Jéssica Nayara Carvalho Francisco

Sistemática e biogeografia de *Pachyptera* DC.
ex Meisn. (Bignonieae, Bignoniaceae)

Systematic and biogeography of *Pachyptera*
DC. ex Meisn. (Bignonieae, Bignoniaceae)

Instituto de Biociências

Universidade de São Paulo

São Paulo

2017

Jéssica Nayara Carvalho Francisco

Sistemática e biogeografia de *Pachyptera* DC.
ex Meisn. (Bignonieae, Bignoniaceae)

Systematic and biogeography of *Pachyptera*
DC. ex Meisn. (Bignonieae, Bignoniaceae)

Dissertação apresentada ao Instituto
de Biociências da Universidade de
São Paulo, para a obtenção de Título
de Mestre em Ciências, na Área de
Botânica.

Orientador(a): Dra. Lúcia Garcez
Lohmann

São Paulo

2017

Francisco, J. N. C.

Sistemática e biogeografia de
Pachyptera DC. ex Meisn (Bignoniaceae,
Bignoniaceae)

Número de páginas

Dissertação (Mestrado) - Instituto de
Biociências da Universidade de São Paulo.
Departamento de Botânica.

1. Biogeografia neotropical 2.
Delimitação de espécies 3. Flora
Amazônica 4. Microsatélites
I. Universidade de São Paulo. Instituto de
Biociências. Departamento de Botânica

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a). Lúcia Garcez Lohmann

Orientador(a)

Dedicatória

À Prof. Amélia Cristina Elias da Ponte,
cujas aulas mudaram minha visão sobre a Botânica.

Ao Prof. Ronaldo Bastos Francini,
por despertar minha curiosidade sobre as lianas.

Agradecimentos

À Dra. Lúcia. L. Lohmann por todas as oportunidades e experiências que tenho vivido após ter aberto as portas do Laboratório de Sistemática e Biogeografia. Agradeço em especial, pela orientação, paciência e empolgação durante as fases desse projeto. Tenho muita sorte de tê-la como orientadora e incentivadora nessa área da ciência.

Ao Alison G. Nazareno pela colaboração em um dos artigos e ensinamentos pessoais e profissionais.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo pelo suporte financeiro fundamental para o desenvolvimento desse projeto.

Aos membros da banca de qualificação, Dr. José Rubens Pirani, Dr. Ricardo Pinto da Rocha e Dr. Marcos Maldonado Coelho pelos comentários e sugestões que contribuíram para o melhor andamento desse trabalho.

Aos colegas da expedição Amazonas-Roraima: Augusto Giaretta, Beatriz M. Gomes, Jenifer C. Lopes, Luis H. Fonseca, Marcelo F. Devecchi e Thais Vasconcelos pela agradável companhia, parceria e excelente trabalho em grupo. Esta foi minha primeira expedição de campo na Amazônia, gratidão por tudo que aprendi e vivenciei com vocês.

Aos colegas da expedição Pará: Annelise N. Frazão, Augusto Giaretta e Hécio Honorato de Souza (técnico do INPA) pelos 15 dias produtivos de trabalho de campo, consultas em herbários e trocas de experiências. Graças a esse campo encontrei uma espécie rara e uma variedade que foram essenciais para essa dissertação.

Aos gestores e funcionários do Parque Nacional de Anavilhanas, Parque Nacional do Viruá, Floresta Nacional do Tapajós e Floresta Nacional Saracá-Taquera pela logística, estrutura e atenção que facilitaram os trabalhos de campo.

Às queridas Adriana Marchioni e Mirian Kaehler por toda aprendizagem e descoberta nesse novo mundo molecular! Até então, extração, amplificação, clonagem e sequenciamento, era um mundo à parte, o que aprendi com vocês foi de suma importância. Por isso, não posso deixar de agradecer pela paciência e dedicação em ensinar o bê-a-bá de um laboratório molecular, além de me tranquilizar em momentos frustrantes quando surgiam problemas com amostras antigas.

Aos Alexandre R. Zuntini e Luis H. Fonseca pela amizade, dedicação e disposição em discutir pontos desse estudo, além da valiosa ajuda em realizar as análises filogenéticas e de datação. Sou extremamente grata por tudo que aprendi com vocês.

À Maila Beyer, pela amizade, conversas, pipocas e parceria durante a epopéia dos microsatélites.

Ao prof. Dr. Diego Demarco por me ensinar a preparar materiais para análises em microscópio eletrônico de varredura.

Aos Bignonietes (Alison, Anne, Bia, Dri, Eric, Juan, Luis, Maila, Mirian, Pamela, Verônica e Zuntini) pelo agradável ambiente de trabalho e pelas ajudas inestimáveis em questões teóricas, filosóficas e metodológicas. Obrigada por também dedicarem um tempo para fotografar e coletar amostras em sílica de *Pachyptera*.

Aos funcionários do Laboratório de Sistemática Vegetal, Abel, Fabrício, Homelhan, Verônica, Vivi, Norberto e Robertinha, que facilitam o dia a dia no Sobre as Ondas, além de serem pessoas adoráveis, aos colegas e amigos, Adriana Marcchioni, Annelise Frazão, Anselmo Nogueira, Augusto Giaretta, Benoit Loeullie, Camila Dussán, Carolina Sinischalchi, Daniela Costa, Eduardo Leal, Eric Kataoka, Euder Martins, Guilherme Antar, Juliana Lovo, Leonardo Borges, Marcelo Kubo, Matheus Fortes, Matheus Martins Cota, Maurício Watanabe, Mayla Beyer, Miriam Kaehler, Pamela Santana, Paulo Gonella, Renato Ramos, Verônica Thode pelo apoio e agradável convivência, em especial, Alexandre Zuntini, Beatriz M. Gomes, Gisele Alves, Jenifer C. Lopes, Juan Pablo, Juliana H. L. El Ottra, Marcelo Devecchi e Natali G. Bordon.

Aos professores Glauco Machado e Paulo Inácio que exerceram um importante papel na minha formação e escolhas na vida. Coursar a disciplina Ecologia de Campo em 2012 mudou a maneira como eu enxergo a ciência e o potencial que todos nós temos.

Por fim, à minha amada mãe, Hilda de Fatima, que sempre me incentivou a estudar e correr atrás dos meus objetivos e ao meu querido companheiro Jorge pelo apoio, cumplicidade e coragem em descobrir São Paulo comigo.

Índice

Resumo	7
Abstract	9
Introdução Geral	11
Capítulo 1. Reestablishment of <i>Mansoa ventricosa</i> (Bignoniaceae, Bignoniaceae) based on molecular and morphological data.....	31
Capítulo 2. Phylogeny and biogeography of <i>Pachyptera</i> (Bignoniaceae, Bignoniaceae), a genus of Amazonian lianas.....	68
Capítulo 3. Taxonomic revision of <i>Pachyptera</i> (Bignoniaceae, Bignoniaceae).....	113
Capítulo 4. A genomic approach for isolating chloroplast microsatellite markers for <i>Pachyptera kerere</i> (Bignoniaceae).....	173
Considerações Finais	189

Resumo

A Amazônia inclui uma grande proporção da biodiversidade encontrada atualmente na Terra. Apesar disso, nosso conhecimento sobre a biodiversidade Amazônica ainda é limitado, dificultando nosso entendimento dos padrões de diversidade nesta região. Entender os processos que levaram à diversidade encontrada na Amazônia representa um grande desafio para a biologia evolutiva. Este estudo foca em *Pachyptera* (Bignoniaceae), um pequeno gênero de lianas neotropicais, centrado na Amazônia. *Pachyptera* tem uma história taxonômica complicada, incluindo problemas na circunscrição genérica e específica. Este estudo visa: (i) reconstruir o parentesco filogenético entre espécies do gênero, (ii) produzir uma revisão taxonômica, incluindo nova circunscrição genérica e específica, (iii) entender a história biogeográfica do grupo e, (iv) desenvolver marcadores microssatélites (SSRs) para futuros estudos filogeográficos. Em primeiro lugar, reconstruímos a filogenia do gênero usando uma ampla amostragem de taxa e uma combinação de marcadores de cpDNA (*ndhF* and *rpl32-trnL*) e nDNA (*PepC*). Em segundo lugar, analisamos a filogenia de *Pachyptera* utilizando análises de coalescência (GMYC e *BEAST) e morfologia para esclarecer limites específicos dentro do complexo *P. kerere*. Em terceiro lugar, produzimos uma filogenia datada de *Pachyptera*, a qual foi utilizada como base para reconstruir a história biogeográfica do gênero utilizando BSSVS e RASP. Por fim, desenvolvemos SSRs utilizando sequenciamento de próxima geração, os quais serão utilizados para guiar estudos filogeográficos futuros com o grupo. Nosso estudo indica que *P. ventricosa* é mais proximamente relacionada à *Mansoa* do que *Pachyptera*, levando ao reestabelecimento de *M. ventricosa*. Além disso, nossos estudos moleculares e morfológicos sustentam o reconhecimento de *P. kerere* var. *incarnata* como uma espécie separada e a descrição de uma espécie nova (*P. linearis*). Desta forma, reconhecemos um gênero com cinco espécies: (i) *P. aromatica*, (ii) *P. erythraea*, (iii) *P. incarnata*, (iv) *P. kerere*, e (v) *P. linearis*. Estas espécies são tratadas em uma revisão taxonômica do gênero. As análises biogeográficas indicam que *Pachyptera* surgiu durante o Eoceno Tardio, e diversificou durante o Mioceno, um período de intensas perturbações provocadas na América do Sul (i.e., soerguimento dos Andes, eventos de incursões marinhas, e formação de sistemas florestais secos e úmidos). Vinte-e-um

SSRs foram desenvolvidos para *Pachyptera* e servirão como base para estudos filogeográficos futuros com este grupo. Esta dissertação faz parte de um projeto multidisciplinar que visa compreender a evolução da biota amazônica e seu ambiente (FAPESP 2012/50260-6).

Palavras chaves: biogeografia neotropical, delimitação de espécies, flora Amazônica, microssatélites, *Pachyptera kerere*, sequenciamento de próxima geração.

Abstract

The Amazon houses a large proportion of the overall biodiversity currently available on Earth. Despite that, our knowledge of Amazonian biodiversity is still limited, complicating our understanding of diversity patterns within this region. Understanding the drivers of Amazonian biodiversity represents a major challenge in evolutionary biology. This study focuses on *Pachyptera* (Bignoniaceae, Bignoniaceae), a small genus of neotropical lianas centered in the Amazon. *Pachyptera* has a complicated taxonomic history, including problematic generic and species circumscriptions. This study aims to: (i) reconstruct phylogenetic relationships among species of the genus (ii) produce a taxonomic revision, including clear generic and species circumscriptions, (iii) understand the biogeographic history of the group, and (iv) develop microsatellite markers (SSRs) for future phylogeographic and population genetic studies. First, we inferred phylogenetic relationships within a broad sampling of taxa and a combination of cpDNA (*ndhF* and *rpl32-trnL*) and nuclear (*PepC*) markers. Second, we analyzed the phylogeny of *Pachyptera* using coalescent approaches (GMYC and *BEAST) and morphology to clarify species limits within the *P. kerere* species complex. Third, we produced a time-calibrated phylogeny of *Pachyptera* that was used as basis to reconstruct the biogeographical history of the genus using BSSVS and RASP. Lastly, we developed SSRs using next-generation sequencing (NGS) that will be used to guide future phylogeographic studies within this group. Our study indicates that *P. ventricosa* is more closely related to *Mansoa* than *Pachyptera*, leading to the reestablishment of *Mansoa vetricosa*. Furthermore, our molecular and morphological analyses support the recognition of *P. kerere* var. *incarnata* as a separate species, and the description of a new taxon (*P. linearis*). As such, we here recognize a genus with five species: (i) *P. aromatica*, (ii) *P. erythraea*, (iii) *P. incarnata*, (iv) *P. kerere*, and (v) *P. linearis*. These species are treated in a taxonomic revision of *Pachyptera*. The biogeographical analyses indicate that *Pachyptera* originated during the Late Eocene, and diversified during the Miocene, a time of intense perturbations in South America (e.g., uplift of the Andes, marine incursions, and formation of dry and wetland systems). Twenty-one SSRs were developed for *P. kerere* and will serve as basis for future phylogeographic studies. This

dissertation is part of a multidisciplinary project that aims to understand the evolution of the Amazonian biota and its environment (FAPESP 2012/50260-6).

Key words: Amazonian flora, microsatélites, neotropical biogeography, next-generation sequencing, *Pachyptera kerere*, species delimitation.

Introdução Geral

A Biota Amazônica

A floresta amazônica retém ca. de 9,5% da diversidade de espécies global (Lewinsohn & Prado, 2005). Este bioma abriga uma ampla gama de grupos taxonômicos que contribuem de forma muito significativa com bens e serviços para a humanidade (Hendry *et al.*, 2010). Por exemplo, estas espécies são de suma importância para a regulação das condições climáticas, produção de oxigênio e sequestro de carbono (Malhi *et al.*, 2008), bem como prestam importantes serviços culturais e estéticos (Sponsel, 1995). Além disso, espécies Amazônicas são geradoras de matéria-prima para a indústria farmacêutica e alimentícia (Fearnside, 1999). Entender quais foram os processos evolutivos que deram origem à atual diversidade biológica encontrada na Amazônia representa um grande desafio para a biologia evolutiva (e.g., Gentry, 1982; Moritz *et al.*, 2000; Hoorn *et al.*, 2010). Diversas hipóteses foram propostas para explicar essa expressiva diversidade, várias das quais estão associadas ao isolamento de populações causadas por: (i) barreiras fluviais, (ii) refúgios florestais, (iii) incursões marinhas e/ou (iv) mudanças geológicas.

A teoria de barreiras fluviais foi a primeira hipótese desenvolvida para explicar a origem da biodiversidade amazônica (Wallace, 1852). Esta hipótese foi proposta com base na observação de que diferentes espécies de primatas apresentam distribuição restrita a certas margens dos rios Solimões, Negro e Amazonas, sugerindo que populações ancestrais teriam se fragmentado em subpopulações devido a formação dos rios e subsequente fragmentação da floresta (1997; Leite & Rogers, 2013). A interrupção do fluxo gênico entre populações ocorrentes nas diferentes margens do rio teria levado à diferenciação entre populações isoladas e posterior especiação (Leite & Rogers, 2013). Inicialmente, Wallace (1852) ressaltou a efetividade das barreiras para primatas, aves e insetos. Evidências adicionais foram obtidas para o modelo de alopatria associado à formação do Rio Amazonas em primatas (Silva & Oren, 1996), aves (Ribas *et al.*, 2011), e borboletas (Hall & Harvey, 2002). Além disso, o modelo também mostrou-se aplicável a pequenos mamíferos (Patton *et al.*, 2000), anfíbios e répteis (Ron, 2000; Funk *et al.*, 2007). Apenas dois estudos até o momento buscaram avaliar o impacto dos rios como barreira para o fluxo gênico de plantas (Collevati, 2009;

Nazareno et al., 2017). Estes estudos indicaram que a eficácia dos rios como barreiras para plantas depende da largura do rio separando populações e de características das espécies.

Uma hipótese alternativa à de barreiras fluviais foi postulada por Haffer (1969), que propôs um modelo baseando-se na sobreposição de endemismos de espécies de aves. Para Haffer (1969) as barreiras fluviais não constituíam impedimento para o fluxo gênico entre aves, uma vez que as aves seriam capazes de atravessar para a outra margem do rio. Haffer (1969) postulou que refúgios teriam originado como resultado às mudanças climáticas decorrentes do máximo glacial do Quaternário, os quais teriam levado à fragmentação da floresta amazônica e formação de refúgios de floresta, onde mais tarde se concentraria uma alta diversidade de espécies. Os refúgios hipotéticos localizavam-se especialmente nas áreas de encosta em porções periféricas da Amazônia (Brown, 1987) e estariam isolados por uma matriz de savanas e cerrados. Neste contexto, os fragmentos de floresta atuariam como barreiras contra a dispersão de plantas e animais florestais, levando a especiação alopátrica. Contudo, as oscilações climáticas durante os períodos interglaciais úmidos teriam levado a expansão dos fragmentos florestais, os quais atuariam como “zonas de sutura” entre fragmentos, permitindo o fluxo migratório entre diferentes populações. Neste contexto, populações que tivessem sofrido especiação completa poderiam apresentar sobreposição geográfica enquanto populações que ainda estivessem em processo de especiação poderiam sofrer exclusão geográfica ou hibridização (Haffer, 1969, 1979).

No entanto, evidências paleobotânicas sugerem que a vegetação amazônica não sofreu nenhum tipo de fragmentação durante o Quaternário (Colinvaux *et al.*, 2000; Anhuf *et al.*, 2006; Bush & Oliveira, 2006), refutando a hipótese de refúgio. Mais especificamente, a elevada concentração de pólen de espécies arbóreas em combinação com a ausência de pólenes de elementos típicos de vegetação de savana (e.g., Gramineae e ervas) ao longo de toda a floresta amazônica (Colinvaux *et al.*, 2001), sugerem que talvez os propostos refúgios não tenham existido. Além disso, dados recentes provenientes de filogenias datadas de aves (Ribas *et al.*, 2011) e mamíferos (Patton *et al.*, 2000) sugerem que diversos eventos de especiação na Amazônia não ocorreram no início das glaciações do Quaternário como postulado pela teoria dos refúgios. Por outro lado, evidências resultantes de diversos grupos vegetais (Prance, 1982; Scotti-Saintagne

et al., 2013), aves (Ribas & Miyaki, 2004), anuros (Duellman, 1982) e artrópodes (Lourenço & Florez, 1991; Brower & Egan, 1997) corroboram esta teoria.

A teoria das incursões marinhas defende a ideia de que incursões marinhas associadas às flutuações de elevação do nível do mar no Cenozóico e às movimentações tectônicas de soerguimento da cordilheira dos Andes promoveram grande impacto sobre o paleo-ambiente e padrão de drenagem na região amazônica (Hoorn, 1993; Hoorn *et al.*, 2010), levando à diversificação de linhagens. Segundo esta teoria, o soerguimento andino teria provocado um rebaixamento gradual da Amazônia Ocidental, o que teria levado a incursões marinhas formando o conhecido sistema Pebas (i.e., um extenso lago e uma série de pântanos de influência marinha e fluvial) durante o Mioceno médio (Hoorn *et al.*, 1995; Antonelli *et al.*, 2009; Hoorn *et al.*, 2010). O sistema Pebas teria então atuado como barreira de dispersão para os organismos terrestres entre os Andes, Amazônia oriental e regiões da Guiana (Antonelli *et al.*, 2009). Como resultado, uma ampla gama de grupos de animais e plantas não teria conseguido realizar dispersão ou sobreviver sob as novas condições, levando a fragmentação da biota e consequente especiação *in situ*. Ocasionalmente, conexões formadas entre savanas sazonalmente inundadas poderiam ter fornecido vias de dispersão para a biota terrestre (Wesselingh & Salo, 2006).

O fato do período das incursões marinhas coincidir com a diversificação das primeiras plantas e diversos grupos de animais nesta região corrobora esta teoria (Hoorn *et al.*, 2010). Evidências paleobotânicas indicam que numerosos gêneros atribuídos às modernas famílias de angiospermas formavam florestas que se mantinham à margem do lago Pebas (Pons & De Franceschi, 2007; Hoorn *et al.*, 2010). Além disso, a alta diversidade de registros fósseis da fauna artrópode e abundantes inclusões de microfósseis de cianobactérias, fungos e algas de água doce encontrados nos afloramentos ao longo do Rio Amazonas no Médio Mioceno também corroboram esta hipótese (Antoine *et al.*, 2006). Os corredores formados pelo sistema Pebas teriam facilitado a transição evolutiva de peixes (Lovejoy *et al.*, 2006) e moluscos (Wesselingh, 2006) para habitats lacustres ou fluviais. Dados geológicos indicam que processos neotectônicos na planície amazônica causaram o soerguimento de depósitos do Neogeno, levando a reconfiguração hidrológica e o influxo de sedimentos proveniente dos Andes no desenvolvimento de um mosaico edáfico rico em nutrientes (Räsänen *et*

al., 1998) e espécies (Hoorn *et al.*, 2010). Entretanto, poucos trabalhos conseguiram de fato relacionar os eventos geológicos de vicariância provocados pelas incursões e a especiação de taxa (e.g., Antonelli *et al.*, 2009, com Rubiaceae; Cooke *et al.*, 2012, com peixes).

Por fim, há evidências de que diversos eventos geológicos foram críticos para a formação da atual Biota Amazônica. Em particular, períodos de elevação andina durante o Cretáceo, do sul para o norte e do oeste para o leste foram acompanhados pela diversificação de várias linhagens biológicas (Hoorn *et al.*, 1995; Antonelli *et al.*, 2009; Hoorn *et al.*, 2010), enfatizando a importância do soerguimento dos Andes para a diversificação da biota. Alterações passadas na paisagem amazônica, teriam promovido especiação na Amazônia através de: (a) aumento da heterogeneidade de habitats no norte da América do Sul favorecendo a radiação adaptativa em habitats de montanha; (b) criação de corredores bióticos para taxa pré-adaptados às condições de montanha que ganharam maior amplitude de distribuição; (c) favorecimento de especiação alopátrica em taxa de montanha separados por vales e cumes intransitáveis; (d) vicariância geográfica e consequente isolamento genético entre populações de terra baixa sobre ambos os lados das montanhas emergentes; (e) formação de linhagens através da dispersão e maior radiação para outros biomas, atuando como uma “bomba de espécies” (do inglês “*species pump*”); e (f) aumento da deposição de nutrientes na Amazônia ocidental seguido da desnudação das montanhas pela precipitação (Antonelli & Sanmartin, 2011).

Avanços filogenéticos e geográficos nos Andes e Amazônia têm contribuído para um melhor entendimento da origem dos ecossistemas e diversidade amazônica. Análises recentes têm explorado o uso integrado de dados filogenéticos e cenários geológicos complexos para obter uma construção mais realista do panorama evolutivo (Hoorn *et al.*, 2010). Estes dados sugerem que a origem da diversidade Amazônica não deve ser atribuída há apenas um evento durante um intervalo específico no tempo, dado que tal diversidade parece ter resultado de processos ecológicos e tendências evolutivas iniciadas pelos eventos tectônicos do Neogeno, incluindo reorganizações paleogeográficas mantidas pela ação das mudanças climáticas (Hoorn, 2010; Wesselingh *et al.*, 2010; Rull, 2011). No entanto, novas evidências provenientes de organismos diferentes são de suma importância para elaboração de modelos integrados

que expliquem melhor o cenário que deu origem a alta diversidade biológica em algumas regiões do globo terrestre, especialmente em ambientes mega-diversos como a Amazônia (Bush, 1994; Aleixo, 2004).

Neste sentido, essa dissertação focou no gênero *Pachyptera* DC. ex Meisner, um grupo amplamente distribuído pela região Amazônica (Fig. 1), o que torna este clado um excelente modelo para fornecer novos subsídios no entendimento dos processos associados à origem e diversificação da biodiversidade amazônica.

Objeto de estudo

A família Bignoniaceae possui distribuição Pantropical, predominantemente Neotropical e é centrada no Brasil (Gentry, 1980). A família é composta por 82 gêneros e ca. de 827 espécies (Lohmann & Ulloa Ulloa, 2016), com hábito arbóreo, arbustivo, ou lianescente (Gentry, 1980; Olmstead *et al.*, 2009). A família tem grande importância econômica por conta da madeira com alta durabilidade, produtos farmacológicos e apelo paisagístico (Gentry, 1992). Indígenas também utilizam representantes de Bignoniaceae na alimentação, medicina e rituais religiosos (Gentry, 1992). A família é caracterizada pelas folhas compostas com filotaxia oposta, flores gamossépalas e gamopétalas, com corola tubular, androceu epipétalo formado por quatro estames didínamos com um estaminódio, fruto do tipo cápsula com deiscência ao longo de duas suturas e sementes aladas (Gentry, 1980). Trabalhos com a filogenia do grupo reconhecem oito clados centrais: Bignonieae, Catalpeae, Oroxyleae, Aliança *Tabebuia*, Clado Paleotropical, Tecomeae, Jacarandaeae, e Tourrettieae (Olmstead *et al.*, 2009; Spangler & Olmstead 1999).

A tribo Bignonieae é o maior clado da família, incluindo lianas e arbustos da região neotropical (Gentry, 1989; Lohmann, 2006; Olmstead *et al.*, 2009). Apenas *Bignonia capreolata* L. é encontrada naturalmente nos EUA (Lohmann, 2006). As principais sinapomorfias morfológicas do grupo são as folhas 2-3-folioladas ou 2-3-pinadas com o folíolo terminal modificado em gavinha e anatomia da madeira com crescimento anômalo resultante da interrupção do xilema secundário, com contínua produção de floema formando 4-32 cunhas (Gentry, 1980; Lohmann, 2006). Bignonieae também é reconhecida pelo fruto cápsula, com deiscência paralela ao septo (Gentry, 1980). A delimitação genérica da tribo permaneceu problemática por muitos anos,

incluindo poucos gêneros com numerosas espécies e muitos gêneros monotípicos (Lohmann 2006; Lohmann & Taylor, 2014). Uma filogenia molecular da tribo baseada em uma ampla amostragem de taxa e dois marcadores moleculares (*ndhF* e *PepC*) reconstruiu 21 clados principais (Fig. 2, Lohmann 2006), que foram tratados como gêneros numa nova classificação genérica proposta para o grupo (Lohmann & Taylor, 2014). Este trabalho apenas reconheceu gêneros monofiléticos, caracterizados por sinapomorfias morfológicas e forneceu o primeiro tratamento compreensivo da tribo. Contudo, estudos detalhados ao nível específico ainda são necessários para esclarecer problemas associados à delimitação de espécies e posicionamento dentro da tribo.

Pachyptera é um pequeno gênero de lianas neotropicais centrado na Amazônia. *Pachyptera* significa “com alas espessas” (do latim: *pach* = espesso; *aptera* = sem alas), uma característica encontrada na espécie tipo, *Pachyptera kerere* (Aubl.) Sandwith. O gênero é facilmente reconhecido pelos perfis achatados e ensiformes (minutos e triangulares), organizados em 3(-5) séries na axila do nó, numerosos e conspícuos nectários extraflorais distribuídos na região interpeciolar e na junção entre o ápice do pecíolo e pecíololo, inflorescência do tipo racemo, flores hipocrateliformes e infundibiliformes, com glândulas pateliformes arranjadas em linhas ou agrupadas no ápice do cálice e região mediana dos lobos da corola. A coloração das flores varia de branco à creme, rosa à roxo claro e laranja à vermelho (Fig. 3). O gênero difere de qualquer outra espécie da tribo por apresentar anteras vilosas, também encontradas em *Lundia* (Lohmann & Taylor, 2014).

Pachyptera tem uma história taxonômica confusa, com problemas de delimitação genérica e específica. Na recente classificação proposta por Lohmann & Taylor (2014), *Pachyptera* inclui quatro espécies: *Pachyptera aromatica* (Barb. Rodr.) L.G. Lohmann, *Pachyptera erythraea* (Dugand) A.H. Gentry, *Pachyptera kerere* e *Pachyptera ventricosa* (A.H. Gentry) L.G. Lohmann. *Pachyptera aromatica* é encontrada em florestas úmidas dos estados brasileiros Amazonas, Amapá e Rondônia. *Pachyptera erythraea* é endêmica do vale do rio Magdalena na Colômbia. *Pachyptera kerere* é tipicamente encontrada nas florestas úmidas e de igapós distribuída desde Belize na América Central até Amazônia Central no Brasil. *Pachyptera ventricosa* é uma espécie rara endêmica do Pará, Maranhão (Lohmann & Taylor, 2014) (Fig. 1). Essa classificação foi baseada em informações moleculares para toda a tribo Bignonieae e

sustentada por sinapomorfias morfológicas (por exemplo, ritidoma escamante quando velho e linhas de glândulas na corola) (Lohmann, 2006). No entanto, a filogenia de Lohmann (2006) visava reconstruir o parentesco ao nível genérico em toda a tribo Bignonieae, de forma que a amostragem dentro de cada um dos 21 gêneros amostrados não foi completa. No caso de *Pachyptera*, 50% da diversidade foi amostrada, com a inclusão de duas das quatro espécies reconhecidas (i.e., *P. aromatica* e *P. kerere*).

Espécies de *Pachyptera* apresentam ampla diversidade morfológica, especialmente em caracteres florais. Por exemplo, *P. aromatica* apresenta inflorescências racemosas, com flores brancas, hipocrateriformes, e antese noturna (Barbosa Rodrigues, 1891). Esta espécie apresenta o tipo floral *Tanaecium* e se encaixa na síndrome de polinização por mariposas (Gentry, 1974). *Pachyptera ventricosa*, por outro lado, apresenta inflorescências tirsóides e exibe flores rosa à roxo claras, campanuladas, com anteras glabras. O tipo floral desta espécie é classificado como um variante de *Martinella*, provavelmente associado a síndrome de polinização por morcegos (Gentry, 1974; Alcantara & Lohmann, 2010; Machado & Vogel, 2004). Por fim, *P. erythraea* e *P. kerere* exibem inflorescências racemosas e congestas. A coloração das flores varia de laranja à vermelha em *P. erythraea*, com beija-flores representando potenciais vetores (Gentry, 1974). A corola de *P. kerere* é creme ou branca, rosa à lilás em *Pachyptera kerere* var. *incarnata* (Aubl.) A.H. Gentry (Gentry, 1973). Flores de *P. kerere* correspondem ao tipo floral *Anemopaegma*, associado a síndrome de polinização por abelhas de médio e grande tamanho. Há indícios de que *P. kerere* represente um complexo de espécies (Sprague & Sandwith, 1932). Além disso, *P. erythraea* e *P. kerere* são vegetativamente idênticas e vários autores classificaram sua diversidade floral como variação intraespecífica (Dugand, 1955; Gentry, 1973, 1979). Um melhor entendimento do parentesco entre essas linhagens é necessário para uma delimitação de espécies mais precisa.

Microsatélites moleculares

Marcadores microsatélites, contribuíram de forma muito positiva para a compreensão dos processos que determinam a estrutura e variação dentro e entre populações naturais (Provan *et al.*, 2001). Microsatélites (SSRs, do inglês, *Simple Sequence repeats*) são pequenas sequências de DNA compostas por repetições *in*

tandem (em fila) de unidades formadas por um até seis nucleotídeos (Egan *et al.*, 2012). Os SSRs são encontrados no genoma de procariotos e eucariotos sendo mais abundantes nas regiões não codificantes (Ebert & Peakall, 2009; Egan *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2002). Quanto ao tipo de repetição, SSRs são classificados em: perfeitos, quando as repetições não são interrompidas, por exemplo (AT)₂₀; imperfeitos, quando a sequência de DNA é interrompida por diferentes nucleotídeos que não se repetem, por exemplo (AT)₁₂GC(AT)₈; e composto, quando existe dois ou mais motivos de repetição *in tandem*, por exemplo (AT)₇(GC)₆ (Egan *et al.*, 2012).

Os SSRs possuem alta taxa de mutação por geração e, consequente alto polimorfismo, podendo variar entre genótipos individuais (Hoshino *et al.*, 2012; Zalapa *et al.*, 2012). *Crossing over* desigual e *slippage* durante a replicação do DNA são os principais mecanismos sugeridos aos processos de mutação responsáveis pela alteração no número de cópias das unidades repetidas. Normalmente, assume-se que os microsatélites evoluem de forma neutra, permitindo que alguns modelos de evolução sejam aplicáveis (Li *et al.*, 2002; Ellegren, 2004). Além disso, como as regiões flangeadoras (*primers*) dos SSRs são conservadas, geralmente os SSRs são também aplicáveis entre espécies relacionadas ou até mesmo entre gêneros (Provan *et al.*, 2001; Hoshino *et al.*, 2012). Assim, sua ampla distribuição em todo o genoma, o alto polimorfismo e a fácil transferência entre espécies proporcionam uma ampla e bem sucedida aplicação desses marcadores em estudos sobre processos ecológicos e evolutivos que dão forma às populações de plantas (Ellegren, 2004; Provan *et al.*, 2011; Ebert & Peakall, 2009).

O emprego de sequenciamento de próxima geração (do inglês, *next-generation sequencing* NGS) permite isolar e desenvolver facilmente marcadores SSR de genomas nucleares e plastidiais (Egan *et al.*, 2012). Tal método é mais rápido e barato em comparação às abordagens tradicionais (Egan *et al.*, 2012; Zalapa *et al.*, 2012) e, uma vez desenvolvidos, os marcadores de SSRs são rápidos e fáceis de usar. Nesse contexto, um dos objetivos do nosso trabalho foi contribuir com o desenvolvimento de SSR's para facilitar futuros estudos filogeográficos que busquem resolver questões ecológicas e evolutivas de *Pachyptera*.

OBJETIVOS

O presente estudo possui quatro objetivos centrais:

1. Reconstruir a filogenia do gênero *Pachyptera* (Capítulos 1 e 2);
2. Reconstruir a história biogeográfica do gênero (Capítulo 2);
3. Elaborar uma revisão taxonômica do grupo (Capítulo 3);
4. Desenvolver microssatélites de cloroplasto para serem utilizados em futuros estudos filogeográficos e de genética de população em *Pachyptera* (Capítulo 4).

ESTRUTURA DA DISSERTAÇÃO

A dissertação é composta por quatro capítulos cuja formatação segue à revista para onde o manuscrito foi submetido. Em linhas gerais, os capítulos contêm os seguintes estudos:

Capítulo 1. Este capítulo incluiu um primeiro estudo filogenético do gênero contendo todas as espécies circunscritas em *Pachyptera* segundo a classificação mais recente do gênero (Lohmann & Taylor, 2014). Nesse estudo, reconstruímos o parentesco entre as espécies e gêneros da tribo Bignonieae utilizando dois marcadores moleculares (*PepC* e *ndhF*) de forma a testar o monofiletismo do grupo. Neste trabalho uma espécie de *Pachyptera* aparece como mais proximamente relacionada à *Mansoa* e o reestabelecimento de *M. ventricosa* é proposto. Além disso, apresentamos uma descrição detalhada dessa espécie, mapa de distribuição e sua primeira ilustração. Esse manuscrito foi aceito para publicação na revista *Phytotaxa*.

Capítulo 2. Este capítulo inclui uma filogenia de *Pachyptera* reconstruída com base em uma ampla amostragem de indivíduos. A filogenia é analisada à luz de dados morfológicos e análises de coalescência de modo a avaliar a circunscrição de espécies dentro do complexo de espécies *P. kerere*. Com base nestas análises, cinco espécies são reconhecidas: (i) *P. aromatica*, (ii) *P. erythraea*, (iii) *P. incarnata*, (iv) *P. kerere*, e (v) *P. linearis*. Além disso, este capítulo também inclui um estudo biogeográfico, que visa avaliar os principais fatores e rotas de diversificação do grupo na região amazônica

gerando hipóteses a serem testadas em estudos futuros. Este manuscrito foi submetido à revista *Systematic Botany*.

Capítulo 3. Este capítulo inclui a revisão taxonômica de *Pachyptera* contendo uma chave de identificação para todas as espécies, descrições morfológicas, lista de sinônimos, informações sobre habitat, fenologia e mapas de distribuição para todos os taxa tratados. Adicionalmente, designamos dois lectótipos, propomos a elevação de uma variedade à nível específico e descrevemos uma nova espécie. Esse manuscrito foi submetido para publicação na revista *Phytokeys*.

Capítulo 4. Este capítulo consiste na caracterização e desenvolvimento de microssatélites (SSRs), elaborados com base nas sequências do genoma de cloroplasto de *P. kerere* reconstruído através de sequenciamento de próxima geração. Neste trabalho realizamos testes de validação dos primers sintetizados e do grau de polimorfismo dos SSRs, bem como realizamos testes bem sucedidos de transferabilidade para outras espécies do gênero utilizando os microssatélites polimórficos. Esse manuscrito foi publicado na revista *Applications in Plant Science*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alcantara, S. & L.G. Lohmann. 2010. Evolution of floral morphology and pollination system in Bignoniaceae (Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 97: 782–96.
- Aleixo, A. 2004. Historical diversification of a terra-firme forest bird superspecies: A phylogeographic perspective on the role of different hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution* 58: 1303–1317.
- Anhuf, D., M.P. Ledru & H. Behling. 2006. Paleo–environmental change in Amazonian and African rainforest during the LGM. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 239: 510–527.
- Antoine, P.O., D. De Franceschi, J.J. Flynn, A. Nel, P. Baby, M. Benammi & R. Salas–Gismondi. 2006. Amber from western Amazonia reveals Neotropical diversity during the middle Miocene. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 103: 13595–13600.

- Antonelli, A. & I. Sanmartín. 2011. Why are there so many plant species in the Neotropics? *Taxon* 60: 403–414.
- Antonelli, A., J.A. Nylander, C. Persson & I. Sanmartín. 2009. Tracing the impact of the Andean uplift on neotropical plant evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 106: 9749–9754.
- Barbosa Rodrigues, J. 1891. *Eclogae plantarum novarum*. Vellozia, Rio de Janeiro, 1: 1–133.
- Brower, A.V. & M.G. Egan. 1997. Cladistic analysis of *Heliconius* butterflies and relatives (Nymphalidae: *Heliconiini*): A revised phylogenetic position for *Eueides* based on sequences from mtDNA and a nuclear gene. *Proceedings of the Royal Society of London* 264: 969–977.
- Brown, K.S. Jr. 1987. *Biogeography and evolution of neotropical butterflies*. In: *Biogeography and Quaternary history in tropical America* (Eds. By T.C. Whitmore & G.T. Prance). Oxford Science Publications, Oxford, 66–104.
- Bush, M.B. & P.E.D. Oliveira. 2006. The rise and fall of the refugial hypothesis of Amazonian speciation: A paleoecological perspective. *Biota Neotropica* 6.
- Bush, M.B. 1994. Amazonian speciation: A necessarily complex model. *Journal of Biogeography* 21: 5–17.
- Candolle, A.P. 1845. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. Paris. 9:175–176.
- Colinvaux, P.A. & P.E. de Oliveira. 2001. Amazon plant diversity and climate through the Cenozoic. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 166.1: 51–63.
- Colinvaux, P.A., P.E. de Oliveira & M.B. Bush. 2000. Amazonian and neotropical plant communities on glacial time-scales: The failure of the aridity and refuge hypotheses. *Quaternary Science Reviews* 19: 141–169.

- Cooke, G.M., N.L. Chao & L.B. Beheregaray. 2012. Marine incursions, cryptic species and ecological diversification in Amazonia: The biogeographic history of the croaker genus *Plagioscion* (Sciaenidae). *Journal of Biogeography* 39: 724–738.
- Duellman, W.E. 1982. *Quaternary climatic–ecological fluctuations in the lowland tropics: Frogs and forests*. In: Biological Diversification in the Tropics (Ed. Prance, G.T.). Columbia University Press, New York, 389–402.
- Dugand, A. 1955. *Bignoniaceas nuevas o notables de Colombia*. *Caldasia* 7: 16.
- Ebert, D., & R.O.D. Peakall. 2009. Chloroplast simple sequence repeats (*cpSSRs*): Technical resources and recommendations for expanding *cpSSR* discovery and applications to a wide array of plant species. *Molecular Ecology Resources* 9: 673–690.
- Egan, A.N., Schlueter, J. & D.M. Spooner. 2012. Applications of next-generation sequencing in plant biology. *American Journal of Botany* 99: 175–185.
- Ellegren, H. 2004. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nature Reviews Genetics* 5:435–445.
- Fearnside, P.M. 1999. Biodiversity as an environmental service in Brazil's Amazonian forests: Risks, value and conservation. *Environmental conservation* 26: 305–321.
- Funk, W.C., J.P. Caldwell, C.E. Peden, J.M. Padial, I. de la Riva & D.C. Cannatella. 2007. Tests of biogeographic hypotheses for diversification in the Amazonian forest frog (*Physalaemus petersii*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 44: 825–837.
- Gentry, A.H. 1974. Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 61: 728–759.
- Gentry, A.H. 1980. Bignoniaceae Part I – Tribes Crescentieae e Tourretieae. *Flora Neotropica* 25: 1–130.
- Gentry, A.H. 1982. Neotropical floristic diversity: Phytogeographical connections between Central and South America, Pleistocene climatic fluctuations, or an accident of the Andean orogeny? *Annals of the Missouri Botanical Garden* 69: 557–593.

- Gentry, A.H. 1973. Generic delimitations of Central American Bignoniaceae. *Brittonia* 25: 226–242.
- Gentry, A.H. 1979. Additional generic mergers in Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 66: 778–787.
- Gentry, A.H. 1992. A synopsis of Bignoniaceae ethnobotany and economic botany. *Annals Missouri Botanical Garden* 79: 53–64.
- Gentry, A.H. 1992. Tropical forest biodiversity: Distributional patterns and their conservational significance. *Oikos* 63: 19–28.
- Haffer, J. 1969. Speciation in amazonian forest birds. *Science* 165:131–137.
- Haffer, J. 1979. *Quaternary biogeography of tropical lowland South America*. In: The South American herpetofauna: its origin, evolution, and dispersal (Ed. Duellmann, W.E.). University of Kansas/Museum of Natural History, Kansas, 107–140.
- Haffer, J.R. 1997. Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodiversity and Conservation* 6: 451–476.
- Hall, J.P. & D.J. Harvey. 2002. The phylogeography of Amazonia revisited: New evidence from riordinid butterflies. *Evolution* 56: 1489–1497.
- Hoorn, C. *et al.* 1993. Marine incursions and the influence of Andean tectonics on the Miocene depositional history of northwestern Amazonia: Results of a palynostratigraphic study. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 105: 267–309.
- Hoorn, C., *et al.* 2010. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science* 330: 927–931.
- Hoorn, C., *et al.* 1995. Andean tectonics as a cause for changing drainage patterns in Miocene northern South America. *Geology* 23: 237–240.
- Hoshino, A.A, J.P. Bravo, P.M. Nobile & K.A. Morelli. 2012. *Microsatellites as tools for genetic diversity analysis*. In: Genetic diversity in microorganisms (Ed. Caliskan, M). Tech, Rijeka, 149–170.

- Leite, R.N.& D.S. Rogers. 2013. Revisiting Amazonian phylogeography: Insights into diversification hypotheses and novel perspectives. *Organisms Diversity and Evolution* 13: 639–664.
- Lewinsohn, T. M. & P. I. Prado .2005. How many species are there in Brazil? *Conservation Biology* 19: 619–624.
- Li, Y.C., A.B. Korol, T. Fahima, A. Beiles & E. Nevo. 2002. Microsatellites: Genomic distribution, putative functions and mutational mechanisms: A review. *Molecular Ecology* 11: 2453–2465.
- Lohmann, L.G. & C.M. Taylor. 2014. A new generic classification of tribe Bignonieae (Bignoniaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* 99: 348–489.
- Lohmann, L.G. 2006. Untangling the phylogeny of neotropical lianas (Bignonieae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* 93: 304–318.
- Lohmann, L.G. & C. Ulloa Ulloa. *Bignoniaceae*. Disponível em: <www.iplants.org>. Acesso em: 12 jan. 2016.
- Lourenço, W.R. & E. Florez, 1991. Scorpions (Chelicerata) from Colombia: III. The scorpion fauna of Pacific region (Choco), with some biogeographic considerations. *Amazoniana* 11: 119–134
- Lovejoy, N.R., J.S. Albert & W.G. Crampton. 2006. Miocene marine incursions and marine/freshwater transitions: Evidence from Neotropical fishes. *Journal of South American Earth Sciences* 2: 5–13.
- Machado, I.C. & S. Vogel. 2004 The North–East–Brazilian liana, *Adenocalymna dichilum* (Bignoniaceae) pollinated by bats. *Annals of Botany* 93: 609–613.
- Malhi, Y., J.T. Roberts, R.A. Betts, T.J. Killeen, W.H. Li & C.A. Nobre. 2008. Climate change, deforestation, and the fate of the Amazon. *Science* 319: 169–172.
- Moritz, C., J. L. Patton, C. J. Schneider & T. B. Smith. 2000. Diversification of rainforest faunas: An integrated molecular approach. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31: 533–563.

- Olmstead, R.G., M.L. Zjhra, L.G. Lohmann, S.O. Grose & A.J. Eckert. 2009. A molecular phylogeny and classification of Bignoniaceae. *American Journal of Botany* 96: 1731–1743.
- Patton, J.L., M.N.F. da Silva & J.R. Malcolm. 2000. Mammals of the Rio Juruá and the evolutionary and ecological diversification of Amazonia. *Bulletin of the American Museum of Natural History* 244: 1–306.
- Pons, D. & D. Franceschi. 2007. Neogene woods from western Peruvian Amazon and palaeoenvironmental interpretation. *Bulletin of Geosciences* 82: 343–354.
- Prance, G.P. 1982. A review of the phytogeographic evidences for Pleistocene climate changes in the neotropics. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 69: 594–624
- Provan, J., W. Powell & P.M. Hollingsworth. 2001. Chloroplast microsatellites: New tools for studies in plant ecology and evolution. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 142–147.
- Räsänen, M., A. Linna, G. Irion, L. Rebata Hernani, R. Vargas Huaman & F. Wesselingh 1998. *Geología y geoformas de la zona de Iquitos*. In: Geoecología y desarrollo Amazónico: estudio integrado en la zona de Iquito (Eds. Kalliola, R. & S. Flores Paitán). *Annales Turkuensis, Peru*, 114: 59–137
- Ribas C.C., A. Aleixo, A.C.R. Nogueira, C.Y. Miyaki & J. Cracraft. 2011. A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years *Proceedings of the Royal Society of London* 279: 681–689.
- Ribas, C.C. & C.Y. Miyaki. 2004. Molecular systematics in *Aratinga* parakeets: Species limits and historical biogeography in the ‘solstitialis’ group, and the systematic position of *Nandayus nenday*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30: 663–675.
- Ron, S.R. 2000. Biogeographic area relationships of lowland Neotropical rainforest based on raw distributions of vertebrate groups. *Biological Journal of the Linnean Society* 71: 379–402.
- Rull, V. 2011. Neotropical biodiversity: Timing and potential drivers. *Trends in Ecology and Evolution* 26: 508–513

- Scotti–Saintagne C. *et al.*. 2013. Amazon diversification and cross– Andean dispersal of the widespread Neotropical tree species *Jacaranda copaia* (Bignoniaceae). *Journal of Biogeography* 40: 707–719.
- Silva, J.M.C.& D.C. Oren. 1996. Application of parcimony analysis of endemism (PAE) in Amazon biogeography: An example with primates. *Biological Journal of the Linnean Society* 59: 427–437.
- Spangler, R.E. & R.G. Olmstead. 1999. Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences *rbcL* and *ndhF*. *Annals Missouri Botanical Garden* 86: 33–46.
- Sponsel, L.E. 1995. Indigenous peoples and the future of Amazonia: An ecological anthropology of an endangered world. University of Arizona Press.
- Sprague, T.A. & N.Y. Sandwith. 1932. Contributions to the flora of tropical America: X. New and noteworthy Bignoniaceae from British Guiana, mainly collected by the Oxford University Expedition, 1929. *Bulletin of Miscellaneous Information Kew* 1932: 81–93.
- Wallace, A.R. 1852. On the monkeys of the Amazon. *Proceedings of the Zoological Society of London* 20: 107–110.
- Wesselingh, F.P. & J.A. Salo. 2006. A Miocene perspective on the evolution of the Amazonian biota. *Scripta Geologica* 133: 439–458.
- Wesselingh, F.P. 2006. Miocene long-lived Lake Pebas as a stage of mollusc radiations, with implications for landscape evolution in Western Amazonia. *Scripta Geologica* 133:1–14.
- Wesselingh, F.P., C. Hoorn, S.B. Kroonenberg, A. Antonelli, J.G. Lundberg, H.B. Vonhof & H. Hooghiemstra. 2010. *On the origin of Amazonian landscapes and biodiversity: A synthesis*. In: Amazonia: Landscape and species evolution (Eds. Hoorn, C. & F. Wesselingh). Wiley-Blackwell, Oxford, 421–431.

Zalapa , J.E. *et al.* . 2012 . Using next-generation sequencing approaches for the isolation of simple sequence repeat (SSR) loci in the plant sciences. *American Journal of Botany* 99: 193–208 .

Figura 3. Distribuição de *Pachyptera* e *Mansoa ventricosa*, indicando as localidades de ocorrência das espécies tratadas neste trabalho.

Figura 2. Árvore de consenso estrito oriunda da análise de máxima verossimilhança do conjunto de dados combinado (*ndhF* e *PepC*). Esta filogenia foi utilizada como base para a atual classificação genérica da tribo Bignonieae (Lohmann & Taylor, 2014). *Leucocalantha* = *Pachyptera*. Árvore retirada de Lohmann (2006).

Figura 3. Características morfológicas de *Pachyptera aromatica* (A-D), *Pachyptera erythraea* (E-F), *Pachyptera incarnata* (G-M), *Pachyptera kerere* (N-Q) e *Mansoa ventricosa* (R-U).

Considerações Finais

Essa dissertação reconstruiu a filogenia de *Pachyptera* utilizando uma ampla amostragem de taxa e marcadores moleculares. A filogenia do grupo indicou que *P. ventricosa* é mais proximamente relacionada à *Mansoa* do que *Pachyptera*. Embora a espécie compartilhe várias características morfológicas com ambos os gêneros, encontramos novas características morfológicas que corroboram a posição de *P. ventricosa* em *Mansoa*. Assim, propusemos o restabelecimento de *Mansoa ventricosa* (Capítulo 1). Com esta modificação, *Pachyptera* passou a constituir um grupo monofilético.

Utilizando uma abordagem integrativa que incluiu a interpretação da filogenia molecular do grupo à luz e de dados morfológicos e resultados de análises de coalescência, esclarecemos as relações infra-genéricas do confuso complexo de espécies *P. kerere* (Capítulo 2). A clara definição dos limites entre espécies serviu como base para importantes decisões taxonômicas, incluindo o reconhecimento de *P. kerere* var. *incarnata* como uma espécie e a descrição de uma espécie nova (*P. linearis*). Ao todo reconhecemos cinco espécies de *Pachyptera*, as quais são tratadas em uma monografia do gênero. Esta monografia inclui descrições morfológicas detalhadas, lista completa de sinônimos, dados de ecologia, fenologia, distribuição e comentários taxonômicos para cada espécie. Uma chave de identificação e ilustrações para cada espécie também são fornecidas permitindo a rápida identificação dos taxa tratados (Capítulo 3).

A filogenia de *Pachyptera* foi utilizada como base em um estudo da história biogeográfica do gênero. Este estudo indicou que o grupo teve sua origem no Eoceno Tardio, e diversificou-se durante o Mioceno, um período com perturbações intensas que parecem estar associadas à diversificação do grupo (Capítulo 2). Este estudo levanta diversas hipóteses sobre a história de diversificação do gênero para serem testadas em estudos futuros. Para tal, desenvolvemos SSR's com base em dados de sequenciamento de próxima geração. Os testes de transferabilidade demonstraram que a aplicabilidade desses SSRs não se restringe apenas as espécies de *Pachyptera*, mas também se aplica a outros gêneros de Bignoniaceae, especificamente *Mansoa*. Portanto, o alto polimorfismo dos SSR's indica o alto potencial desses marcadores em outros grupos

taxonômicos. Estes marcadores serão de grande utilidade para futuros estudos filogeográficos com o grupo.