssil mais antigo data do Cretáceo. Fósseis datados do Oligoceno sugerem uma origem a $104 \pm 12,1$ milhões de anos atrás (JANSSENS et al., 2009), entretanto outros autores acreditam que a ordem tenha surgido entre 90-82 milhões (BREMER, 1994) e 96-93 milhões de anos atrás (WILKSTRON; SAVOLAINEN; CHASE, 2003). O isolamento da América do Sul, ocorrido a partir do Eoceno, confinou parte das Asterales a este continente (BREMER; GUSTAFSSON, 1997).

Asteraceae é considerada a maior família entre as Asterales (BREMER; FRIIS; BREMER, 2004). As relações filogenética entre as famílias desta ordem não são muito claras (JUDD et al., 2009). SMALL (1919) e TURNER (1977) através da análise de microfósseis e impressões de cipselas, quase todos datados do Oligoceno Inferior, afirmam que o local de origem das Asteraceae deve ter sido a América do Sul, ao norte da região andina. Entretanto, cipselas, pappus e pólen encontrados em depósitos terciários do Mioceno Superior, na Europa Central mostram que a família já estava estabelecida no Oligoceno, constituindo um grupo de plantas muito antigo (BARROSO, 1991).

Análises mais apuradas de distribuição de taxas terminais e padrões de emergência biogeográfica mostram que as linhas evolutivas da classe basal tem origem ao sul da América do Sul, seguindo subsequentemente, por radiação na África que deu origem a outras tribos. Essa sequência de eventos pode sugerir uma origem de Asteraceae na Gondwana, mas os poucos dados que existem a partir de registros de pólen e geologia parecem indicar uma origem mais recente da família (APG III, 2009). Métodos de estimativa do ancestral comum e de análises de

registros fósseis e estudos de biogeografia apontam como centro de origem da família o sudeste da América do Sul, sendo o Brasil o centro de origem dos gêneros mais primitivos (BREMER, 1994).

Asteraceae apresenta distribuição cosmopolita, exceto na Antártida (FUNK et al. 2005, JEFFREY 2007). No Brasil esta representada por, aproximadamente, 250 gêneros e cerca de 2000 espécies (SOUZA; LORENZI, 2005). São encontradas em maior abundância em regiões de campos, savanas e regiões de altitude e, com menor frequência, em florestas tropicais úmidas de terras baixas (JEFFREY, 2007). O hábito das espécies dessa família vai desde, herbáceas perenes a escandentes, epifíticas, arbustivas, subarbustivas e arbóreas (MONDIN, 2006). Entretanto, a grande maioria dos gêneros, cerca de 98%, é constituída por plantas de pequeno porte (JOLY, 1983).

A ampla distribuição das Asteraceae é atribuída à adaptação a condições ambientais variadas e a sua capacidade de dispersão, favorecida pela presença de estruturas como pappus, apêndices e estruturas de aderência (VENABLE; LEVIN 1983). Estimativas da distância de dispersão, calculadas com base nas propriedades aerodinâmicas dos diásporos, têm mostrado que a maioria não se dispersa mais que 100m, no entanto alguns alcançam distâncias maiores que 400m (SOONS et al., 2004). Segundo SOONS; HEIL (2002) e TACKENBERG (2003) as sementes mais plumosas dispersas pelo vento conseguem alcançar maiores distâncias que as menos plumosas.

A dispersão de material genético por meio de sementes permite a fundação de novas populações, enquanto a dispersão através de pólen pode formar pontes entre as populações, alcançando distâncias de dispersão maiores que as sementes (MIX et al., 2006). A presença de metabólitos secundários como flavonóides e óleos voláteis atraem os agentes polinizados, tais como insetos, principalmente abelhas e borboletas, havendo casos também de polinização por beija-flores e por ação do vento (LANE, 1996).

A alogamia é predominante em Asteraceae e mecanismos de auto-incompatibilidade contribuem para que haja fluxo gênico (NETTANCOURT, 1977; LANE, 1996), há também a presença de apomixia (NOGLER, 1984; RICHARDS, 1997), considerada dominante em relação à sexualidade (SHERWOOD, 2001). No entanto segundo KAGEYAMA et al. (2003) espécies pioneiras de modo geral tendem a apresentar maiores taxas de cruzamentos parentais, devido a sua

distribuição geralmente agregada, grande tamanho populacional, ciclo de vida curto e rápida colonização, crescimento e extinção que pode aumentar o parentesco intrapopulacional, por haver sobreposição de gerações.

Asteraceae vem sendo intensamente estudada, principalmente quanto a sua estrutura macromolecular (HOLMES, 1996), com intuito de aumentar o conhecimento sobre sua classificação (BREMER, 1994). Ainda que seja aceita como um grupo taxonomicamente bem definido, a uniformidade dos capítulos dificulta a delimitação das tribos e dos gêneros (JEFFREY, 1978).

Entre as Asteraceae o gênero *Hypochaeris* L., subfamília Cichorioideae Chevallier tribo Lactuceae Cass., subtribo Hypochaerinidinae Less. (APG III, 2009) é constituído por espécies herbáceas eretas, com ciclos anuais ou perenes (CABRERA, 1976). O gênero é reconhecido principalmente pela presença de látex, além da presença de rizoma, flores liguladas, monóclinas, cipelas rostradas filiforme, com pappus plumoso (CABRERA, 1976; CANCELLI; EVALDT; BAUERMANN, 2007; APG III, 2009).

Em análises filogenéticas baseadas em marcadores moleculares de DNA nuclear e cloroplastidial da subtribo Hypochaerinidinae, *Hypochaeris* é irmã do clado que compreende *Leontodon* L., *Picris* L. e *Helminthotheca* Vaill. (SAMUEL et al., 2006). As espécies de *Hypochaeris* da América do Sul formam um grupo monofilético tendo como irmã deste grupo *H. angustifolia* (Lit. & Maire) Maire do Marrocos (SAMUEL et al., 2003; TREMETSBERGER et al., 2005).

As espécies de *Hypochaeris* foram agrupadas em cinco diferentes seções baseadas em dados morfológicos e moleculares (CERBAH et al., 1999; SAMUEL et al., 2003, 2006; TREMETSBERGER et al., 2005) sendo elas, sect. *Hypochaeris* com número cromossômico básico $x=4$ e 5 , incluindo as espécies *H. arachnoidea* Poir., *H. glabra* L., *H. radicata* L. e *H. salzmänniana* DC. (ORTIZ et al., 2009); sect. *Seriola* com número cromossômico básico $x=6$, incluem *H. achyrophorus* L., *H. laevigata* Ces., *H. leontodontoides* Ball e *H. rutea* Talavera (TREMETSBERGER et al., 2005); sect. *Robertia*, $x=4$, inclui somente *H. robertia* Fiori (SAMUEL et al., 2003, 2006) e sect. *Metabasis*, com número cromossômico básico $x=3$, incluem *H. cretensis* Bory & Chaub. e *H. oligocephala* (Svent. & Bramwell); sect. *Achyrophorus*, $x=5$, *H. grandiflora* Ledeb., *H. maculata* L. e *H. uniflora* Vill.

Todas as espécies da América do Sul estão alocadas na sect. *Achyrophorus* (WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2003). As espécies Sul Americanas foram separadas segundo o número cromossômico e a presença ou ausência de regiões de constrição secundária no braço longo do cromossomo dois e três (WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2007).

Estudos moleculares, de número cromossômico e citogenéticos apontam a América do Sul como o possível centro de diversificação do gênero, e a região Mediterrânea como centro de origem (STEBBINS, 1971). O surgimento na América do Sul ocorreu através de mecanismos de dispersão a longa distância, advindas de um ancestral do noroeste da África (CERBAH et al., 1998; TREMETSBERGER et al., 2005, 2006; WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2008).

STUESSY et al. (2003) em estudo utilizando ITS (*internal transcribed spacer*) de rDNA e sequências cloroplastidiais *trnL* e *matK* concluíram que as espécies Europeias são basais as espécies da América do Sul, sugerindo que as últimas evoluíram de uma única introdução a partir do Mediterrâneo. A hipótese de radiação adaptativa de *Hypochoeris*, isto é, um processo evolutivo no qual uma espécie dá origem muito rapidamente a um conjunto de espécies, é apoiado por dados moleculares e a baixa taxa de diferenciação dentro do taxa na América do Sul, que sugere um tempo de divergência curto com rápida diversificação.

Hypochoeris é um grupo muito jovem, dados filogenéticos mostram uma variação cariotípica a partir da derivação independente do cariótipo ancestral e diferenciação na posição e evolução do locus 45S rDNA no cromossomo 3 (WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2008), juntamente com a baixa divergência de sequências de DNA entre espécies do grupo monofilético da América do Sul (SAMUEL et al., 2003).

Mecanismos rápidos de radiações adaptativas intercontinentais, como observado em *Hypochoeris*, não são comuns, sendo mais frequentes em cenários de ilhas ou áreas similares. Deste modo, esta forma de radiação adaptativa juntamente com as características cariotípicas de pequeno número de cromossomos de tamanhos relativamente grandes e cariótipos bimodais, podem fornecer informações importantes sobre os processos de especiação e biogeografia e a importância dos rearranjos cromossômicos durante a especiação do grupo sul-americano (STEBBINS, 1971; CERBAH et al., 1995; 1998; CERBAH; COULAUD; SILJAK-YAKOVLEV; RUAS et al., 1995, 2005; WEISS et al., 2003; WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2003, 2008).

Análises filogenéticas de *Hypochaeris* na América do Sul utilizando AFLP separaram as espécies em dois grandes grupos, um formado pelas espécies dos Andes, e o segundo formado pelas espécies dos pampas argentinos com *H. megapotamica* Cabrera, *H. pampasica* Cabrera, e *H. microcephala* (Sch. Bip.) Cabrera em conjunto com *H. chillensis* (Kunth) Hieron (STUESSY et al., 2003).

Esta separação geográfica sugere que dois centros de diversidade ocorreram na evolução do gênero, uma centrada na planície Argentina e o outro na região Andina do Chile e da Argentina, tendo como espécie colonizadora e migrante da região Andina *H. tenuifolia* (Hook. et Arn.) Griseb (STUESSY et al., 2003).

Hypochaeris tenuifolia é relatada como a primeira espécie a colonizar as regiões secas e vulcânicas do Chile e Argentina (1750–2400 m) no Sul dos Andes (STUESSY et al., 2003), adaptada as regiões de altitude e exposta aos fortes ventos dos picos vulcânicos, sua dispersão é favorecida por pappus de cerdas longas e pedúnculos longos de aproximadamente 30 cm (QUINTANILLA, 1983; STUESSY et al., 2003). Mudanças no genoma poliplóide após autoploidização ou uma origem aloploide dos tetraplóides, seguido de hibridização pode ter ocorrido nas populações de *H. tenuifolia*, constatado pela presença de indivíduos diplóides e tetraplóide, e diferenças entre cromossomos homólogos nas populações (WEISS-SCHNEEWEISS et al., 2007).

Áreas como as ocupadas por *H. tenuifolia* de condições severas de estresse, principalmente temperatura, proporcionam rápidas mudanças evolutivas (NEVO, 2001) e variações fenotípicas. Substâncias e mecanismos de adaptação encontrados em *Hypochaeris* evidenciam a plasticidade adaptativa do gênero e seu potencial evolutivo.

A adaptação a condições severas permitiu a espécie *Hypochaeris catharinensis* se adaptar as áreas específicas dos campos do Sul do Brasil. O solo desses lugares são pobres e superficiais, com alto teor de alumínio, baixa capacidade de retenção de água, topografia acentuada, exposição a ventos fortes, a temperaturas extremas e frequentes nebulosidades.

A grande especificidade de ambiente a torna endêmica, ocorrendo nas fitofisionomias de Floresta Ombrófila Mista e Estepes ou Campos (CABRERA, 1963; VELOSO; GÓES-FILHO, 1982). *Hypochaeris catharinensis* tem habito herbáceo, é perene, e a única espécie do gênero a apresentar rizoma. Geralmente é monocéfala, com folhas basais alternas e espatuladas, folhas do escapo floral

alternas, sésseis, lineares e atenuadas na base (AZEVEDO-GONÇALVES; MATZENBACHER, 2007).

Estudos cariotípicos em 10 populações de *H. catharinensis* mostram que a espécie apresenta uma constrição secundária na região terminal do braço curto do cromossomo três (FIORIN, 2008), possuindo o mesmo cariótipo padrão de *H. lutea*. Dados de AFLP revelam uma relação filogenética mais estreita entre *H. lutea* e *H. catharinensis*, definindo um novo grupo filogenético (grupo Lutea) para *Hypochoeris* da América do Sul (RECK, 2010). Estudos com *H. catharinensis* são recentes, e somente dados referentes a estudos citogenéticos e filogenéticos estão disponíveis. Entretanto, não se conseguiu até o momento, delimitar uma estrutura genética clara que evidencie a evolução e o modo de distribuição da espécie.

2.1.1 Estrutura Genética de Populações

As espécies estão conectadas, em diferentes graus, por um ancestral comum, como resultado do processo genealógico de ancestralidade e descendência entre indivíduos, linhagens e espécies (FELSENSTEIN, 1985; DINIZ-FILHO, 2001). Sendo assim, compartilham semelhanças em muitas de suas características (FELSENSTEIN, 1985).

A variabilidade genética e os traços da história natural das espécies são considerados como bons indicadores para a estimativa de taxas evolutivas e relações filogenéticas nas populações (NEI, 1972; NEVO et al., 1984; WARD; SKIBINSKI; WOODWARK, 1992). Deste modo, a variabilidade genética em populações naturais tem sido o foco mais importante dos estudos de genética de populações, especialmente quando se consideram as forças microevolutivas (ALTUKHOV; SALMENKOVA, 2002; LEWONTIN, 2002).

Em populações naturais, a distribuição da variabilidade genética é influenciada pelo modo de reprodução, sistema de reprodução, tamanho populacional, distribuição geográfica e fluxo gênico (HAMRICK, 1982). Membros de uma espécie raramente estão distribuídos homoganeamente no espaço, apresentando uma estrutura espacial ou um padrão não aleatório de distribuição dos indivíduos nas populações (HARTL; CLARCK, 1997), levando a fixação de certos alelos, com conseqüente redução de heterozigotos e formação de grupos (subpopulações), estruturando as populações (FUTUYMA, 1992; ALVES, 2002).

A distribuição não aleatória de alelos e genótipos pode ser determinada pela dispersão de sementes, polinização, tipo e distribuição de habitats e seleção microambiental (HAMRICK, 1983). Muitas espécies parecem crescer melhor em ambientes extremos, como também necessitam destes para a reprodução (MADIGAN, 2000). Condições desfavoráveis têm influência sobre as taxas evolutivas das populações, gerando e mantendo a variação genética (DEBAT; DAVID, 2001; FINNEGAN, 2002), como também determinam a distribuição dos grupos taxonômicos (GRANVILLE, 1984).

Pressões competitivas podem fazer com que espécies se estabeleçam em ambientes periféricos mais pobres, por dificuldades de adaptação a competição e pela pouca resistência à invasão de novas espécies (WHITTAKER, 1965; WISHEU; KEDDY, 1992; BRIGGS, 2000).

As consequências da colonização de habitats vazios ou para populações já estabelecidas são diferentes (LEVIN, 1981). Primeiramente pode ocorrer uma alteração da estrutura espacial da espécie, com a formação de grupos, conduzindo, muitas vezes, a um aumento da heterogeneidade da frequência gênica entre populações. No segundo caso, é o nível de variação dentro da população que tende a aumentar e a diferença entre a estrutura genética das diferentes populações tendem a diminuir (MARTINS, 1987).

A distribuição da variação genética pode fornecer informações de como os mecanismos de polinização, a dispersão de sementes e a fecundidade estão atuando nas populações (SCHWARCZ, 2008).

À distância e a taxa com que os genes migram dentro e entre populações juntamente com o sistema de reprodução determinam muito da endogamia observada em populações naturais (BARREIRA, 2005). Populações com baixa densidade tem sua diversidade genética alterada pelos processos de deriva genética e endogamia. A relação temporal e espacial entre indivíduos próximos aumenta a probabilidade de intercruzamentos, e se os mecanismos de dispersão de sementes e polinização forem restritos, aumentam as chances de cruzamentos aparentados (COLES; FOWLER, 1976).

O fluxo gênico a longas distâncias reduz a taxa de endogamia e de divergência genética entre populações. Entretanto, sob fluxo gênico limitado ocorrerá um aumento nas taxas de endogamia dentro das populações e aumenta a diferenciação entre populações (COLES; FOWLER, 1976). Se o movimento de

genes via pólen é amplo e o movimento via sementes é restrito, espera-se uma baixa endogamia entre populações e moderados níveis de divergência genética entre populações, mas alto grau de parentesco dentro destas (BARREIRA, 2005).

Como a distribuição das espécies influencia o fluxo gênico e a variabilidade, as espécies endêmicas com distribuições restritas podem apresentar menores níveis de variabilidade em suas populações (CAVALLI; WINGE, 2003). A diversidade genética confere plasticidade para que populações se adaptem às mudanças do ambiente. Essa variabilidade é resultado da interação de eventos de seleção natural, deriva genética, migração, mutação e recombinação. A seleção e a deriva diferenciam as populações, enquanto a mutação e recombinação podem criar diversidade e a migração ou fluxo gênico amplia a diversidade permitindo recombinação entre estas (HARTL; CLARK, 1997).

A circulação de genes dentro de populações de plantas está condicionada tanto pela densidade e arranjo espacial dos indivíduos, como pelas relações de natureza genética existentes entre eles. Padrões de dispersão de genes podem ser sensivelmente diferentes em populações que apresentam distribuição contínua e alta densidade em relação àquelas que formam grupos com maior ou menor grau de isolamento. O fluxo gênico deve ser inferido pela circulação de genes dentro de populações de plantas através do grau de compatibilidade genética entre seus indivíduos, não apenas na distância de dispersão de pólen e distribuição espacial (LEVIN, 1981).

Se a dispersão de sementes de uma população é restrita, pode-se imaginar que as plantas de uma vizinhança tenham alelos de auto-incompatibilidade comuns, o que pode impedir ou dificultar o cruzamento. Portanto, neste caso, a probabilidade de plantas de uma mesma vizinhança serem fertilizadas por plantas mais distantes é maior (MARTINS, 1987).

A possibilidade de cruzamento está condicionada pela compatibilidade genotípica do pólen e estigma (LEVIN, 1977), pelo vigor e viabilidade da semente híbrida (CRUMPACKER, 1967) e pela sobrevivência da plântula (COLES; FOWLER, 1976). Fatores ecológicos tanto bióticos como abióticos também influenciam o fluxo de genes. A distância de fluxo de pólen e semente variam devido à direção do vento, ataque de predadores, heterogeneidade ambiental, entre outras, condicionando padrões de variação nas espécies que vão

desde altamente descontínuos formando mosaicos, até a ocorrência de gradações geográficas na frequência de um gene (RAI; KAIN, 1982).

Populações estruturadas devem apresentar um equilíbrio dinâmico entre fatores de diferenciação (mutação, deriva e seleção direcional ou disruptiva diferente em cada área) e fatores de homogeneização (migração, seleção direcional igual em cada área), sendo que a importância relativa de cada fator deve variar de acordo com o tamanho populacional e as diferenças ambientais ao longo das faixas de distribuição das espécies (SOLÉ-CAVA, 2001).

Portanto, para entender a dinâmica populacional e seus eventos evolutivos, devem ser levadas em consideração tanto a variabilidade genética para assegurar evolução contínua, como a ocorrência de certos processos ecológicos básicos, que permitam reprodução contínua e sobrevivência. Além disso, há necessidade de identificar e compreender as restrições de natureza genética e ecológica à evolução de estratégias adaptativas e novas adaptações aos ambientes em constante mudança (JAIN, 1982).

2.1.1.1 Marcadores moleculares

Qualquer molécula como metabólitos, proteínas, sequências de DNA e RNA, entre outros, que apresentem variações em quantidade ou em estrutura entre indivíduos pode ser considerado um marcador molecular. As variações que estas moléculas apresentam, isto é, o fenótipo molecular destas moléculas, será específico para um único indivíduo ou grupo, sendo portando, marcadores deste indivíduo ou grupo (JÚNIOR, 2009).

Entre as moléculas que podem ser utilizadas como marcadores moleculares, o DNA é a que apresenta maior fonte de variação entre indivíduos (CAIXETA et al., 2006). As diversas técnicas para detecção das variações, tais como, *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP), *Single Strand Conformation Polymorphism* (SSCP), *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Sequence-Characterized Amplified Regions* (SCAR), *Restriction Fragment Length Polymorphism DNA* (RFLP), DNA Satélite, Minissatélites ou *Variable Number of Tandem Repeats* (VNTR), Microssatélites ou *short tandem repeats* ou *short sequence repeats* (STRs ou SSR), facilitam a disseminação do uso destes marcadores. O tipo ou a base de variação pode ser

diferente para cada marcador, diferindo também nos sistemas de detecção (JÚNIOR, 2009).

Os marcadores microssatélites são os mais amplamente utilizados, se destacando principalmente por apresentar alto conteúdo de informações (JÚNIOR, 2009), expressão codominante e multialelismo. São encontrados em muitos genomas, principalmente eucariotos, com segmentos polimórficos pequenos suficiente para serem detectados por reação de PCR - *Polymerase Chain Reaction* (FERREIRA; GATTAPAGLIA, 1998).

Os microssatélites são formados por pequenas sequências de nucleotídeos de 2 a 6pb, que ocorrem em forma de unidades repetitivas de mono, di, tri e tetra nucleotídeos, sendo que as repetições de cinco (penta) ou seis (hexa) nucleotídeos também são usualmente classificadas como bons microssatélites. Os dinucleotídeos são as repetições dominantes, seguido por mono e tetra, os trinucleotídeos aparecem com menor frequência. Entre os dinucleotídeos, as repetições (AT)_n são mais frequentes, seguido por (CA)_n e (GA)_n (ELLEGREN, 2004).

Regiões de microssatélites estão dispersas pelo genoma da grande maioria dos organismos, sendo classificados como marcadores neutros, devido às sequências de repetições estarem localizadas geralmente em regiões não codificadoras e sofrerem mutações sem os efeitos da seleção (ELLEGREN, 2004). Entretanto, há evidências de microssatélites em regiões codificantes, como também locos posicionados próximos a DNA não repetitivo codificante (OLIVEIRA et al., 2006).

Sua densidade está correlacionada com o tamanho do genoma em mamíferos. No entanto, em plantas não há esta correlação, atribuído ao fato de que os microssatélites estão sub-representados, em partes repetitivas que estão envolvidas na ampliação do genoma, tais como repetições terminais longas de retrotransposons, que também são encontrados próximos a repetições intercaladas com elementos, tais como os SINES (*short interspersed repeats*) e LINES (*long interspersed elements*). O contraste da distribuição nos diferentes genomas, indica que há uma variação interespecífica nos mecanismos de mutação ou reparo de *motifs* específicos (FREIMER; SLATKIN, 1996; ELLEGREN, 2004).

As variações no número de unidades repetidas são geradas por mutação, que em microssatélites ocorrem em uma taxa maior que a registrada em

DNA não repetitivo, e é a causa do polimorfismo entre diferentes alelos (TORRES, 2006). Eventos de mutações em um *locus* geram novos alelos, que tem informação sobre o estado do alelo ancestral. Neste caso, a diferença no comprimento entre alelos contém informação filogenética (GOLDSTEIN et al., 1995; SLATKIN, 1995).

A estabilidade dos microssatélites é influenciada por alguns parâmetros, tais como: *i* - o tamanho das sequências, que podem influenciar nas taxas de mutação, sendo que as repetições longas tendem a ser mais polimórficas que as repetições curtas. Entretanto, a perda de repetições pode ser mais comum, ou envolver deleções maiores em alelos longos do que em alelos curtos (ELLEGREN, 2000), como também é mais provável o desalinhamento em repetições maiores; *ii*- a pureza do microssatélite, repetições interrompidas e compostas parecem ter uma taxa menor de mutação do que repetições perfeitas, que pode ser devido a maior dificuldade de formação de *slipped* na presença destas (KUNST et al., 1997; PETES; GREENWELL; DOMINSKA, 1997); *iii*- o sexo parece ter também alguma influência sobre os processos mutacionais. Nas andorinhas de celeiro por exemplo, foram observadas taxas de mutação quase duas vezes maiores nos machos do que nas fêmeas (PRIMMER et al. 1998).

As mudanças no DNA microssatélite surgem durante a recombinação, por ocorrência de *crossing-over* desigual e erros na replicação pelo deslizamento do DNA polimerase (*slippage*). O mais aceito para explicar a formação de novos alelos com baixa variação de tamanho das sequências são os *slippage* (SCHLÖTTERER, 2000; ELLEGREN, 2004; OLIVEIRA et al., 2006). Neste processo durante a replicação, onde o DNA se dissocia para nova síntese, há uma reassociação desalinhada, ou seja, pareamento incorreto, com a formação de uma alça que acaba gerando aumento ou diminuição no comprimento de uma das fitas do DNA, por inserção ou deleção de bases, que em geral, envolve apenas uma repetição (*stepwise mutation*). Muitas mutações são corrigidas pelo sistema de reparo e somente uma pequena fração que não foi reparada acabam como mutações de microssatélites (ELLEGREN, 2004).

Alelos homoplásicos, ou seja, que possuem o mesmo tamanho ou número de repetições, mas não são iguais por descendência (ESTOUP; JARNE; CORNUET, 2002), são previstos pelo modelo *stepwise mutation*, uma vez que as mutações podem tanto aumentar como diminuir o tamanho de alelos diferentes, podendo gerar alelos com o mesmo número de repetições. Segundo KRUGLYAK et

al. (1998) as mutações de ponto restringem o tamanho dos alelos por gerarem um balanço entre o efeito do *slippage*, relacionado com o maior número de repetições e as mutações de ponto, que interrompem as longas repetições em série.

O efeito homoplásico parece ser potencializado, pelo fato dos locos de microssatélite sofrerem restrições quanto ao número máximo de repetições (POLLOCK et al., 1998), e estarem sujeitos a mutações que alterem mais de uma repetição (SELKOE; TOONEN, 2006), havendo uma maior ocorrência de homoplasia em locos não-perfeitos, do que nos perfeitos. A utilização de um número maior de locos é um fator que diminui os efeitos da homoplasia (ESTOUP; JARNE; CORNUET, 2002; ADAMS; BROWN; HAMILTON, 2004).

Tais variações nos locos de microssatélites podem ser detectadas pelo uso da técnica de Reação em Cadeia das Polimerases (PCR), através de uma série de reações que ocorrem em diferentes temperaturas pré-estabelecidas, com tempos exatos e específicos para cada fragmento de DNA a ser amplificado e seus resultados podem ser visualizados por diferentes métodos cromatográficos (GUPTA et al., 1996). Diversos parâmetros tais como, número de ciclos, temperatura, tempo de duração de cada etapa, qualidade e quantidade de *primers* utilizados podem interferir na reação de PCR (JÚNIOR, 2009).

Cada ciclo é dividido em três etapas bem definidas. Na primeira etapa a temperatura é elevada para que haja a separação da dupla cadeia de DNA (desnaturação). Na segunda etapa, a temperatura é reduzida para que os *primers* se pareiem com a fita molde de DNA (pareamento). Na etapa final (extensão) a temperatura é elevada e a polimerase atua na extensão do primer dando origem a uma nova molécula (JÚNIOR, 2009).

Na leitura do produto amplificado um conjunto de fragmentos (ou alelos) é detectado para um *locus*, o número de alelos detectado varia de acordo com a ploidia do indivíduo. O conjunto de fragmentos formados é chamado de haplótipo (coleção de genes, em dois ou mais locos). Um ou mais haplótipos produzem um perfil molecular, podendo ser interpretados como códigos de barra biológicos que podem gerar perfis exclusivos para cada indivíduo (JÚNIOR, 2009).

A diversidade alélica e alto conteúdo informativo dos marcadores microssatélites, permitem comparações dentro e entre populações, verificando como estas se estruturam no espaço. Análises como essas permitem fazer inferências sobre a história evolutiva da espécie e avaliar atributos genéticos importantes para a

sua conservação, por isso os microssatélites são apontados como ideais para estudos evolutivos, de genética de populações, mapeamento genético e de identificação e discriminação de genótipos (HUGHES; QUELLER, 1993; FERREIRA; GATTAPAGLIA, 1998).

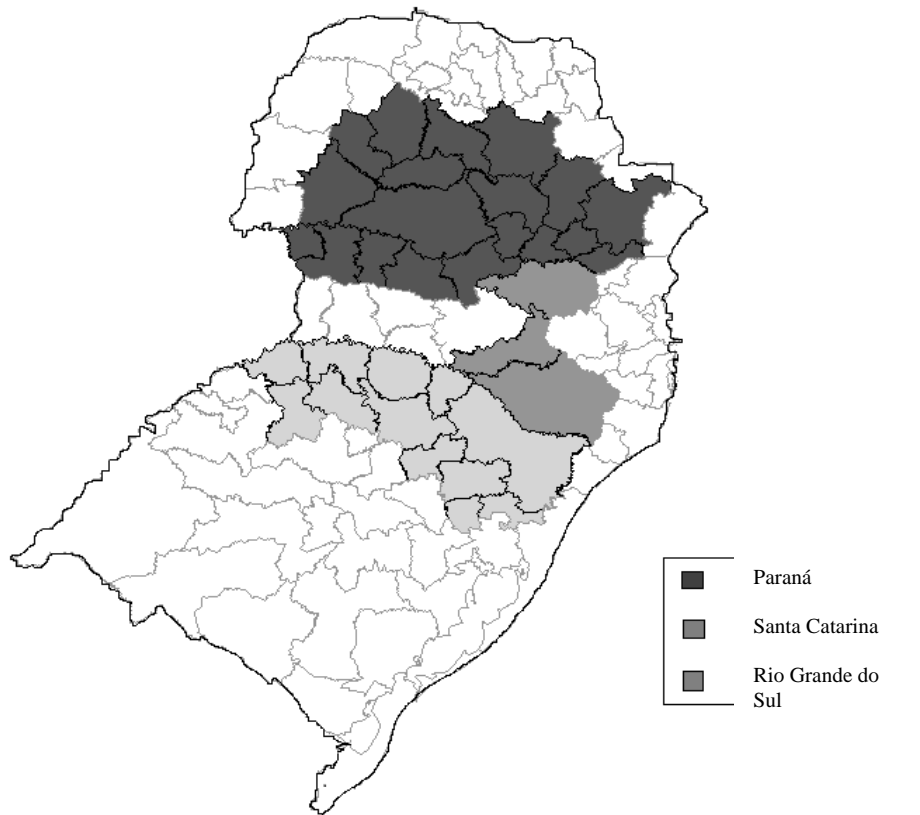
2.1.1.1.1 Formação e caracterização da Serra Geral

A Serra Geral é uma formação rochosa, relacionada a derrames vulcânicos que ocorreram durante a era Mesozóica, entre os períodos Jurássico e Cretáceo (65 e 190 milhões de anos) marcando o término dos derrames magmáticos. Essa formação corta diagonalmente o estado do Paraná, em Santa Catarina divide o litoral do interior, e corta também em sentido diagonal, o estado do Rio Grande do Sul (figura 1) (CPRM, 2004).

A Serra Geral está situada na Bacia do Paraná, que é composta por rochas sedimentares e vulcânicas com idades que variam do Ordoviciano ao Cretáceo. Possui mais de 1.500.000 km², e engloba todo o Sul do Brasil, parte do Sudeste e Centro-Oeste, abrangendo ainda parte do Uruguai, Argentina e Paraguai, (CPRM, 2004).

No final do ciclo sedimentar da Bacia do Paraná, ocorreu à implantação da Formação Botucatu, com vasta superfície de deflação eólica, que marcou o clímax da aridez desértica, caracterizando prolongados episódios de interrupções da sedimentação associado ao rearranjo morfológico (CPRM, 2004).

Figura 1 – Mapa mostrando a Serra Geral das regiões do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul.



Esses eventos acompanham o desenvolvimento de fases distensionais e de soerguimento do grande ciclo geotectônico que levaria a desagregação do supercontinente Pangea e fragmentação dos continentes Africano e Sul-Americano (MILANI et al.1998, SCHERER, 2000). Acompanhada do amplo soerguimento de toda a borda leste da América do Sul e da borda oeste da África, fazendo com que os derrames vulcânicos e as rochas colocadas abaixo, fossem elevadas topograficamente, formando o que posteriormente denominou-se de Serra Geral e Serra do Mar, no continente sul americano (CPRM, 2004).

A Serra Geral no Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul tem suas formações modeladas pelos processos da desnudação periférica, que deram origem a relevos de características diferenciados. No Rio Grande do Sul a depressão periférica na área correspondente à Depressão Central é escavada nos terrenos Permocarboníferos; no Paraná, as rochas paleozóicas soerguidas deram origem a um Patamar Intermediário, mantido pela resistência das formações Devonianas que se erguem sobre os terrenos cristalinos circundantes como a

escarpa e sucessivos planaltos cuestiformes que se estendem até a base da escarpa da Serra Geral; em Santa Catarina as formações Paleozóicas dão relevos diferenciados: planálticos tabulares, cuestiformes e a planície disposta ao pé da escarpa da Serra Geral, que no sul do Estado se avizinha do oceano como um paredão abrupto (IBGE, 1977).

Os solos da Serra são compostos por rochas basálticas nas sequências inferiores e rochas ácidas na sequência mais superiores, onde se destacam os riolitos e riodacitos, observados sob a forma de afloramentos (JUNGBLUT; PINTO, 1997), com elevado teor de sílica e baixos teores de ferro e magnésio. Segundo IBGE (2011), a classificação dos solos predominantes na Serra Geral são, Cambissolo Húmico, Nitossolos Háplicos Distrófico e Latossolos Brunos Distróficos.

O relevo tabuliforme cede lugar a formas mais arredondadas, já nos patamares há solos com maiores espessuras de argila, e nas escarpas os solos são mais rasos com ocorrência de afloramentos rochosos. As rochas de composição mais ácida correspondem principalmente aos últimos derrames de lava, ocorrendo nas regiões de altitudes mais elevadas (POTTER et al., 2004).

As condições do relevo influenciam na circulação das massas de ar, que no Sul do Brasil é controlado pelo anticiclone do Atlântico Sul que transporta massas de ar tropicais úmidas do oceano para o continente, em direção leste e nordeste durante todo o ano. A variação anual da Zona de Convergência Intertropical causa chuvas nos meses de verão e chuvas escassas gerando períodos secos de abril a setembro. Na região Sul do País o encontro das massas tropicais com as frentes frias polares, causam fortes chuvas. (NIMER, 1989, HASTENRATH, 1991).

Nos Planaltos do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e Paraná o clima está classificado de acordo com Köppen como Cfb (clima subtropical com verões brandos), com verões brandos, invernos com geadas frequentes e nevadas esporádicas, e temperaturas negativas, sem estação seca definida. No mês mais quente ocorre temperatura média inferior a 22°C, com temperaturas médias no mês mais frio inferiores a 10°C (KUINCHTNER; BURIOL, 2001).

O clima participa da formação do solo, na medida que controla a intensidade dos processos formadores, através da radiação solar, precipitação e umidade (GUERRA; BOTELHO, 1996). As depressões e elevações dos planaltos

conduzem a ambientes distintos, nas depressões a água e nutrientes acumulam-se, já nas elevações, a temperatura é mais baixa e a radiação solar mais intensa, o que influencia a cobertura vegetal, bem como o solo tende a erodir-se, sendo comumente raso e sem horizonte bem definido. O clima juntamente com topografia e propriedades pedológicas, vão determinar os tipos vegetacionais, especialmente quanto á sua distribuição e estrutura. (RIZZINI, 1992).

Entre os ecossistemas que compõem a paisagem da região Sul do Brasil, estão os campos naturais, que incluem os campos subtropicais e os campos de altitude. Os campos subtropicais são encontrados na Depressão Central, Serra do Sudeste e Campanha do Rio Grande do Sul e os campos de altitude ou campos de Cima da Serra são encontrados nas regiões de Planaltos, onde muitas vezes formam mosaicos com a Floresta Ombrófila Mista (PILLAR et al. 2009) e compreendem 2,07% (176.496km²) do território Nacional (IBGE, 2005).

Os solos rasos e compactados dos campos exibem plantas com raízes pouco profundas e que muitas vezes se estendem horizontalmente, com formação de órgãos túbero-lenhosos e gemíferos, tais como, xilopódios, tubérculos, bulbos e rizomas, geralmente espessados para armazenamento de água e nutriente (LINDMAN, 1906; RIZZINI, 1965).

As plantas de regiões campestres geralmente apresentam uma série de adaptações, como folhas coriáceas, com superfície reduzida, revestimento piloso para diminuir o aquecimento e evapotranspiração. Folhas verticais e pregueadas como forma de expor menor área ao calor, comuns em Poaceae, Ciperaceae, Iridaceae, Liliaceae, Amaryllidaceae e Fabaceae (IBGE, 1977). Há também plantas constituídas de bainhas longamente persistentes, que compõem uma espécie de túnica ou manto capaz de proteger a planta ao calor, esses mantos tendem a desaparecer no que se forma um crasso súber, característica essa comum em Poaceae, Ciperaceae, Asteraceae e Eriocaulaceae (RIZZINI, 1992).

A radiação solar e disponibilidade de água têm fortes influências sobre o crescimento e diferenciação celular. O crescimento das células, espessamento das paredes celulares, produção de pigmentos, divisão celular e produção de açúcares, juntamente com os efeitos morfogenéticos, promoverão um maior desenvolvimento do sistema radicial, dos tecidos mecânicos, produção de pigmentos e matéria, ou seja, há uma diferenciação mais intensa, levando ao espessamento de folhas e caule, com aumento também da produção de compostos

químicos, tais como resinas, látex ou óleos essenciais. Tais plantas mostram raízes bem mais copiosas e longas e serão mais resistentes ao calor e a seca (LOOMIS, 1953).

3 ARTIGO

ESTRUTURA GENÉTICA DE POPULAÇÕES DE *Hypochaeris catharinensis* CABRERA (ASTERACEAE) UTILIZANDO MARCADORES MICROSSATÉLITES

3.1 RESUMO: O gênero *Hypochaeris* L. (Asteraceae) é considerado um modelo evolutivo, no qual teriam ocorrido eventos de especiação decorrentes principalmente da diversificação dos sistemas reprodutivos. Demonstrou-se em estudo recente, que as espécies sul-americanas de *Hypochaeris* são irmãs de uma ancestral de *H. angustifolia* (Litard. e Maire) Maire. Ocorre naturalmente no Marrocos, Norte da África. Na América do Sul o grupo *Hypochaeris*, possivelmente foi introduzido por dispersões a longas distâncias com subsequente radiação e diversificação. Os marcadores microssatélites podem ser utilizados como uma ferramenta, na genética de populações, para o entendimento dos processos evolutivos que levaram ao padrão de estruturação genética das populações de *H. catharinensis*. Para tal propósito, desenvolveram-se nove pares de *primers* de microssatélites, empregando-os no estudo de 13 populações da espécie. A amplificação por PCR detectou 80 alelos diferentes nas 13 populações com um total de 441 indivíduos, com média de 12 (Hcat24b) a 35 (Hcat24a) alelos por *locus* e 4,78 (Cambará/RS) a 9,56 (Painel/SC) alelos por população. A média de heterozigosidade observada e esperada foi de 0,337 a 0,484 respectivamente, a heterozigosidade observada variou de 0,275 (São Francisco de Paula-Cambará/RS) a 0,472 (São José dos Ausentes-Sera da Rocinha/RS) e a heterozigosidade esperada variou de 0,371 (Coxilha Rica II/SC) a 0,562 (Painel/SC). Os valores de endogamia foram significativos para oito populações. A análise de variância aponta para uma taxa moderada de diferenciação genética entre populações ($F_{st}=0,13436$) e uma variação dentro das populações de 86,56%. A estimativa de gargalo genético foi significativa para todas as populações no modelo *Stepwise mutation*. Verificou-se migração para todas as populações, Rancho Queimado/SC contribuiu com 84,6% de migrantes em 11 populações, Cambará/RS contribuiu com 69,23% de migrantes para nove populações e Caçador-153/SC contribuiu com 23,1% de migrantes para três populações. Os valores de F_{st} par a par entre as populações variou de 0,0324 a 0,3645, o teste de correlação de Pearson não foi significativo ($r = -0,6205$; $P = 0,1887$) para distância genética e geográfica. O número de possíveis agrupamentos populacionais foi $k=3$. Os resultados mostram redução do tamanho populacional e sugerem a ocorrência de efeito fundador. Subdivisões populacionais podem ter ocorrido por expansão das florestas sobre os campos, e a redução do fluxo gênico teria aumentando a diferenciação entre populações. É provável que a primeira população tenha surgido na região de Rancho Queimado, Santa Catarina.

Palavras-chave: Diversidade genética. Marcadores codominantes. Modelo evolutivo. SSR.

ABSTRACT: Genetic structure of *Hypochaeris catharinensis* Cabrera (Asteraceae) using markers of microsatellites. The genus *Hypochaeris* L. (Asteraceae) is considered an evolutionary model, in which would have occurred speciation events mainly due to the diversification of reproductive systems. It was demonstrated in a recent study that the South American species of *Hypochaeris* are sisters an ancestor of *H. angustifolia* (Litard. and Maire) Maire, that naturally occur in Morocco, North African. The South American group of *Hypochaeris* was, possibly introduced by dispersion over long distances with subsequent radiation and diversification of the genus. Microsatellite markers can be used as a tool, in population genetics, to understand the evolutionary processes that led to the patterns of genetic structure of population of *Hypochaeris catharinensis*. For such purpose, nine microsatellite primers were developed and employed in the study of thirteen natural occurring populations of this species. PCR amplification detected 80 different alleles in 13 populations with a total of 441 individuals with a mean of 12 (Hcat24b) to 35 (Hcat24a) alleles per locus and 4,78 (Cambará/RS) to 9,56 (Painel/SC) alleles per population. The average observed and expected heterozygosity was 0,337 to 0,484 respectively. The observed heterozygosity ranged from 0,275 (São Francisco de Paula-Cambará/RS) to 0,472 (São José dos Ausentes-Serra da Rocinha/RS) and expected heterozygosity ranged from 0,371 (Coxilha Rica II/SC) to 0,562 (Painel/SC). Inbreeding values were significant for eight populations. The analysis of variance indicates a moderate rate of genetic differentiation between populations ($F_{st} = 0,13436$) and the variation within populations was 86,56%. The estimated Bottleneck were significant for all population on stepwise mutation model. There was migration to all populations, Rancho Queimado/SC with 84,6% contribution of migrants in 11 populations, Cambará/RS contributed 69,23% of migrants to Caçador-153/SC nine populations and contributed to 23,1% of migrant on three populations. Values of pairwise F_{st} between populations ranged from 0,0324 to 0,3645 and the Pearson correlation test was not significant ($r = -0,6205$; $P = 0,1887$) for genetic and geographic distance. The K number of grouping populations $k = 3$. These results show a reduction in population size and suggest the occurrence of founder effect. Population subdivisions may have occurred by expansion of forests over the fields, and reduced gene flow would increase the differentiation between populations. It is likely that the first population has appeared in the region of Rancho Queimado, Santa Catarina.

Keywords: Genetic diversity. Codominant markers. Evolutionary model. SSR.

3.2 INTRODUÇÃO

O gênero *Hypochaeris* L. (Asteraceae) está representado por cerca de 60 espécies encontradas ao Norte da África, nas Ilhas Canárias, Europa, Ásia e América do Sul. As espécies de *Hypochaeris* são consideradas modelos para estudos evolutivos, embora ainda sejam evolutivamente jovens com cerca de 0,25 a 1 milhão de anos (SAMUEL et al., 2003; TREMETSBERGER et al., 2005; RUAS et al., 2008).

A distribuição disjunta do gênero aponta para processos de dispersões a longas distâncias, na qual um possível ancestral da espécie *H. angustifolia* (Lit. & Maire) Maire do Marrocos teria se dispersado para a América do Sul, que é o centro de diversificação do gênero (SAMUEL et al., 2003; TREMETSBERGER et al., 2006; WEISS-SCHENEEWEISS et al., 2008). Na América do Sul *Hypochaeris* conseguiu se estabelecer e colonizar diversos habitats (CABRERA; WILLINK, 1980).

No Brasil encontramos uma maior diversidade de espécies de *Hypochaeris* concentradas na região Sul, decrescendo em direção ao Norte (CERBAH; COULAUD; SILJAK-YAKOVLEV, 1998). Entre essas espécies, *H. catharinensis* Cabrera, uma herbácea perene, endêmica do Sul do Brasil, apresenta dispersão anemocórica com predominância de alogamia e brotamento por rizomas. É relatada ainda para algumas espécies do gênero a presença de autoincompatibilidade (NETTANCOURT, 1977; LANE, 1996), no entanto ainda não se tem registros sobre a definição do sistema reprodutivo de *H. catharinensis*.

Endêmica das regiões de Estepes ou Campos, dos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, *H. catharinensis* também foi registrada no Paraná (CABRERA, 1963; VELOSO; GÓES-FILHO, 1982). Estas áreas apresentam altitudes mais elevadas, com baixas temperaturas, ventos fortes, solos rasos e pobres em nutrientes e frequentes nebulosidades.

A distribuição das espécies, principalmente endêmicas, influencia o fluxo gênico e a variabilidade dentro das populações, podendo apresentar menores níveis de variação (CAVALLI; WINGE, 2003). Em *H. catharinensis* não se estabeleceu uma estrutura genética clara, no entanto estudos com AFLP conseguiram detectar uma relação filogenética estreita entre *H. catharinensis* e *H. lutea* (grupo Lutea) (RECK, 2010).

O objetivo do trabalho foi avaliar a estrutura genética e evolução de *H. catharinensis* utilizando microssatélites. Sob a hipótese de que *Hypochaeris* é um grupo evolutivamente recente, as subpopulações podem estar ainda em fase de diferenciação, com possível evento fundador num passado recente. A geografia e as distâncias das subpopulações podem estar relacionadas às distâncias genéticas e ao fluxo gênico menor entre regiões mais distantes.

3.3 MATERIAL E MÉTODOS

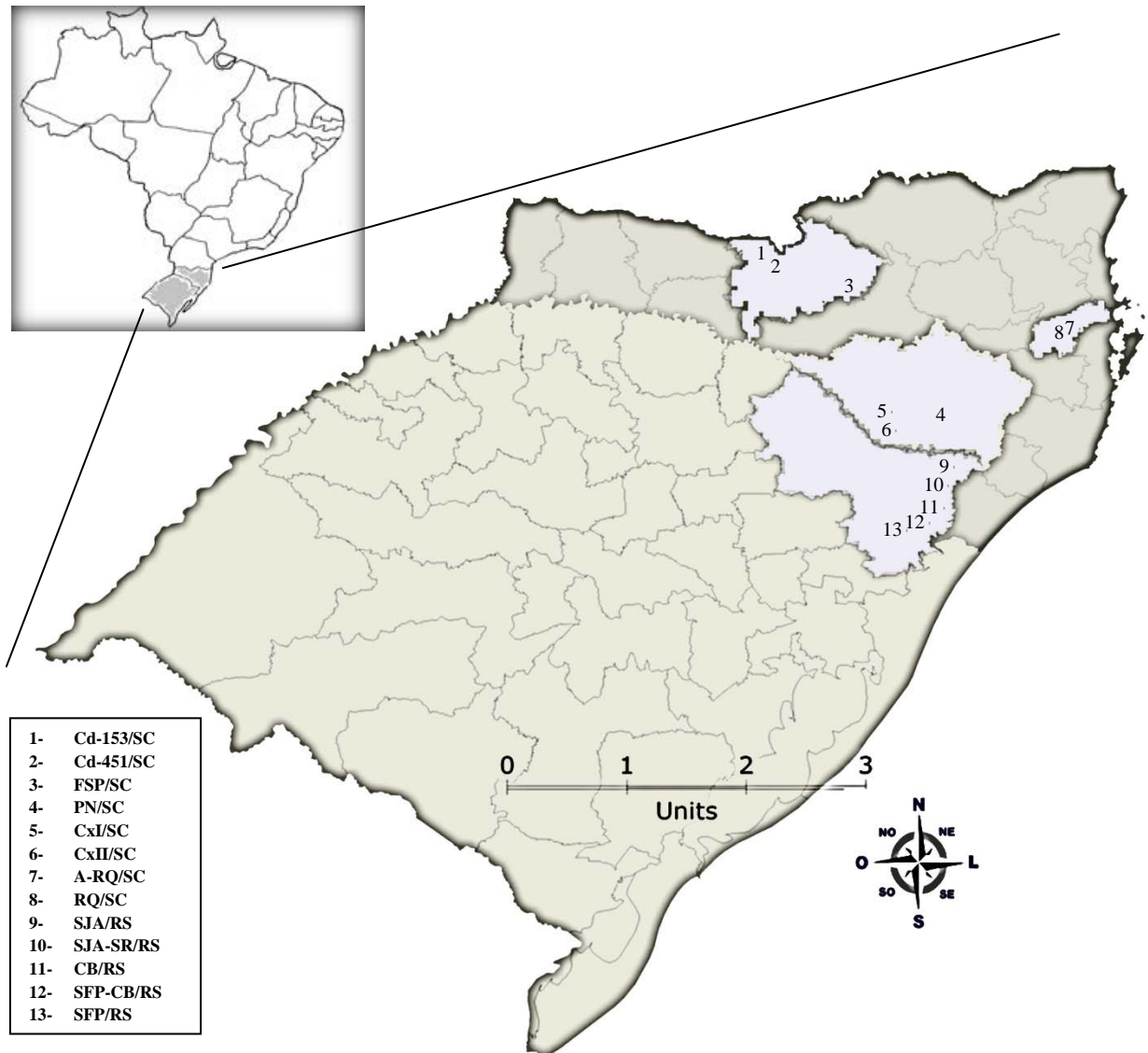
3.3.1 Amostragem

Realizou-se amostragem de 13 populações de *H. catharinensis* (Tabela 1), sendo cinco populações no estado do Rio Grande do Sul e oito em Santa Catarina, procurando abranger ao máximo sua área de distribuição (Figura 2). Foram coletados tecidos foliares, onde cada indivíduo estava a uma distância de pelo menos 10m do próximo indivíduo amostrado. O material coletado foi armazenado em sílica, para posterior extração de DNA.

Tabela 1 – Locais de coleta das amostras de *Hypochaeris catharinensis* na região sul-brasileira e número (n) de indivíduos.

Estado/ Localidade	Identificação	Coordenadas (S/W)	n
Rio Grande do Sul			
São Francisco de Paula-RS	SFP/RS	29°24'/50°32'	28
Entre S. Francisco e Cambará	SFP-CB/RS	29°19'/50°22'	27
Cambará do Sul	CB/RS	29°10'/50°15'	32
São José dos Ausentes	SJA/RS	28°51'/50°01'	30
São José/ Serra da Rocinha	SJA-SR/RS	28°47'/49°58'	32
Santa Catarina			
Entre Angelina e Rancho Queimado	A-RQ/SC	27°38'/48°59'	32
Coxilha Rica	CxI/SC	28°09'/50°30'	32
Coxilha Rica	CxII/SC	28°11'/50°30'	32
Rancho Queimado	RQ/SC	27°40'/48°59'	26
Painel	PN/SC	28°17'/49°56'	36
Faxinal São Pedro	FSP	26°51'/50°50'	34
Caçador SC451 próx. BR153	Cd-451/SC	26°41'/51°31'	46
Em direção a Palmas/BR153	Cd-153/SC	26°34'/51°44'	54

Figura 2 – Mapa das áreas de coleta (cada número corresponde a uma amostragem caracterizada pelas siglas ao lado, para maiores detalhes consulte Tabela 2) nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, Brasil.



3.3.1.1 Extração de DNA e PCR

O DNA genômico foi extraído de cada indivíduo amostrado de acordo com o protocolo CTAB 2% (Cetyltrimethyl-ammonium bromide) conforme DOYLE; DOYLE (1987) com modificações (TREMETSMERGER et al., 2003). A qualidade do DNA total e a concentração final de cada amostra foi determinada por quantificação por espectrofotometria (Scandrop, Analytikjena).

Utilizaram-se nove pares de *primers* de microssatélites (Tabela 2) desenvolvidos para *H. catharinensis*. Em reações de amplificação que continham 4,5µL de GoTaq Green Master Mix (tampão 2x, pH 8,5, 1600µM dNTP e MgCl 3mM;

Promega), 0,08 μ L de *primer forward* (5pM), 0,32 μ L de *primer reverse* (5pM), e 0,32 μ L de *primer M13* (5pM), marcado com um fluoróforo (Ned, Hex, 6-Fam) (5pM), 2 μ L de DNA (0,075ng) e 2,78 μ L de água livre de nucleases para ajustar o volume final para 10 μ L.

As reações de PCR foram feitas utilizando-se termociclador PTC200 (MJ Research), no programa *Touchdown*, onde a temperatura inicial de anelamento foi de 65°C para cada primer. Os ciclos de PCR consistiram de: 1 ciclo de 94°C por 4 minutos, seguido de 12 ciclos de 94°C por 30s, 65°C por 30s, em cada ciclo de PCR diminuía-se 1°C por ciclo de anelamento até a temperatura de 55°C, e extensão de 72°C por 30s; seguindo 29 ciclos adicionais de 94°C por 30s, 55°C por 30s e 72°C por 30s; um ciclo de 94°C por 30s, 54°C por 30s e 72°C por 30s; 7 ciclos de 94°C por 30s, 53°C 45s e 72°C por 45s; com uma extensão final de 60°C por 40 minutos.

O produto final da amplificação foi submetido em multiplex à eletroforese capilar no sequenciador automático 3500xL, amplificaram-se fragmentos de diferentes tamanhos que foram considerados alelos diferentes.

Tabela 2 – Sequências de pares de *primers* desenvolvidos para *H. catharinensis* com as respectivas temperaturas de anelamento (T_M) e tamanho de pares de bases (pb).

Primer	Sequência pares Primers 5'-3'	Motivo	T_M (°C)	Tam (pb)
Hcat21	F: 5' TGCGTGGTTGAATTCTTTGT 3' R: 5' CAAACCAGCACCCCTGAAAAT 3'	(CT)3TTT(CT)19	59°	200
Hcat19	F: 5' AACAAGCAAACCCAGGATG 3' R: 5' CATCACACCCCCTCTTCTA 3'	(TCTG)6n (GT)5(TG)4	59°	201
Hcat14	F: 5' ATAACCGTCTGATGCCAAGC 3' R: 5' CCCAATCTTGAAGCTGGAAA 3'	(CTT)3n(CTA)3	60°	189
Hcat24a	F: 5' TGGCTGCCCTTTATACTTGC 3' R: 5' CGGGAGTATGTATGCGTGTG 3'	(GA)7n(AGG)5n	60°	208
Hcat24b	F: 5' GCCATGCTTTCTCCCTTTCT 3' R: 5' GCTTACGCGTGGACTAGCAT 3'	(CT)3n(AC)11	60°	205
Hcat17	F: 5' ACACATGAGAAGGGCGATTT 3' R: 5'GGTCCCTATTGCGTTGAAA 3'	(TG)4n(TG)3	59°	203
Hcat6	F: 5'ACATGAAGGGACGAGTCAGG 3' R: 5'AATTCGGGAGGTTCCCTTTA 3'	(TTC)3n(TTC)	60°	206
Hcat7	F: 5'GATCAACGTAGCCAGGTGGT 3' R: 5'TCAAGGGTTCTCCCAACAAC 3'	(CT)2n(TC)5	60°	200
Hcat8	F: 5'ATGTCGGGGACGGATCTACT 3' R: 5'CTGAATGTAGCGGGATCGTT 3'	(CA)n(CA)4	60°	179

3.3.1.1.1 Análise dos dados

A determinação do tamanho dos alelos foi realizada utilizando-se o programa GeneMapper v. 4.1, com comparação com o marcador de peso molecular GeneScan™ – 600 LIZ® Size Standard (Life Technologies). Os alelos foram organizados em matrizes de dados, de acordo com seus tamanhos e posteriormente submetidos a programas computacionais.

Os dados foram analisados para detecção de possíveis alelos nulos, bandas *stutter* e alelos *drop-out* que ocorrem durante a PCR e afetam a leitura dos microssatélites com o programa Micro-Checker 2.2.3. (VAN OOSTERHOUT et al., 2004).

A variabilidade genética dentro das populações foi caracterizada pelo número de alelos por loco (A), heterozigosidade observada (H_o) e esperada

(H_E), coeficientes de endogamia (F_{IS}) e riqueza alélica, sendo que para cada população foram testados os desvios de equilíbrio de Hardy-Weinberg utilizando testes de probabilidade, calculados com o programa FSTAT (GOUDET, 2011), com intervalos de 95% de confiança, pelo método de Jackknife.

Para verificar se as populações estudadas passaram por um efeito de Gargalo Genético recente foi utilizado o programa BOTTLENECK (CORNUET; LUIKART, 1996; PIRY; LUIKART; CORNUET, 1999), a partir de três modelos evolutivos para locos de microssatélites, sendo eles *Infinite Allele Model* (IAM), *Two Phase Model* (TPM) e *Stepwise Mutation Model* (SMM). As probabilidades baseadas no excesso/deficiência de heterozigidade foram derivadas do teste de Wilcoxon (Wilcoxon sign-rang test) (LUIKART et al., 1998). O teste de Wilcoxon fornece um poder relativamente alto para análises que utilizam poucos loci.

A variabilidade genética total entre e dentro de populações, dentro dos grupos e dentro das populações entre grupos divididos por regiões, bem como o índice de fixação alélica (F_{ST}) foram estimados utilizando a análise de variância molecular (AMOVA) pelo programa ARLEQUIN v. 3.11 (EXCOFFIER; LAVAL; SCHNEIDER, 2005).

Já ocorrência de migração entre as populações foi estimada pelo método bayesiano para a porcentagem de migrantes, pelo programa BAYESASS (WILSON; RANNALA, 2003). Para verificar uma possível correlação entre distância geográfica e genética, foi realizado o teste de correlação de Pearson, com base nos valores de F_{ST} entre pares de populações e as distâncias geográficas, pelo software Bioestat 5.0 (AYRES et al., 2007).

O programa Structure v.2.3.3 (HUBISZ et al., 2009) foi utilizado para identificar a formação de grupos (k) de populações geneticamente similares. A análise de número de clusters foi realizada seguindo o modelo misto com período de comprimento de 10000 e 10000 repetições, o número de clusters foi determinado de acordo com EVANNO; REGNAUT; GOUDET (2005)

3.4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na observação de déficit de heterozigidade para a maioria das populações analisamos a presença de possíveis alelos nulos. Nos *loci* Hcat24a e Hcat8 não houve detecção de alelos nulos em nenhuma população, já nos demais

loci há erros que possivelmente correspondem a alelos nulos na maioria das populações, com exceção da população CxII/SC. O *locus* Hcat24b apresentou alelos nulos somente na população SFP-CB/RS e o *locus* Hcat7 somente nas populações Cd-153/SC, Cd-451/SC e SFP-CB/RS.

Para o *locus* Hcat19 há presença alelos nulos nas populações SFP/RS, CB/RS, Cd-153/SC, CxI/SC, Cd-451/SC e PN/SC e no *locus* Hcat6 encontrou-se alelos nulos nas populações FSP/SC, CB/RS, Cd-153/SC, Cd-451/SC e PN/SC, já para os *loci* Hcat14 e Hcat17 apenas não foram detectados alelos nulos nas populações PN/SC e CxII/SC e no *locus* Hcat21 não foram detectados nas populações CxII/SC, A-RQ/SC, SJA-SR/RS e CxI/SC.

A presença de alelos nulos em marcadores microssatélites é frequente, especialmente em grandes populações naturais (BRUFORD; WAYNE, 1993; LI et al., 2003; KARLSSON; MORK, 2005). Os alelos nulos e possíveis erros de leitura como as bandas *stutter* e efeito *drop-out* podem ter contribuído para o déficit de heterozigotos, no entanto não foram suficientes para uma mudança significativa dos valores de variância molecular, como também não houve correlação significativa do tamanho amostral e número de alelos.

Para os nove pares de *primers* de microssatélites estudados foram identificados 80 alelos diferentes nas 13 populações com um total de 441 indivíduos. O número total de alelos por *locus* variou de 12 (Hcat24b) a 35 (Hcat24a), com média de 24 alelos por *locus*. O *locus* Hcat6 apresentou monomorfismo para as populações RQ/SC, CxI/SC e SJA/RS e o *locus* Hcat19 para a população SJA-SR/RS. O número médio de alelos por população variou de 4,78 (CB/RS) a 9,56 (PN/SC), com média de 6,08 alelos por população (Tabela 3).

Os valores encontrado aqui são similares aos resultados obtidos por MIX et al. (2006) para a espécie europeia *H. radicata* L. com uma média de 30 alelos por *locus* (4 *loci*, 17 populações). Já LUCIO (2011) em estudos com *H. chillensis* (Kunth) Britton encontrou valores médios de 2,30 alelos por *locus* para 10 *loci* em oito populações, valores muito abaixo dos encontrados aqui. SHARMA et al. (2011) estudando a espécie *Aristida stricta* Michx. (Poaceae), uma herbácea perene das savanas, obteve uma média de 102 alelos por *locus* para oito *loci* em 10 populações, mostrando que não há um padrão no número de alelos, que varia muito entre espécies.

Tabela 3 – Estimativas de parâmetros genéticos de diversidade em nove loci de microssatélites para 13 populações de *Hypochoeris catharinensis*, sendo N: número de indivíduos por população; A: número médio de alelos por população; Ho: média de heterozigosidade observada; He: média de heterozigosidade esperada sob equilíbrio de Hardy-Weinberg; Fis: coeficiente de endogamia (*Fis no intervalo de confiança de 95%); PHW: p-valor para desvio de equilíbrio de Hardy-Weinberg com 95% de confiança; R: riqueza de alelos por população.

População	N	A	Ho	He	Fis	PHW	R
CxII/SC	32	5,33	0,392	0,371	-0,118*	0,121*	4,316
SFP/RS	28	6,00	0,381	0,520	0,208*	0,121*	5,140
RQ/SC	26	5,00	0,379	0,514	0,228*	0,223*	4,525
A-RQ/SC	32	6,56	0,399	0,457	0,022	0,124*	5,032
FSP/SC	34	5,00	0,405	0,403	-0,080*	0,224*	4,089
SJA-SR/RS	32	5,00	0,472	0,473	-0,036	0,121*	4,186
CB/RS	32	4,78	0,351	0,449	0,062*	0,002	4,129
Cd-153/SC	54	7,00	0,347	0,504	0,266*	0,001	5,007
CxI/SC	32	5,89	0,409	0,559	0,132*	0,050*	5,203
SJA/RS	30	5,56	0,404	0,479	0,005	0,003	4,758
Cd-451/SC	46	7,22	0,314	0,508	0,226*	0,000	5,282
SFP-CB/RS	27	6,22	0,275	0,495	0,327*	0,004	5,717
PN/SC	36	9,56	0,377	0,562	0,224*	0,017	7,233
Média	-	6,08	0,377	0,484	-	-	4,971

A média de heterozigosidade observada e esperada foi de 0,377 e 0,484 respectivamente, os valores de heterozigosidade observada entre as populações foram de 0,275 (SFP-CB/RS) a 0,472 (SJA-SR/RS) e a heterozigosidade esperada variou de 0,371 (CxII/SC) a 0,562 (PN/SC) (Tabela 3). A heterozigosidade observada foi menor que a esperada para a maioria das populações, com exceção de SJA-SR/RS, com valores de heterozigosidade observada e esperada similares. Enquanto na população CxII/SC e FSP/SC o valor observado foi levemente acima do esperado.

Para o coeficiente de endogamia as populações SFP/RS, RQ/SC, CB/RS, Cd-153/SC, CxI/SC, Cd-451/SC, SFP-CB/RS e PN/SC foram significativas, com valores positivos mostrando deficiência de heterozigotos ou excesso de

homozigotos, enquanto CxII/SC e FSP/SC foram significativos, com valores negativos, com excesso de heterozigotos (Tabela 3).

Hypochoeris catharinensis tem ciclo de vida curto podendo haver sobreposição de gerações, que poderia influenciar a endogamia, no entanto mudanças no tamanho populacional e subdivisões populacionais podem ser mais prováveis para explicar a endogamia nas populações, como será discutido mais adiante.

Os valores registrados para riqueza alélica variaram de 4,089 a 7,233 para FSP/SC e PN/SC respectivamente, com média de 4,971 (Tabela 3), não havendo muita discrepância de valores entre populações. Já para os *loci* a riqueza variou de 2,665 a 10,639 para Hcat6 e Hcat21, respectivamente, o *locus* Hcat6 mostra que tem alta frequência de poucos alelos, assim como os *loci* Hcat19, Hcat8 e Hcat7 que também apresentaram valores baixos (3,789; 3,884 e 4,732 respectivamente).

Em *H. radicata* a riqueza alélica foi de 3,36 (MIX et al., 2006), enquanto para *Allium sativum* L. a riqueza foi de 2,258 (CUNHA, 2011). A riqueza encontrada em *H. catharinensis* mostra que há abundância de determinados alelos nas populações, aumentando esse valor para alguns *loci*.

A riqueza alélica pode refletir mais efetivamente o potencial evolutivo em longo prazo do que a heterozigosidade, assim como pequenas mudanças e efeitos de gargalos genéticos, devido a sua maior sensibilidade. Se a população sofre um gargalo genético a riqueza tende a diminuir, além disso, seguindo o bottleneck, os alelos que tem menor frequência tornam-se menos abundantes do que alelos de frequências intermediárias (NEI; MURUYAMA; CHAKRABORTY, 1975; LEBERG, 1992; LUIKART et al., 1998; SPENCER; NEIGEL; LEBERG, 2000).

A estimativa de gargalo genético foi significativa para o modelo *Stepwise Mutation Model* (SMM) em todas as populações. Para o modelo *Two-Phase Model* (TPM) houve significância para 12 populações, com exceção de SJA-SR/RS. Em *Infinite Allele Model* (IAM) houve significância para as populações CxII/SC, A-RQ/SC, Cd-153/SC, Cd-451/SC e SFP-CB/RS (Tabela 4). IAM e SMM representam dois modelos de mutação extremos (CHAKRABORTY; JIN, 1992).

Tabela 4 – Teste de Wilcoxon para desequilíbrio de mutação-deriva, excesso/deficiência de heterozigidade, utilizando Bottleneck (LUIKART et al., 1998), para nove locos microssatélites em 13 populações de *Hypochoeris catharinensis* ($P \leq 0,05$).

Populações	I.A.M. ^a		T.P.M. ^b		S.M.M. ^c	
	H _d /H _e	P	H _d /H _e	P	H _d /H _e	P
CxII/SC	7/2	0,027*	8/1	0,006*	8/1	0,004*
SFP/RS	6/3	0,164	8/1	0,009*	8/1	0,004*
RQ/SC	6/2	0,383	8/0	0,004*	8/0	0,004*
A-RQ/SC	7/1	0,008*	7/1	0,008*	8/0	0,004*
FSP/SC	6/3	0,151	7/2	0,037*	7/2	0,014*
SJA-SR/RS	5/3	0,383	5/3	0,074	7/1	0,012*
CB/RS	6/3	0,203	7/2	0,019*	7/2	0,009*
Cd-153/SC	7/2	0,048*	8/1	0,004*	9/0	0,004*
CxI/SC	4/4	0,312	7/1	0,008*	8/0	0,004*
SJA/RS	6/2	0,074	7/1	0,012*	7/1	0,008*
Cd-451/SC	7/2	0,027*	8/1	0,004*	9/0	0,002*
SFP-CB/RS	5/4	0,027*	6/3	0,006*	7/2	0,004*
PN/SC	9/0	0,164	9/0	0,009*	9/0	0,004*

^a Infinite allele model; ^b Two-phase model; ^c Stepwise mutation model; H_d/H_e representa a razão entre o número de locos com deficiência/excesso de heterozigidade (LUIKART; CORNUET, 1998).

O excesso de heterozigidade é mais facilmente detectado em IAM do que em SMM. Se os *loci* evoluem em SMM pode-se observar tanto excesso como deficiência de heterozigotos, dependendo da variabilidade dos *loci* e do tempo passado desde o início do gargalo genético, nesse caso o excesso de heterozigidade pode ser observado quando a população começa a se expandir (LUIKART; CORNUET, 1998).

Segundo COUNUET; LUIKART (1996) a detecção do gargalo genético pode ser baseado na deficiência de alelos, se uma proporção significativamente alta de *loci* exibe deficiência de alelos. Pode-se concluir que a população não está em equilíbrio de mutação-deriva, devido a uma recente redução de seu tamanho efetivo populacional.

A deficiência de alelos e excesso ou deficiência de heterozigotos pode ocorrer depois de uma recente mudança no tamanho efetivo populacional,

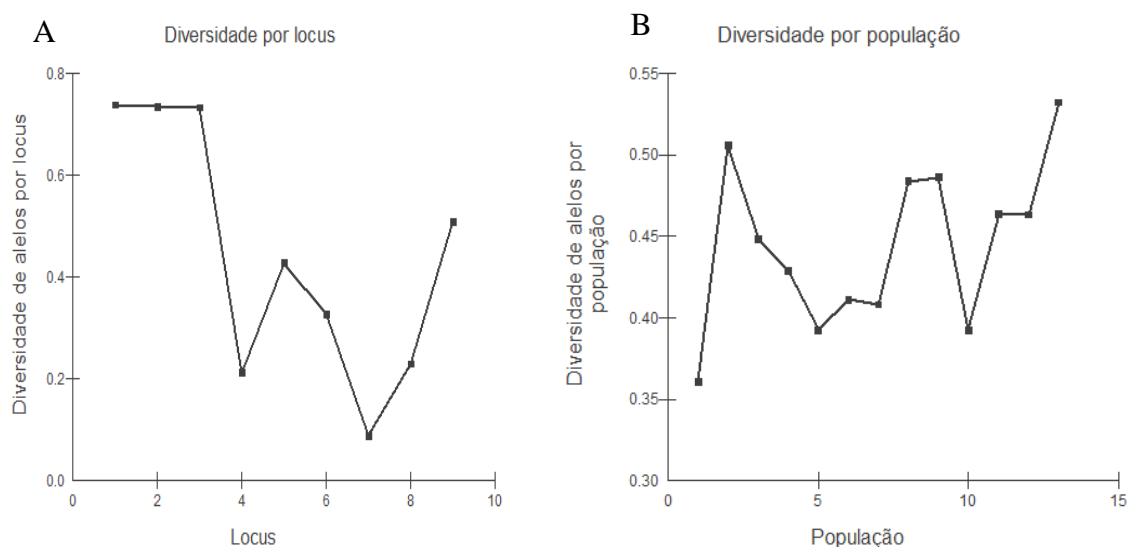
como também se a heterozigiosidade apresentar vantagem ou desvantagem para as populações (COURNUET; LUIKART, 1996).

Quando um gargalo genético ocorre em uma população e seu tamanho efetivo é significativamente reduzido, isto causa uma progressiva redução do número de alelos e da heterozigiosidade. Como pode ser visto neste trabalho, a heterozigiosidade observada foi menor que a esperada para a maioria das populações, quatro populações apresentaram monomorfismo em dois *loci*.

O modelo SMM mostra que houve efeito de gargalo genético recente para todas as populações. Estas podem estar ainda em fase de diferenciação, pois apresentam moderada diversidade de alelos tanto entre *loci* como entre as populações (Figura 3), com exceção de SFP/RS e PN/SC, que apresentaram mais de 50% de diversidade.

Os valores de riqueza alélica mostram que pode ter havido eventos fundadores, resultado da perda de alelos e aumento da frequência de poucos alelos nas populações. WADE; MCCAULEY (1988) sugerem que o decréscimo da heterozigiosidade e o aumento do nível de diferenciação é mais esperado em populações fundadas recentemente.

Figura 3 – A - Diversidade de alelos por locus e B - Diversidade de alelos por populações de *Hypochoeris catharinensis*.



A análise de variância (AMOVA) apontou para uma taxa moderada de diferenciação genética entre populações ($F_{st} = 0,134$, $P \leq 0,01$) (Tabela 5). A variabilidade genética dentro das populações foi de 86,56% e entre populações de

13,44%. Em *H. chillensis* estudos com microssatélites constataram uma diversidade entre populações de 33,37% e dentro das populações de 66,63%, com alta diferenciação populacional, $F_{st}=0,336$, e ocorrência de gargalo genético e efeito fundador (LUCIO, 2011).

Para *H. catharinensis* utilizando marcadores AFLP, foi obtido uma variabilidade de 16,36% entre populações, e 83,64% dentro de populações e a diferenciação genética ficou próxima entre os limites de alta a moderada $F_s=0,163$ (RECK, 2010), corroborando com os dados encontrados aqui utilizando microssatélites.

A alta variabilidade genética dentro das populações em *H. catharinensis* mostra uma predominância por alogamia ou um sistema misto, com mecanismos eficientes de dispersão de pólen e de propágulos (KAGEYAMA et al. 2003). O sistema de reprodução de *H. catharinensis* ainda não é conhecido.

ORTIZ et al. (2006) estudaram algumas espécies do gênero *Hypochoeris*, encontrando tanto autoincompatibilidade como autocompatibilidade nas espécies. *Hypochoeris glabra* apresentou total autocompatibilidade, ou seja, pode realizar autopolinização, enquanto *H. arachinoidea* foi totalmente autoincompatível e *H. radicata* e *H. salzmänniana* apresentaram tanto autocompatibilidade como autoincompatibilidade em suas populações.

A variabilidade genética encontrada nas populações entre os grupos definidos por região (grupo1: Cd-153/SC, Cd-451/SC, FSP/SC); (GRUPO2: A-RQ/SC, RQ/SC); (grupo3: CxI/SC, CxII/SC, PN/SC) e (grupo4: SJA/RS, SJA-SR/RS, CB/RS, SFP-CB/RS, SFP/RS) foi de 14,13%, mostrando uma variabilidade moderada e que há diferença genética entre as regiões.

Tabela 5 – Análise de variância molecular (AMOVA) em 13 populações de *Hypochoeris catharinensis* utilizando nove loci microssatélites.

Fonte de variação	GL	SQ	Componentes de Variância	% de Variação
Entre populações	12	291,901	0,32870	13,44**
Dentro populações	869	1840,335	2,11776	86,56
Dentro grupos	3	64,294	-0,02079	-0,85
Dentro populações entre grupos	9	227,607	0,34509	14,13
Dentro populações	869	1840,335	2,11776	86,56
Total	881	2132,236	2,44646	
Índice de Fixação (Fst) = 0,13436				

**P≤0.01 (significância dada pelo teste com 1023 permutações)

A ocorrência de menor variabilidade entre as populações pode indicar que houve fluxo gênico, este atua como fator homogeneizador das frequências alélicas proporcionando uma evolução conjunta, no entanto um decréscimo no fluxo gênico geraria a diferenciação genética entre as populações (MOYSÉS, 2005).

Na análise bayesiana encontramos fluxo gênico para todas as populações (Tabela 6). RQ/SC obteve o maior índice de não migrantes com 0,901 (0,836; 0,952), e uma baixa taxa de migrantes advindas de CB/RS com 0,064 (0,017; 0,127). Todavia RQ/SC também contribuiu com 84,6% de migrantes, em onze populações, com exceção de SJA-SR/RS. A segunda maior taxa de não migrantes foi em CxII/SC com 0,833 (0,675; 0,992), e 0,279 (0,219; 0,321) de migrantes da população RQ/SC.

A população de CB/RS obteve a terceira maior taxa de não migrantes com 0,711 (0,679; 0,759), e 0,255 (0,197; 0,301) de migrantes. CB/RS contribuiu com 69,23% de migrantes para nove populações. Enquanto Cd-153/SC contribuiu com 23,1% de migrantes para as populações SJA-RS, Cd-451/SC e PN/SC.

A significância positiva do efeito gargalo genético, endogamia e perda de alelos com diminuição da heterozigosidade indicam que houve uma redução de tamanho populacional e posterior evento fundador em *H. catharinensis*,

seguindo para um progresso no sentido de equilíbrio. A alta variabilidade dentro das populações e alta taxa de fluxo gênico podem ter atenuado os efeitos da endogamia e gargalo genético.

O fluxo gênico e a moderada diferenciação e variabilidade entre populações encontradas aqui apontam para uma estruturação das populações, sugerindo fluxo gênico durante a colonização com posterior decréscimo ou uma subdivisão populacional, com evolução recente de *H. catharinensis*, concordando com os dados discutidos anteriormente para populações fundadas recentemente.

Rancho Queimado/SC e Cambará/RS contribuíram com grande parte do fluxo gênico, o que pode indicar que a espécie *H. catharinensis* pode ter surgido na região de Rancho Queimado/SC. Através de subdivisões e/ou fluxo gênico ela teria se dispersado fundando outras populações, entre elas CB/RS, que também pode ter contribuído para fundação de populações próximas a Cambará/RS.

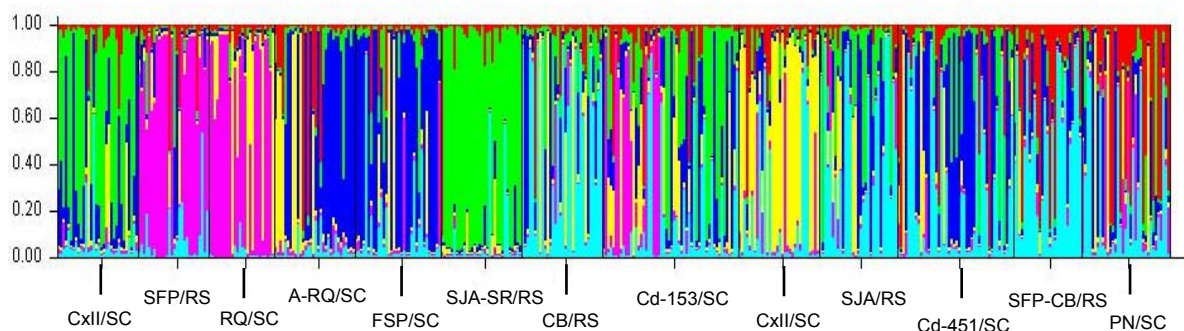
A Serra do Mar tem seus limites na Floresta Ombrófila Densa e parte dos campos de altitude (RBMA, 2013). Rancho Queimado fica entre os limites da escarpa da Serra Geral e da Serra do Mar, a menor altitude (699m) onde encontramos *H. catharinensis*. Essa região forma uma ponte entre a Serra de Santa Catarina e a Serra do Rio Grande do Sul, o que pode ajudar a entender porque RQ/SC tem migrantes em tantas populações. Em direção ao Rio Grande do Sul faz contato primeiro com CB/RS, o que pode explicar RQ/SC ter migrantes de CB/RS e vice-versa.

Tabela 6 – Médias e intervalo de confiança a 95% (IC) das distribuições de proporção de indivíduos não-migrantes e migrantes para 13 populações de *Hypochaeris catharinensis*, com base no método de atribuição bayesiana de Wilson e Rannala (2003) em BAYESASS.

Populações	Não-migrantes (95% IC)	Migrantes (95% IC)
CxII/SC	0,833 (0,675; 0,992)	RQ/SC 0,279 (0,219; 0,321)
SFP/RS	0,677 (0,666; 0,707)	RQ/SC 0,262 (0,195; 0,312)
RQ/SC	0,901 (0,836; 0,952)	CB/RS 0,064 (0,017; 0,127);
A-RQ/SC	0,676 (0,666; 0,702)	RQ/SC 0,207 (0,141; 0,273); CB/RS 0,078 (0,029; 0,138);
FSP/SC	0,676 (0,667; 0,701)	RQ/SC 0,277 (0,224; 0,317); CB/RS 0,021 (0,002; 0,057)
SJA-SR/RS	0,675 (0,666; 0,701)	Cd-153/SC 0,288 (0,235; 0,325)
CB/RS	0,711 (0,679; 0,759)	RQ/SC 0,255 (0,197; 0,301)
Cd-153/SC	0,678 (0,666; 0,715)	RQ/SC 0,289 (0,243; 0,322); CB/RS 0,014 (0,000; 0,0430)
CxI/SC	0,676 (0,667; 0,702)	RQ/SC 0,090 (0,037; 0,154); CB/RS 0,193 (0,124; 0,259)
SJA/RS	0,677 (0,666; 0,704)	RQ/SC 0,255 (0,188; 0,307); CB/RS 0,038 (0,005; 0,094)
Cd-451/SC	0,674 (0,666; 0,695)	RQ/SC 0,263 (0,214; 0,308); CB/RS ; Cd-153/SC 0,015 (0,002; 0,046)
SPF-CB/RS	0,678 (0,666; 0,709)	RQ/SC 0,264 (0,196; 0,315); CB/RS 0,022 (0,001; 0,063)
PN/SC	0,675 (0,666; 0,698)	RQ/SC 0,242 (0,174; 0,301); CB/RS 0,033 (0,006; 0,079); Cd-153/SC 0,021 (0,000; 0,070)

Na estimativa do número de possíveis agrupamentos populacionais pela análise bayesiana encontrou-se um $k=3$ (figura 4). Há formação de um grupo na região central da Serra Gaúcha e Catarinense, um segundo na região da escarpa da Serra Geral e do Mar e um terceiro na parte setentrional de Santa Catarina. Possivelmente a geografia da região ajudou a moldar esses agrupamentos.

Figura 4 – Agrupamentos (k=3) formados por análise de estrutura populacional em treze populações analisadas de *Hypochoeris catharinensis*.



A falta de conhecimento sobre o histórico de tamanho populacional e níveis de variação genética, dificultam o esclarecimento real das populações que sofreram um recente gargalo genético (LUIKART; COURNUET, 1998). No entanto, dados históricos ambientais podem contribuir para o entendimento da estruturação genética de *H. catharinensis*. Estudos paleoecológicos vêm tentando reconstruir a situação climática e vegetacional dos campos principalmente no período Pleistocênico e Holocênico.

BEHLING et al. (2004) têm comprovado que existiam extensas áreas de vegetação campestre sobre os Planaltos Sul Brasileiros durante as épocas glaciais e do Holoceno Inferior e Médio. A dominância de uma vegetação de campos é atribuída às condições glaciais frias e secas e às condições climáticas quentes e secas do Holoceno superior. A expansão da Floresta decorreu do gradativo aumento da pluviosidade durante o Quaternário Tardio (RAMBO, 1954, 1956), onde a floresta começou a avançar sobre a região dos campos, formando mosaicos de campos entrecortados por florestas.

Registros dos Campos da Serra Geral no Paraná e Rio Grande do Sul demonstram que o fogo era raro durante épocas glaciais e tiveram pouco efeito sobre os campos nesse período (BEHLING 1997, BEHLING et al. 2004). Um claro aumento na frequência de fogo foi encontrado a partir do início do Holoceno, no entanto a cerca de 4.000 A.P.(antes do presente) o fogo tornou-se menos frequente novamente devido à predominância de florestas.

A diversificação das formações florestais por volta de 1.574 ± 42 anos A.P. e o aumento de fitoclastos mostram que o fogo pode ter contribuído para mudanças na vegetação. No período recente a diversidade da vegetação herbácea declinou suportada pelo desaparecimento de registros palinológicos de

Alternanthera Forssk., *Diodia* L., *Hypochaeris*, *Lathyrus* L., *Mutisia* L.F., *Trixis* P. Browne e *Verbena* L., provavelmente, devido à atividade humana de criação de gado (BAUERMANN et al., 2008).

A redução das áreas de campos, com formações de mosaicos podem ter contribuído para a redução do fluxo gênico e do tamanho e subdivisão populacional em *H. catharinensis*. A expansão da Floresta de Araucária sobre os campos nos últimos 70 anos está claramente relacionada ao decréscimo do fogo, que manteve e ainda mantém uma estabilidade entre os mosaicos de campo e floresta (BEHLING et al., 2009). O fogo tanto natural como por ação antrópica juntamente com as atividades de pastoreio e silvicultura (*Pinus* sp. tem registros em torno de 130 A.P.), também podem ter influenciado a dinâmica genética das populações.

Todas as áreas de coleta deste trabalho eram utilizadas para atividades de pecuária, em algumas áreas adjacentes havia produção agrícola, sendo que em duas das áreas de coletas havia sinais de queimadas (SJA/RS e SFP-CB/RS) nas quais se detectou gargalo genético.

A possível subdivisão populacional pode ser relacionada com os valores de F_{st} par a par que variaram de 0,0324 entre as populações de SJA-SR/RS e RQ/SC, distantes 174,83km, a 0,3645, entre as populações de FSP/SC e A-RQ/SC, distantes 198,95km (Tabela 7). O teste de correlação de Pearson não mostrou correlação significativa ($r = -0,6205$; $P = 0,1887$), entre distância genética e geográfica (Figura1).

As distâncias geográficas não foram suficientes para causar um aumento nas distâncias genéticas entre populações. A população de RQ/SC e CB/RS formam um grupo, contribuindo com fluxo para todas as regiões, já as demais populações há uma relação complexa, onde não se pode definir limites de grupos para as populações. A variabilidade genética entre as populações de grupos delimitadas pelas regiões mostra uma diferenciação entre os grupos das quatro regiões definidas anteriormente (Tabela 5). Isto valida à hipótese de subdivisões populacionais por expansões florestais sobre os campos, com posterior diminuição do fluxo genético proporcionando um aumento da diferenciação entre populações e entre os grupos de populações das diferentes regiões.

Tabela 7 – Distância geográfica em km das populações estudadas, acima da diagonal, e valores de Fst par a par das populações de *Hypochoeris catharinensis* abaixo da diagonal. Valores significativos P=0,01 dada por 1023 permutações.

População	Cxii/SC	SFP/RS	RQ/SC	A-SC	FSP/SC	SJ A-SR/RS	CB/RS	Cd-153/SC	Cxi/SC	SJA/RS	Cd-451/SC	SFP-CB/RS	PN/SC
Cxii/SC	*****	129	161	163,8	157	88,	105,	205,	12,2	82,4	200	119,	51,80
			,55	3		25	68	87	8	0		74	
SFP/RS	0,23	*****	158	244,7	281,	71,	37,0	324,	142,	80,0	312,	19,5	174,19
	51		,21	0	87	51	9	53	60	6	38	6	
RQ/SC	0,28	0,02	****	3,71	198,	174	207,	274,	159,	165,	268,	228,	118,12
	02	67	*		82	,83	77	13	87	81	68	22	
A-	0,06	0,16	0,2	****	198,	181	215,	274,	164,	175,	268,	236,	124,02
RQ/SC	52	06	056		95	,67	61	50	44	03	39	14	
FSP/SC	0,06	0,21	0,2	0,032	*****	240	260,	76,5	145,	233,	70,4	275,	130,54
	05	43	626	4		,45	07	4	16	68	3	88	
SJA-	0,20	0,30	0,3	0,217	0,20	****	34,8	292,	98,3	8,35	286,	53,0	118,84
SR/RS	01	88	645	4	90	*	9	12	3		26	9	
CB/RS	0,04	0,19	0,2	0,068	0,06	0,1	*****	306,	116,	40,9	299,	19,6	1443
	16	96	439	5	03	753		51	68	8	63	9	
Cd-	0,05	0,13	0,2	0,035	0,04	0,1	0,04	*****	195,	288,	9,47	319,	192,46
153/SC	08	32	439	5	61	797	82		37	43		76	
Cxi/SC	0,21	0,13	0,1	0,135	0,20	0,2	0,17	0,12	*****	93,3	186,	130,	44,85
	84	94	721	3	02	891	61	22		1	63	44	
SJA/RS	0,05	0,13	0,2	0,064	0,03	0,1	0,04	0,03	0,15	*****	279,	62,4	109,42
	37	94	607	1	55	711	35	84	99		70	4	
Cd-	0,04	0,18	0,2	0,061	0,04	0,1	0,03	0,05	0,16	0,04	*****	310,	185,73
451/SC	73	70	283	9	72	874	33	59	74	82		84	
SFP-	0,15	0,25	0,3	0,139	0,13	0,1	0,09	0,14	0,22	0,11	0,09	*****	160,49
CB/RS	07	19	064	4	07	851	22	51	36	88	46		
PN/SC	0,06	0,15	0,1	0,036	0,05	0,1	0,04	0,05	0,15	0,06	0,03	0,09	*****
	86	57	986	1	77	815	36	04	06	92	27	66	

3.5 CONCLUSÃO

A taxa moderada de variabilidade genética entre populações, presença de endogamia, deficit de heterozigosidade e efeito gargalo genético apontaram para um efeito fundador que proporcionou a formação de populações de *H. catharinensis* com tamanho efetivo reduzido. Essa redução pode ter se dado pela retração da região dos campos por expansões florestais ocorridas durante o Quaternário até o recente, com um decréscimo do fluxo gênico e aumento da diferenciação entre populações e entre os grupos de populações das diferentes regiões.

A reprodução cruzada e as altas taxas de migração contribuíram para que os valores de variabilidade genética não fossem reduzidos dentro das populações. O fluxo gênico e a análise de agrupamentos, mostram que *H. catharinensis* pode ter surgido na região de Rancho Queimado, em Santa Catarina, migrando para outras áreas, com formação de três agrupamentos, um na região central entre a Serra de Santa Catarina e Rio Grande do Sul, outro na escarpa entre as escarpas da Serra do Mar e Serra Geral e um terceiro na parte setentrional da Serra Catarinense.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AYRES, M.; AYRES, J.R.M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. **Bioestat: 2,0 – aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológica e médicas**. Sociedade Civil, Mamirauá, Belém. 2007.
- BAUERMANN, S.G.; MACEDO, R.B.; BEHLING, H.; PILLAR, V.; NEVES, P.C.P. Dinâmicas vegetacionais, climáticas e do fogo com base em palinologia e análise multivariada no quaternário tardio do sul do Brasil. **Revista brasileira de paleontologia** 11(2): 87-96. 2008.
- BEHLING, H. Late Quaternary vegetation, climate and fire history in the *Araucaria* forest and campos region from Serra Campos Gerais (Paraná), Brazil. **Review of Palaeobotany and Palynology** 97: 109–121. 1997.
- BEHLING, H.; PILLAR, V.D.; ORLÓCI, L.; BAUERMANN, S.G. Late Quaternary *Araucaria* forest, grassland (Campos), fire and climate dynamics, studied by high-resolution pollen, charcoal and multivariate analysis of the Cambará do Sul core in southern Brazil. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology** 203: 277-297. 2004.
- BEHLING, H.; JESKE-PIERUSCHKA, V.; SCHÜLER, L.; PILLAR, V.P. Dinâmica dos campos no sul do Brasil durante o Quaternário Tardio. In: **Campos Sulinos- conservação e uso sustentável da biodiversidade**, PILLAR, V.P.; MÜLLER, S.C.; CASTILHOS, Z.M.S.; JACQUES, A.V.A. Brasília: MMA. 2009. 403 p.
- BRUFORD, M.W.; WAYNE, R.K. Microsatellites and their application to populations genetics studies. **Current Opinion Genetic & Development** 3: 939-943. 1993.
- CABRERA, A.L. Estudios sobre o gênero *Hypochaeris*. **Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica** 10: 166-195. 1963.
- CABRERA, A.L.; WILLINK, A. **Biogeografia da América Latina**. Wachington DC, Org. dos Estados Unidos (Monografia nº 13). 1980.
- CAVALLI, S.S.; WINGE, H. Variabilidade genética em populações naturais. In: FREITAS, L.B.; BERED, F. **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre: UERGS, 165-176. 2003.
- CERBAH, M.; COULAUD, J.; SILJAK-YAKOVLEV, S. Evolutionary DNA variation in the genus *Hypochaeris*. **Heredity** 82: 261-266. 1998.
- CHAKRABORTY, R.; JIN, L. Heterozygote deficiency, population substructure and their implications in DNA fingerprinting. **Human Genetic** 88(3): 267–272. 1992.
- CORNUET, J.M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics** 144: 2001-2014. 1996.

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

CUNHA, C.P. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites e caracterização da diversidade genética molecular de acessos de alho (*Allium sativum* L.)**. 2011. 92p. Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas. Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. 2011.

EVANO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology** 14:2611-2620. 2005.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin vers, 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolution Bioinformatics Online** 1:47-50. 2005.

GOUDET, J. **FSTAT: a program to estimate and test diversities and fixation indices (version 2.9.3.2)**. Lausanne: University of Lausanne, Department of Ecology & Evolution. Disponível em: <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Acesso: 15/03/ 2011.

HUBISZ, J.M.; FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J.K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. **Molecular Ecology Resources** 9: 1322-1332. 2009.

KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M.; RIBAS, L.A.; GANDARA, F.B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M.B.; VENCOVSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Florestalis** 64: 93-107. 2003.

KARLSSON, S.; MORK, J. Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium, and temporal instability in allele frequencies at microsatellite loci in a local population of Atlantic cod, *ICES*. **Journal of Marine Science** 62(8): 1588-1896. 2005.

LANE, M. Pollination biology of Compositae. In: CALIGARI & HIND. Compositae: Biology and Utilization, Kew. **Royal Botanical Gardens** 2: 61-80. 1996.

LEBERG, P.L. Effects of population bottlenecks on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. **Evolution** 46: 477- 494. 1992.

LI, Q.; PARK, C.; KOBAYASHI, T.; KIJIMA, A. Inheritance of microsatellite DNA markers in the Pacific abalone *Haliotis discos hannai*. **Marine Biotechnology** 3: 331-338. 2003.

LUCIO, K.C.F. **Estudos genéticos em populações da espécie *Hypochoeris chillensis* (Asteraceae) utilizando marcadores microssatélites**. 2011. 101p. Dissertação de Mestrado em Genética e Biologia Molecular. Universidade Estadual de Londrina. Londrina – PR. 2011.

LUIKART, G.; ALLENDORF, F.W.; CORNUET, J.M.; WILLIAM, B.S. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottleneck. **Journal of Heredity** 89(3): 238-247. 1998.

- LUIKART, G.; CORNUET, J.M. Empirical Evaluation of a Test for Identifying Recently Bottleneck Populations from Allele Frequency Data. **Conservation Biology** 12: 228-237. 1998.
- MIX, C.; ARENS, P.F.P.; RENGELINK, R.; SMULDERS, M.J.M.; GROENENDAEL, J.M.V.; OUBORG, N.J. Regional gene flow and population structure of the wind-dispersed plant species *Hypochaeris radicata* (Asteraceae) in an agricultural landscape. **Molecular Ecology** 15:1749-1758. 2006.
- MOYSÉS, C.B. **Diversidade genética, estrutura populacional e análises filogenéticas no gênero *Eigenmannia* (Pisces: Gymnotiformes) São Paulo.** 2005. 216p. Tese de Doutorado em Ciências Biológicas. Universidade de São Paulo. São Paulo-SP. 2005.
- NEI, M.; MARUYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. Bottleneck effect and genetic variability in populations. **Evolution** 29: 1-10. 1975.
- NETTANCOURT, De. **Incompatibility in Angiosperms.** Springer Verlag, Berlin. 1977. 230p.
- ORTIZ, M.A.; TALAVERA, S.; GARCÍA-CASTAÑO, J.L.; TREMETSBERGER, K.; STUESSY, T.; BALAO, F.; CASIMIRO-SORIGUER, R. Self-incompatibility and floral parameters in *Hypochaeris* sect. *Hypochaeris* (Asteraceae). **American Journal of Botany** 93(2): 234–244. 2006.
- PIRY, S.; LUIKART, G.; CORNUET, J.M. Bottleneck: a program for detecting recent effective population size reductions from allele frequency data. **Journal of Heredity** 90: 502-503. 1999.
- RAMBO, B. Análise histórica da flora de Porto Alegre. **Sellowia** 6: 9-112. 1954.
- RAMBO, B. A flora fanerogâmica dos aparados Riograndenses. **Sellowia** 7: 235-298. 1956.
- RBMA (reserva da biosfera da mata atlântica). Disponível em: http://www.rbma.org.br/anuario/mata_06_smar_varias.asp. Acessado em: 17/01/2013.
- RECK, M. **Estudos moleculares em *Hypochaeris catharinensis* Cabrera (Asteraceae) utilizando marcadores AFLP.** 2010. 77p. Dissertação de Mestrado em Genética e Biologia Molecular. Universidade Estadual de Londrina- Londrina-PR. 2010.
- RUAS, C.F.; WEISS-SCHNEEWEISS, H.; STUESSY, T.F.; SAMUEL, M.R.; PEDROSA-HARAND, A.; TREMETSBERGER, K.; RUAS, P.M.; SCHLÜTER, P.M.; ORTIZ, H.M.A.; KÖNIG, C.; MATZENBACHER, N.I. Characterization, genomic organization and chromosome distribution of Ty1-copia retrotransposons in species of *Hypochaeris* (Asteraceae). **Gene** 412(1-2): 39-49. 2008.
- SAMUEL, R.; STUESSY, T.F.; TREMETSBERGER, K.; BAEZA, C.M.; SILJAK-YAKOVLEV, S. Phylogenetic relationships among species of *Hypochaeris*

(Asteraceae, Cichorieae) based on ITS, plastid *trnL* intron, *trnL-F* spacer, and *matK* sequences. **American Journal of Botany** 90: 496–507. 2003.

SHARMA, J.; GEORGE, S.; PANDEY, M.; NORCINI, J.; PEREZ, H. Genetic differentiation in natural populations of a Keystone Bunchgrass (*Aristida stricta*) across its native range. **Genetica** 139(2): 261-71. 2011.

SPENCER, C.C.; NEIGEL, J.E.; LEBERG, P.L. Experimental evaluation of the usefulness of microsatellite DNA for detecting demographic bottleneck. **Molecular Ecology** 9: 1517–1528. 2000.

TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution** 28: 2731-2739. 2011.

TREMETSBERGER, K.; STUESSY, T.F.; SAMUEL, A.M.; BAEZA, C.M.; FAY, F.M. Genetics of colonization in *Hypochaeris tenuifolia* (Asteraceae, Lactuceae) on Volcán Lonquimay, Chile. **Molecular Ecology** 12: 2649–2659. 2003.

TREMETSBERGER, K.; WEISS-SHNEEWEISS, H.; STUESSY, T.; SAMUEL, R.; KADLEC, G.; ORTIZ, M.A.; TALAVERA, S. Nuclear ribosomal DNA and karyotypes indicate a NW African origin of South American *Hypochaeris* (Asteraceae, Cichorieae). **Molecular Phylogenetic Evolution** 35: 102–116. 2005.

TREMETSBERGER, K.; STUESSY, T.; KADLEC, G.; URTUBEY, E.; BAEZA, C.M.; BECK, S.G.; VALDEBENITO, H.A.; RUAS, C.F.; MATZENBACHER, N.I. AFLP Phylogeny of South American Species of *Hypochaeris* (Asteraceae, Lactuceae). **Systematic Botany** 31: 610-626. 2006.

VAN OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W.F.; WILLS, D.P.M.; SHIPLEY, P. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes** 4: 535–538. 2004.

VELOSO, H.P.; GÓES-FILHO, L. Fitogeografia Brasileira, Classificação Fisionômico-Ecológica da Vegetação. **Boletim Técnico Projeto RADAMBRASIL**. Série Vegetação 1: 1-82. 1982.

WADE, M.J.; MCCAULEY, D. E. Extinction and recolonization: Their effects on the genetic differentiation of local populations. **Evolution** 42: 995- 1005. 1988.

WEISS-SCHNEEWEISS, H.; TREMETSBERGER, K.; SCHNEEWEISS, G.M.; PARKER, J.S.; STUESSY, T.F. Karyotype diversification and evolution in diploid and polyploid South American *Hypochaeris* (Asteraceae) inferred from rDNA localization and genetic fingerprint data. **Annual Botany** 101: 909-918. 2008.

WILSON, G.A.; RANNALA, B. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. **Genetics** 163: 1177-1191. 2003.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS GERAIS

ADAMS, R.I.; BROWN, K.M.; HAMILTON, M.B. The impact of microsatellite electromorph size homoplasy on multilocus population structure estimates in a tropical tree (*Corythophora alta*) and an anadromous fish (*Morone saxatilis*). **Molecular Ecology Notes** 19: 2579–2588. 2004.

ALVES, R.M., **Caracterização genética de populações de cupuaçuzeiro, *Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex. Spreng.) Schum. por marcadores microssatélites e descritores botânico-agronômicos.** 2002. 146p. Tese de Doutorado em Energia Nuclear na Agricultura. Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. 2002.

ALTUKHOV, Y.P.; SALMENKOVA, E.A. DNA polymorphism in population genetics. **Russian Journal of Genetics** 38: 989-1008. 2002.

APG III (Angiosperm Phylogeny Group). An update of the Angiosperm Phylogeny Group for the orders and families of flowering plants: APG III. **Botanical Journal of the Linnean Society Londres** 161: 105-121. 2009.

ARISTA, M.; TALAVERA, S.; ORTIZ, P. Notas cariológicas sobre algunas compuestas de Andalucía. **Acta Botánica Malacitana** 20: 37-42. 1995.

ASTENRATH, S. **Climate dynamics of the tropics.** Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Boston, London. 1991. 488p.

AZEVEDO-GONÇALVES, C.F.; MATZENBACHER, N.I. Três híbridos naturais no gênero *Hypochoeris* L. (Asteraceae) no Sul do Brasil. **Hoehnea** 32: 361-368. 2007.

AYRES, M.; AYRES, J.R.M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.S. **Bioestat: 2,0 – aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológica e médicas.** Sociedade Civil, Mamirauá, Belém. 2007.

BARREIRA, S. **Diversidade genética em população natural de *Eremanthus erythropappus* (DC.) MacLeisch como base para o manejo florestal.** 2005. 73p. Tese de Doutorado em Recursos Vegetais – Universidade de São Paulo, Piracicaba, São Paulo. 2005.

BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiospermas no Brasil. Subclasse VI: Asteridae.** Viçosa-MG. 1991. 326p.

BAUERMANN, S.G.; MACEDO, R.B.; BEHLING, H.; PILLAR, V.; NEVES, P.C.P. Dinâmicas vegetacionais, climáticas e do fogo com base em palinologia e análise multivariada no quaternário tardio do sul do Brasil. **Revista brasileira de paleontologia** 11(2): 87-96. 2008.

BEHLING, H. Late Quaternary vegetation, climate and fire history in the *Araucaria* forest and campos region from Serra Campos Gerais (Paraná), Brazil. **Review of Palaeobotany and Palynology** 97: 109-121. 1997.

BEHLING, H.; PILLAR, V.D.; ORLÓCI, L.; BAUERMANN, S.G. Late Quaternary

Araucaria forest, grassland (Campos), fire and climate dynamics, studied by high-resolution pollen, charcoal and multivariate analysis of the Cambará do Sul core in southern Brazil. **Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology** 203: 277-297. 2004.

BEHLING, H.; JESKE-PIERUSCHKA, V.; SCHÜLER, L.; PILLAR, V.P. Dinâmica dos campos no sul do Brasil durante o Quaternário Tardio. In: **Campos Sulinos-conservação e uso sustentável da biodiversidade**, PILLAR, V.P.; MÜLLER, S.C.; CASTILHOS, Z.M.S.; JACQUES, A.V.A. Brasília: MMA. 2009. 403p.

BOHLMANN, F.; BURKHARDT, T.; ZDERO, C. **Naturally occurring Acetylenes**. London/New York. Academic Press. 1973. 547p.

BREMER, K. **Asteraceae, cladistics and classification**. Portland: Timber Press. 1994. 462p.

BREMER, K.; GUSTAFSSON, M.H.G. East Gondwana ancestry of the sunflower alliance of families. **Proceedings of the National Academy Science USA** 94: 9188-9190. 1997.

BREMER, K.; FRIIS, E.M.; BREMER, B. Molecular phylogenetic dating of asterid flowering plants shows Early Cretaceous diversification. **Systematic Biology** 53: 496-505. 2004.

BRIGGS, J.C. Centrifugal speciation and centres of origin. **Journal of Biogeography** 27(5): 1183-1188. 2000.

BRUFORD, M.W.; WAYNE, R.K. Microsatellites and their application to populations genetics studies. **Current Opinion Genetic & Development** 3: 939-943. 1993.

CABRERA, A.L. Estudios sobre o gênero *Hypochoeris*. **Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica** 10: 166-195. 1963.

CABRERA, A.L. Materiales para una revisión del género *Hypochoeris*. **Darwiniana** 20: 312-322. 1976.

CABRERA, A.L.; WILLINK, A. **Biogeografía da América Latina**. Washington DC. Org. dos Estados Unidos. 1980.

CAIXETA, E.T.; OLIVEIRA, A.C.B.; BRITO, G.G.; SAKIYAMA, N.S. Tipos de Marcadores Moleculares. In: BOREM, A.; CAIXETA, E.T. **Marcadores Moleculares** Viosa, MG. 2006. 374p.

CANCELLI, R.R.; EVALDT, A.C.P.; BAUERMANN, S.G. Contribuição à morfologia polínica da família Asteraceae Martinov. No Rio Grande do Sul. **Pesquisa Botânica** 58: 347-374. 2007.

CAVALLI, S.S.; WINGE, H. Variabilidade genética em populações naturais. In: FREITAS, L.B.; BERED, F. **Genética e evolução vegetal**. Porto Alegre: UERGS. 165-176. 2003.

- CERBAH, M.; COULAUD, J.; BROWN, S.C.; SILJAK-YAKOVLEV, S. Evolutionary DNA variation in the genus *Hypochaeris* (Asteraceae). **Heredity** 82: 261-266. 1999.
- CERBAH, M.; COULAUD, J.; SILJAK-YAKOVLEV, S. Evolutionary DNA variation in the genus *Hypochaeris*. **Heredity** 82: 261-266. 1998.
- CERBAH, M.; SOUZA-CHIES, T.; JUBIER, M.F.; LEJEUNE, B.; SILJAK-YAKOVLEV, S. Molecular phylogeny of the genus *Hypochaeris* using internal transcribed spacers of nuclear rDNA: inference for chromosomal evolution. **Molecular Biology and Evolution** 15: 345–354. 1998.
- CERBAH, M.; COULAUD, J.; GODELLE, B.; SILJAK-YAKOVLEV, S. Genome size, fluorochrome banding and karyotype evolution in some *Hypochaeris* species, **Genome** 38: 689-695. 1995.
- CHAKRABORTY, R.; JIN, L. Heterozygote deficiency, population substructure and their implications in DNA fingerprinting. **Human Genetic** 88(3): 267–272. 1992.
- CHASE, M.; KESSELI, R.; BAWA, K. Microsatellite markers for population and conservation genetics of tropical trees. **American Journal of Botanical** 83: 51-57. 1996.
- COLES, J.F.; FOWLER, A.D. A inbreeding in neighboring trees in two White Spruce population. **Silvae Genetica** 25: 29-34. 1976.
- CORNUET, J.M.; LUIKART, G. Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. **Genetics** 144: 2001-2014. 1996.
- CRONQUIST, A. On the taxonomic significance of secondary metabolites in angiosperms. **Plant Systematic Evolution supplements** 1:179-189. 1977.
- CRONQUIST, A. **An integrated system of classification of flowering plant**. New York: Columbia University Press. 1981. 1262p.
- CPRM (Serviço Geológico do Brasil). **Excursão virtual aos aparados da serra – RS : Aspectos geológicos e turísticos Cânions do Itaimbezinho e Fortaleza**. 2004. Disponível em: <http://www.cprm.gov.br/Aparados/index.htm>. Acessado em: 10-09-2012.
- CRUMPACKER, D.W. Genetic loads in maize (*Zea mays* L.) and other cross-fertilized plants and animals. **Evolutionary biology** 1: 306-424. 1967.
- CUNHA, C.P. **Desenvolvimento de marcadores microssatélites e caracterização da diversidade genética molecular de acessos de alho (*Allium sativum* L.)**. 2011. 92p. Dissertação de Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas. Universidade de São Paulo, Piracicaba-SP. 2011.
- DEBAT, V.; DAVID, P. Mapping phenotypes: canalization, plasticity and developmental stability. **Trends in Ecology & Evolution** 16: 555-561. 2001.

DINIZ-FILHO, J.A.F. Phylogenetic autocorrelation under distinct evolutionary processes. **Evolution** 55: 1104-1109. 2001.

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

ELLEGREN, H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. **Nature Reviews Genetics** 5: 435-445. 2004.

ELLEGREN, H. Microsatellite mutations in the germline; implications for evolutionary inference. **Trends in Genetics** 16: 551-558. 2000.

ESTOUP, A.; JARNE, P.; CORNUET, J.M. Homoplasmy and mutation model at microsatellite loci and their consequences for population genetics analysis. **Molecular Ecology** 11: 1591-1604. 2002.

EVANO, G.; REGNAUT, S.; GOUDET, J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. **Molecular Ecology** 14: 2611-2620. 2005.

EXCOFFIER, L.; LAVAL, G.; SCHNEIDER, S. Arlequin vers. 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. **Evolution Bioinformatics Online** 1: 47-50. 2005.

FELSENSTEIN, J. Phylogenies and the comparative method. **American Naturalist** 125: 1-15. 1985.

FERREIRA, W.C.; GRATTAPAGLIA, D. **Introdução ao uso de marcadores moleculares em análise genética**. Brasília: EMBRAPA-CENARGEN. 1998. 220p.

FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L.; DIETRICH, S.M.S.; CHU, E.P.; CARVALHO, M.A.M.; VIEIRA, C.C.J.; GRAZIANO, T.T. Reserve carbohydrates in underground organs of native Brazilian plants. **Revista Brasileira de Botânica** 9: 159-166. 1986.

FINNEGAN, E.J. Epialleles—a source of random variation in times of stress. **Current Opinion in Plant Biology** 5(2): 101-106. 2002.

FIORIN, F.G. **Estrutura cariotípica de duas espécies de *Hypochaeris* (*H. catharinensis* e *H. lutea*), Asteraceae endêmica do Sul do Brasil**. 2008. 64p. Dissertação de Mestrado em Genética e Biologia Molecular. Universidade Estadual de Londrina. Londrina-PR. 2008.

FREIMER, N.B.; SLATKIN, M. Evolution and Mutational processes. **Variation in the Human Genome Ciba Foundation Symposia** 197: 51-67. 1996.

FUNK, V.A.; BAYER, R.J.; KEELEY, S.; CHAN, R.; WATSON, L.; GEMEINHOLZER, B.; SCHILLING, E.; PANERO, J.L.; BALDWIN, B.G.; GARCIA-JACAS, N.; SUSANNA, A.; JANSEN, R.K. Everywhere but Antarctica: using a supertree to understand the diversity and distribution of the Compositae. **Biology Skripsi** 55: 343-374. 2005.

FUTUYMA, D.J. **Biologia evolutiva**. Ribeirão Preto-SP. 1992. 646p.

GOLDSTEIN, D.B.; LINARES, A.R.; CAVALLI-SFORZA, L.L.; FELDMAN, M.W. An evaluation of Genetic Distances for use with Microsatellite loci. **Genetics** 139: 463-471. 1995.

GOUDET, J. **FSTAT: a program to estimate and test diversities and fixation indices (version 2.9.3.2)**. Lausanne: University of Lausanne, Department of Ecology & Evolution. Disponível em: <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html>. Acesso: 15/03/ 2011.

GRANVILLE, J.J. Monocotyledons and pteridophytes indicators of environmental constraints in the tropical vegetation. **Candollea** 39: 265-269. 1984.

GUERRA, A.J.T.; BOTELHO, R.G.M. Características e propriedades dos solos relevantes para os estudos Pedológicos e análises dos processos erosivos. **Anuário do Instituto de Geociências** 19: 93-114. 1996.

GUPTA, P.K.; BALYAN, H.S.; SHARMA, P.C.; RAMESH, B. Microsatellites in plants: a new class of molecular markers. **Current Science** 70: 45-54. 1996.

HAMRICK, J.L. Plant evolution genetics and evolution. **American Journal of Botany** 69: 1685-1693. 1982.

HAMRICK, J.L. The distribution of genetic variation within and among natural plant population. In: SCHONE-WALD-COX, C.M.; CHAMBERS, S.H.; MACBYDE, B.; THOMAS, L. **Genetics and conservation**. Menlo Park: Benjamin Cummings. 1983. 335-348p.

HARTL, D.L.; CLARK, A.G. **Principion of population genetics**. Sunderland: Sinauer Associates. 1997. 542p.

HASTENRATH, S. **Climate Dynamics of tropics**. Kluwer, Dordrecht. 1991. 488p.

HENDRY, G.A.F. Evolutionary origins and natural functions of fructans – a climatological, biogeographic and mechanistic appraisal. **New Phytologist** 123: 3-14. 1993.

HENDRY, G.A.F.; WALLACE, R.K. The origin, distribution and evolutionary significance of fructans. In: SUZUKI, M.; CHATTERTON, N.J. **Science and Technology of Fructans**. Boca Raton: CRC Press. 1993. 119-139p.

HOEKSTRA, J.M.; BOUCHER, T.M.; RICKETTS, T.H.; ROBERTS, C. Confronting a biome crisis: global disparities of habitat loss and protection. **Ecology Letters** 8: 23-29. 2005.

HOLMES, W.C. A proposed sectional classification for *Mikania* (*Eupatorieae*). In: Hind, D.J.N.; Beentje, H.J. *Compositae: Systematics, Proceedings of the International Compositae Conference*, Kew. 1994. **Royal Botanic Gardens** 1: 621-626. 1996.

HUBISZ, J.M.; FALUSH, D.; STEPHENS, M.; PRITCHARD, J.K. Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. **Molecular Ecology Resources** 9: 1322-1332. 2009.

HUGHES, C.R.; QUELLER, D.C. Detection of highly polymorphic microsatellite loci in a specie with little allozyme polymorphism. **Molecular Ecology** 2: 131-137. 1993.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). Diretoria Técnica. **Geografia do Brasil: Região Sul**. Rio de Janeiro, SERGRAF – IBGE. 1977. 534p.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística), Diretoria Técnica. **Mapas de solos do Brasil**. Rio de Janeiro-RJ, IBGE/ EMBRAPA SOLOS. 2011.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). **Censo Agropecuário**. 2005. Disponível em: <http://www.sidra.ibge.gov.br>. Acessado em: 10-09-2012.

JAIN, S.K. Genetic variation in populations: an important tool for ecological report. **Paper** presented at the 10th R.E.A., Mar del Plata. 1982.

JANSSENS, S.B.; KNOX, E.B.; HUYSMANS, S.; SMETS, E.F.; MERCK, V.S. Rapid radiation of *Impatiens* (Balsaminaceae) during Pliocene and Pleistocene: Results of a global climate change. **Molecular Phylogenetics Evolution** 52: 806-824. 2009.

JEFFREY, C. Compositae: Introduction with key to tribes. In: Kadereit, J.W.; Jeffrey, C. **The families and genera of vascular plants. Flowering plants. Eudicots: Asterales** 8: 61-87. 2007.

JEFFREY, C. Compositae. In: HEYWOOD, V.H. **Flowering Plants of the World**, New York: Mayflower Books. 1978. 263-268p.

JOLY, A.B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. São Paulo: Nacional. 1983. 777p.

JUDD, W.S.; CAMPBELL, C.S.; ELLOGG, E.A.; STEVENS, P.F.; DONOGHUE, M.J. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. Porto Alegre: Artemed. 2009. 632p.

JÚNIOR, H.J. **Desenvolvimento de um sistema baseado em marcadores moleculares de DNA do tipo microssatélites para identificação de variedades de cana-de-açúcar**. 2009. 111p. Dissertação de Mestrado Biologia Funcional e Molecular. Instituto de Biologia- Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP. 2009.

JUNGBLUT, M.; PINTO, L.F.S. Levantamento de solos do centro de pesquisa e conservação da natureza pró-mata. Divulgação do Museu de Ciências e Tecnologia – **UBEA-PUCRS** 3: 29-94. 1997.

KAGEYAMA, P.Y.; SEBBENN, A.M.; RIBAS, L.A.; GANDARA, F.B.; CASTELLEN, M.; PERECIM, M.B.; VENCOVSKY, R. Diversidade genética em espécies arbóreas tropicais de diferentes estágios sucessionais por marcadores genéticos. **Scientia Florestalis** 64: 93-107. 2003.

KARLSSON, S.; MORIK, J. Deviation from Hardy-Weinberg equilibrium and temporal instability in allele frequencies at microsatellite loci in a local population of Atlantic cod, *ICES*. **Journal of Marine Science** 62(8): 1588-1896. 2005.

KÖRNER, C. **Alpine Plant Life, Functional Plant Ecology of High Mountain Ecosystems**, Springer, Berlin. 1999. 344p.

KRUGLYAK, S.; DURRETT, R.T.; SCHUG, M.D.; AQUADRO, C.F. Equilibrium distributions of microsatellite repeat length resulting from a balance between slippage events and point mutations. **Proceedings of the National Academy of Sciences** 95: 10774–10778. 1998.

KUINCHTNER, A.; BURIOL, G.A. Clima do estado do Rio Grande do Sul segundo a classificação climática de Köppen e Thornthwaite. **Disciplinarum Scientia** 2(1): 171-182. 2001.

KUNST, C.B.; LEEFLANG, E.P.; IBER, J.C.; ARNHEIM, N.; WARREN, S.T. The effect of FMR1 CGG repeat interruptions of mutation frequency as measured by sperm typing. **Journal of Medical Genetics** 34: 627-631. 1997.

LANE, M. Pollination biology of Compositae. In: CALIGARI & HIND. Compositae: Biology and Utilization, Kew. **Royal Botanical Gardens** 2: 61-80. 1996.

LEVIN, D.A. Dispersal versus gen flow in plants. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 68: 233-53. 1981.

LEVIN, D.A. The organization of genetic diversity in *Phlox drummondii*. **Evolution** 31: 477-94. 1977.

LEVIN, D.A. The chemical defenses of plants to pathogens and herbivores. **Annual Review of Ecology Systematics** 7: 121-159. 1976.

LEWONTIN, R.C. Directions in evolutionary biology. **Annual Review in Genetics** 36: 1-18. 2002.

LI, Q.; PARK, C.; KOBAYASHI, T.; KIJIMA, A. Inheritance of microsatellite DNA markers in the Pacific abalone *Haliotis discos hannai*. **Marine Biotechnology** 3: 331-338. 2003.

LINDMAN, C.A.M. **A Vegetação no Rio Grande do Sul**. EDUSP/Itatiaia, São Paulo/Belo Horizonte. 1906.

LOOMIS, W.E. Growth and differentiation: an introduction and summary. In: LOOMIS, W.E. **Growth and Differentiation in Plants**. Iowa State College Press, Ames. 1953. 1-17p.

LUCIO, K.C.F. **Estudos genéticos em populações da espécie *Hypochaeris chilensis* (Asteraceae) utilizando marcadores microssatélites**. 2011. 101p. Dissertação de Mestrado em Genética e Biologia Molecular. Universidade Estadual de Londrina. Londrina – PR. 2011.

LUIKART, G.; ALLENDORF, F.W.; CORNUET, J.M.; WILLIAM, B.S. Distortion of allele frequency distributions provides a test for recent population bottleneck. **Journal of Heredity** 89(3): 238-247. 1998.

- LUIKART, G.; CORNUET, J.M. Empirical Evaluation of a Test for Identifying Recently Bottleneck Populations from Allele Frequency Data. **Conservation Biology** 12: 228-237. 1998.
- LUNDBERG, J.; BREMER, K. A phylogenetic study of the order Asterales using one morphological and three molecular data sets. **International Journal of Plant Science** 164: 553-578. 2003.
- MADIGAN, M.T. Extremophilic bacteria and microbial diversity. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 87: 3-12. 2000.
- MAGALLÓN, S.A.; CRANE, P.R.; HERENDEEN, P.S. Phylogenetic pattern, diversity, and diversification of eudicots. **Annual Missouri Botanical Garden** 86: 297-372. 1999.
- MARTINS, P.S. Estrutura populacional, fluxo gênico e conservação "in situ". **IPEF** 35: 71-78. 1987.
- MILANI, E.J.; FACCINI, U.F.; SCHERER, C.M.; ARAÚJO, L.M.; CUPERTINO, J.A. Sequences and stratigraphic hierarchy of the Paraná Basin (Ordovician to Cretaceous), southern Brazil. **Boletim IG-USP** 29: 125-173. 1998.
- MIX, C., ARENS, P.F.P., RENGELINK, R., SMULDERS, M.J.M.; GROENENDAEL, J.M.V.; OUBORG, N.J. Regional gene flow and population structure of the wind-dispersed plant species *Hypochaeris radicata* (Asteraceae) in an agricultural landscape. **Molecular Ecology** 15: 1749-1758. 2006.
- MONDIN, C.A. Riqueza genérica e dados biogeográficos das asteráceas brasileiras, Os avanços da Botânica no início do século XXI: morfologia, fisiologia, taxonomia, ecologia e genética. **Conferências Plenárias e Simpósios do 57º Congresso Nacional de Botânica** 1: 209-211. 2006.
- MOYSÉS, C.B. **Diversidade genética, estrutura populacional e análises filogenéticas no gênero *Eigenmannia* (Pisces: Gymnotiformes) São Paulo, 2005, 130p**, Tese de Doutorado em Ciências Biológicas. Universidade de São Paulo, São Paulo-SP. 2005.
- NEI, M. Genetic distance between populations. **American Naturalist** 106: 283-292. 1972.
- NEI, M.; MARUYAMA, T.; CHAKRABORTY, R. Bottleneck effect and genetic variability in populations. **Evolution** 29: 1-10. 1975.
- NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genetics** 89: 583-590. 1978.
- NETTANCOURT, De. **Incompatibility in Angiosperms**. Springer Verlag, Berlin. 1977. 230p.
- NEVO, E.; BEILES, A.; BEN-SHLOMO, R. The evolutionary significance of genetic diversity: ecological, demographic and life-history correlates. In: MANI, G.S.

Evolutionary dynamics of genetic diversity. Springer-Verlag, Manchester. 1984. 13-213p.

NEVO, E. Evolution of genome-phenome diversity under environmental stress. **Proceedings of the National Academy of Science** 98: 6233–6240. 2001.

NEWMAN, E.I.; REDDELL, P. The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants. **New Phytologist** 106: 745-751. 1987.

NIMER, E. **Climatologia do Brasil.** Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro. 1989.

NOGLER, G.A. Gametophytic apomixes. In: JOHRI, B.M. **Embryology of Angiosperms.** Berlin: Springer-Verlag. 1984. 475-518p.

OLIVEIRA, E.J.; PÁDUA, J.G.; ZUCCHI, M.I.; VENCOVSKY, R.; VIEIRA, M.L.C. Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. **Genetic and Molecular Biology** 29(2): 294-307. 2006.

ORTIZ, M.A.; TALAVERA, S.; GARCÍA-CASTAÑO, J.L.; TREMETSBERGER, K.; STUESSY, T.; BALAO, F.; CASIMIRO-SORIGUER, R. Self-incompatibility and floral parameters in *Hypochaeris* sect. *Hypochaeris* (asteraceae). **American Journal of Botany** 93(2): 234–244. 2006.

ORTIZ, M.Á.; TREMETSBERGER, K.; STUESSY, T.F.; TERRAB, A.; GARCÍA-CASTAÑO, J.L.; TALAVERA, S. Phylogeographic patterns in *Hypochaeris* section *Hypochaeris* (*Asteraceae*, *Lactuceae*) of the western Mediterranean. **Journal Biogeography** 36: 1384-1397. 2009.

PERSON, L.C. **The diversity and evolution of plants.** Boca Raton, Flórida, CRC Press, Inc. 1995. 646p.

PETES, T.D.; GREENWELL, P.W.; DOMINSKA, M. Stabilization of microsatellite sequences by variant repeats in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Genetics** 146: 491-498. 1997.

PILLAR, V.P.; MULLER, S.C.; CASTILHOS, Z.M.S.; JACQUES, A.V.A. **Campos Sulinos - conservação e uso sustentável da biodiversidade.** Brasília: MMA. 2009. 403p.

PIRY, S.; LUIKART, G.; CORNUET, J.M. Bottleneck: a program for detecting recent effective population size reductions from allele frequency data. **Journal of Heredity** 90: 502-503. 1999.

PRIMMER, C.R.; SAINO, N.; MOLLER, A.P.; ELLEGREN, H. Unraveling the processes of microsatellite evolution through analysis of germline mutations in barn swallows *Hirundo rustica*. **Molecular Biology Evolution** 15: 1047-1054. 1998.

POLLOCK, D.D.; BERGMAN, A.; FELDMAN, M.W.; GOLDSTEIN, D.B. Microsatellite behavior with range constraints: parameter estimation and improved distances for use in phylogenetic reconstruction. **Theoretical Population Biology** 53: 256–271. 1998.

- POSER, G.L.; MENTZ, L.A. Diversidade biológica e sistema de classificação. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2001. 821p.
- PRUSKI, J.F.; SANCHO, G.A. Asteraceae or Compositae. In: SMITH, N. et al. **Flowering Plants of the Neotropics**. The New York Botanical Garden, Princeton University Press. 2004. 33-38p.
- POTTER, R.O.; CARVALHO, A.P.; FLORES, C.A.; BOGNOLA, I. Solos do Estado de Santa Catarina, Rio de Janeiro: Embrapa-Solos. Mapa color, Embrapa Solos. **Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento**. 2004. 46p.
- QUINTANILLA, P.V. **Geografia de Chile**. Biogeografia, Instituto Geográfico Militar, Santiago. 1983.
- RAI, K.N.; KAIN, S.K. Population biology of *Avena*, gene flow and neighborhood size in relation to microgeographic variation in *A. barbata*. **Oecologia** 53: 399-405. 1982.
- RAMBO, B. Análise histórica da flora de Porto Alegre. **Sellowia** 6: 9-112. 1954.
- RAMBO, B. A flora fanerogâmica dos aparados rio-grandenses. **Sellowia** 7: 235-298. 1956.
- RECK, M. **Estudos moleculares em *Hypochoeris catharinensis* Cabrera (Asteraceae) utilizando marcadores AFLP**. 2010. 77p. Dissertação de Mestrado em Genética e Biologia Molecular. Universidade Estadual de Londrina. Londrina-PR. 2010.
- RIZZINI, C.T. **Tratado de fitogeografia do Brasil**. Hucitec, São Paulo-SP. 1992. 747p.
- RICHARDS, A.J. **Plant breeding systems**. Chapman & Hall, Londres. 1997.
- RIZZINI, C.T. Estudos experimentais sobre o xilopódio e outros órgãos tuberosos de plantas do cerrado. **Anais da Academia brasileira de Ciências** 37: 87-113. 1965.
- RUAS, C.F.; RUAS, P.M.; MATZENBECHER, N.I.; ROSS, G.; BERNINI, C.; VANZELA, A.M.M. Cytogenetic studies of some *Hypochoeris* species (Compositae) from Brazil. **American Journal of Botany** 82: 369-375. 1995.
- RUAS, C.F.; VANZELA, A.M.M.; SANTOS, M.O.; FREGONEZI, F.L.; RUAS, P.M.; MATZENBECHER, N.I.; AGUIAR-PERECIN, M.L.R. Chromosomal organization and phylogenetic relationships in *Hypochoeris* species (Asteraceae) from Brazil. **Genetics and Molecular Biology** 28: 129-139. 2005.
- RUAS, C.F.; WEISS-SCHNEEWEISS, H.; STUESSY, T.F.; SAMUEL, M.R.; PEDROSA-HARAND, A.; TREMETSBERGER, K.; RUAS, P.M.; SCHLÜTER, P.M.; ORTIZ, H.M.A.; KÖNIG, C.; MATZENBACHER, N.I. Characterization, genomic

organization and chromosome distribution of Ty1-copia retrotransposons in species of *Hypochaeris* (Asteraceae). **Gene** 412(1-2): 39-49. 2008.

SAMUEL, R.; GUTERMANN, W.; STUESSY, T.F.; RUAS, C.F.; LACKS, H.W.; TREMETSBERGER, K.; TALAVERA, S.; HERMANOWSKI, B.; EHRENDORFER, F. Molecular phylogenetics reveals *Leontodon* (Asteraceae, Cichorieae) to be diphyletic. **American Journal of Botany** 93: 1193-1205. 2006.

SAMUEL, R.; STUESSY, T.F.; TREMETSBERGER, K.; BAEZA, C.M.; SILJAK-YAKOVLEV, S. Phylogenetic relationships among species of *Hypochaeris* (Asteraceae, Cichorieae) based on ITS, plastid *trnL* intron, *trnL-F* spacer, and *matK* sequences. **American Journal of Botany** 90: 496-507. 2003.

SCHERER, C.M. Eolian Dunes of the Botucatu Formation (Cretaceous) in Southernmost Brasil: morphology and origin. **Sedimentary Geology** 137: 63-84. 2000.

SCHLÖTTERER, C. Evolutionary dynamics of microsatellite DNA. **Chromosoma** 109: 365-371. 2000.

SCHWARCZ, K.D. **Diversidade genética de duas espécies arbóreas da Mata Atlântica**. 2008. 59p. Dissertação de Mestrado em Genética e Biologia Molecular. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. 2008.

SELKOE, K.A.; TOONEN, R.J. Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. **Ecology Letter** 9: 615-629. 2006.

SHARMA, J.; GEORGE, S.; PANDEY, M.; NORCINI, J.; PEREZ, H. Genetic differentiation in natural populations of a Keystone Bunchgrass (*Aristida stricta*) across its native range. **Genetica** 139(2): 261-71. 2011.

SHERWOOD, R.T. Genetic analysis of apomixes. In: SAVIDAN, Y.; CARMAN, J.G.; DRESSELHAUS, T. **The flowering of apomixis: from mechanisms to genetic engineering**. El Batan: CIMMYT. 64-82p. 2001.

SILJAK-YAKOVLEV, S.; BARTOLI, A.; ROITMAN, G.; BARGHI, N.; MUGNIER, C. Etude caryologique de trois especes d'*Hypochaeris* originaires d'Argentine : *H. chiliensis* (H.B.K.) Hieron. *H. megapotamica* Cabr. *H. microcephala* (Sch. Bip.) Cabr. var. *albiflora* (O.K.) Cabr. **Canadian Journal of Botany** 72: 1496-1502. 1994.

SLATKIN, M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele Frequencies. **Genetics** 139: 457-462. 1995.

SMALL, J. The origin and development of the Compositae. **New Phytologist** 18: 1919. 129-176.

SMITH, S.E.; READ, D.J. **Mycorrhizal symbiosis**. San Diego, Academic Press. 1997. 605p.

SOLÉ-CAVA, A.M. Biodiversidade molecular e genética da conservação. In: MATIOLI, S.R. **Biologia molecular e evolução**. Ribeirão Preto: Holos. 2001. 202p.

- SOONS, M.B.; HEIL, G.W. Reduced colonization capacity in fragmented populations of wind-dispersed grassland forbs. **Journal of Ecology** 90: 1033-1043. 2002.
- SOONS, M.B.; HEIL, G.W.; NATHAN, R.; KATUL, G.G. Determinants of long-distance seed dispersal by wind in grasslands. **Ecology** 85: 3056-3068. 2004.
- SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática - Guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Plantarum, Nova Odessa. 2005. 640p.
- SPENCER, C.C.; NEIGEL, J.E.; LEBERG, P.L. Experimental evaluation of the usefulness of microsatellite DNA for detecting demographic bottleneck. **Molecular Ecology** 9: 1517–1528. 2000.
- STEBBINS, L.G. **Chromosomal evolution in higher plants**. Edward Arnold, London. 1971.
- STUESSY, T.F.; TREMETSBERGER, K.; MULLNER, A.N.; JANKOWICZ, J.; GUO, Y.P.; BAEZA, C.M.; SAMUEL, R.M. The melding of systematics and biogeography through investigations at the populational level: examples from the genus *Hypochaeris* (Asteraceae). **Basic Applied Ecology** 4: 287–296. 2003.
- SWAIN, T. **Chemistry in evolution and systematic**. Butterworth, London. 1973.
- TACKENBERG, O. Modelling long-distance dispersal of plant diaspores by wind. **Ecological Monographs** 73: 173–189. 2003.
- TAMURA, K.; PETERSON, D.; PETERSON, N.; STECHER, G.; NEI, M.; KUMAR, S. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. **Molecular Biology and Evolution** 28: 2731-2739. 2011.
- TERTULIANO, M.F.; FIGUEIREDO-RIBEIRO, R.C.L. Distribution of fructose polymers in herbaceous species of Asteraceae from the cerrado. **New Phytologist** 132: 741-749. 1993.
- TREMETSBERGER, K.; STUESSY, T.F.; SAMUEL, A.M.; BAEZA, C.M.; FAY, F.M. Genetics of colonization in *Hypochaeris tenuifolia* (Asteraceae, Lactuceae) on Volcán Lonquimay, Chile. **Molecular Ecology** 12: 2649–2659. 2003.
- TREMETSBERGER, K.; WEISS-SHNEEWEISS, H.; STUESSY, T.; SAMUEL, R.; KADLEC, G.; ORTIZ, M.A.; TALAVERA, S. Nuclear ribosomal DNA and karyotypes indicate a NW African origin of South American *Hypochaeris* (Asteraceae, Cichorieae). **Molecular Phylogenetic Evolution** 35: 102–116. 2005.
- TREMETSBERGER, K.; STUESSY, T.; KADLEC, G.; URTUBEY, E.; BAEZA, C.M.; BECK, S.G.; VALDEBENITO, H.A.; RUAS, C.F.; MATZENBACHER, N.I. AFLP Phylogeny of South American Species of *Hypochaeris* (Asteraceae, Lactuceae). **Systematic Botany** 31: 610-626. 2006.
- TOURNEFORT, J.P. **Institutiones Rei Herbariae**. Typographia Regia, Paris. 1700.

TORRES, T.T. **Variabilidade genética e estrutura de populações de *Cochliomyia hominivorax* (Diptera: Calliphoridae): uma nova perspectiva através de marcadores microsatélites**. 2006. 152p. Dissertação de Doutorado em Genética e Biologia Molecular. Universidade Estadual de Campinas. Campinas-SP. 2006.

TURNER, B.L. Fossil history and geography, In: HEYWOOD, V.H.; HARBORNE, J.B.; TURNER, B.L. **The Biology and Chemistry of the Compositae**. Academic Press, London. 1977. 19-39p.

VAN-OOSTERHOUT, C.; HUTCHINSON, W.F.; WILLS, D.P.M.; SHIPLEY, P. MICRO-CHECKER: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. **Molecular Ecology Notes** 4: 535–538. 2004.

VELOSO, H.P.; GÓES-FILHO, L. Fitogeografia Brasileira, Classificação Fisionômico-Ecológica da Vegetação. **Boletim Técnico Projeto RADAMBRASIL**. Série Vegetação 1: 1-86. 1982.

VENABLE, D.L.; LEVIN, D.A. Morphological dispersal structures in relation to growth habit in the Compositae. **Plant Systematic Evolution** 143:1-16. 1983.

ZIDORN, C.; SCHUBERT, B.; STUPPNER, H. Altitudinal differences in the contents of phenolics in flowering heads of three members of the tribe Lactuceae (Asteraceae) occurring as introduced species in New Zealand. **Biochemical Systematics and Ecology** 33: 855-872. 2005.

ZIDORN, C. Sesquiterpenoids as chemosystematic markers in the subtribe Hypochaeridinae (Lactuceae, Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology** 34: 144-159. 2006.

WADE, M.J.; MCCAULEY, D.E. Extinction and recolonization: Their effects on the genetic differentiation of local populations. **Evolution** 42: 995- 1005. 1988.

WARD, R.D.; SKIBINSKI, D.O.F.; WOODWARK, M. Protein heterozygosity, protein structure, and taxonomic differentiation. **Evolutionary Biology** 26: 73-159. 1992.

WEISS, H.; STUESSY, T.F.; GRAU, J.; BAEZA, C.M. Chromosome reports from South American *Hypochaeris* (Asteraceae). **Annual Missouri Botanical Garden** 90: 56–63. 2003.

WEISS-SCHNEEWEISS, H.; STUESSY, T.F.; SILJAK-YAKOVLEV, S.; BAEZA, C.M.; PARKER, J. Karyotype evolution in South American species of *Hypochaeris* (Asteraceae, Lactuceae). **Plant Systematics and Evolution** 241: 171–184. 2003.

WEISS-SCHNEEWEISS, H.; STUESSY, T.F.; TREMETSBERGER, K.; URTUBEY, E.; VALDEBENITO, H.A.; BECK, S.G.; BAEZA, C.M. Chromosome numbers and karyotypes of South American species and populations of *Hypochaeris* (Asteraceae). **Botanical Journal of the Linnean Society** 153: 49-60. 2007.

WEISS-SCHNEEWEISS, H.; TREMETSBERGER, K.; SCHNEEWEISS, G.M.; PARKER, J.S.; STUESSY, T.F. Karyotype diversification and evolution in diploid and polyploid South American *Hypochaeris* (Asteraceae) inferred from rDNA localization and genetic fingerprint data. **Annual Botany** 101: 909-18. 2008.

WHITTAKER, R.H. Dominance and diversity in land plant communities. **Science** 147: 250-260. 1965.

WILSON, G.A.; RANNALA, B. Bayesian inference of recent migration rates using multilocus genotypes. **Genetics** 163: 1177-1191. 2003.

WIKSTRÖM, N.; SAVOLAINEN, V.; CHASE, M.W. Angiosperm divergence times: Congruence and incongruence between fossils and sequence divergence estimates. In: DONOGHUE, P.C.J.; SMITH, M.P. **Telling the Evolutionary Time: Molecular Clocks and the Fossil Record**, CRC Press, Boca Raton. 2003. 142-165p.

WISHEU, I.C.; KEDDY, P.A. Competition and centrifugal organization of ecological communities: theory and tests. **Journal of Vegetation Science** 3: 147-156. 1992.