Miriam Kaehler

Revisão, filogenia, evolução e biogeografia de
Lundia DC. (Bignoniaceae, Bignoniaceae)

Revision, phylogeny, evolution and biogeography of
Lundia DC. (Bignoniaceae, Bignoniaceae)

Tese apresentada ao Instituto de
Biociências para obtenção do grau de
Doutor em Ciências, área de concentração
Botânica

Orientadora: Dra. Lúcia G. Lohmann

São Paulo,
Janeiro de 2011

Kaehler, Miriam

Revisão, filogenia, evolução e biogeografia de *Lundia* DC. (Bignoniaceae, Bignoniaceae).

Número de páginas: 202

Tese (Doutorado) - Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo. Departamento de Botânica.

1. *Lundia*; 2. Filogenia; 3. Biogeografia; 4. Bignoniaceae; 5. Bignoniaceae.

I. Universidade de São Paulo. Instituto de Biociências. Departamento de Botânica.

Comissão Julgadora

Prof. Dr. José Rubens Pirani

Dr. Fabián Armando
Michelangeli

Prof. Dr. Alberto Vicentini

Prof. Dr. João Semir

Profa. Dra. Lúcia Garcez
Lohmann
Orientadora

Agradecimentos

Este trabalho jamais teria sido feito sem a participação de várias pessoas que me ajudaram muito. Me perdoem as várias páginas de agradecimentos, mas realmente preciso agradecer a todos.

Entre estas pessoas está minha florzinha **Natália**, que sem saber me ajudou muito a manter os pés no chão. Minha florzinha, obrigada! Dentre as pessoas que me ajudaram, devo sem dúvida o maior agradecimento ao **Paulinho Labiak**. Agradeço muito por ele ter sido sempre presente em casa como marido, pai (e genro). Agradeço por ele ter sido grande “or” do meu trabalho. Foi muitas vezes co-orientador, financiador, mediador, pacificador, coletor, tradutor, revisor... mas, principalmente, foi o grande incentivador e facilitador para que esse trabalho pudesse ser concluído. Muito obrigada, meu amor!

Na mesma linha de agradecimentos, agradeço aos meus pais **Raul Kaehler** e **Arly M. Kaehler** e meus sogros **Nair L. Evangelista** e **Paulino Evangelista** por muitas e muitas vezes “segurarem a barra” enquanto eu estava viajando ou escrevendo e à minha irmã **Deisi Kaehler Pupo** e seu marido **Auri Pupo Jr.**, que com toda a disposição “seguraram a barra” de toda vida pessoal que ficou aqui no Brasil enquanto estávamos fora. Muito obrigada!

Agora gostaria de agradecer as pessoas que se envolveram profissionalmente no meu trabalho. Primeiro, agradeço aos meus orientadores: À **Lúcia G. Lohmann**, por ter me norteado principalmente no início e por ter me ajudado a conquistar coisas que eu não acreditava que conseguiria. Também agradeço por ter acreditado no meu trabalho e por respeitar minhas decisões e opiniões, mesmo eu estando tão distante nestes três últimos anos. Também agradeço ao **Fabián A. Michelangeli** pela orientação e amizade. Agradeço por ter sempre “na ponta da língua” a frase: “It’s up to you, but... why?” que foi sempre uma excelente maneira de me fazer ponderar de que maneira eu iria solucionar os problemas que vinham aparecendo com o desenvolvimento do trabalho. Agradeço por ter me ajudado de forma tão intensiva as atividades dos Laboratórios de molecular, anatomia e sistemática e por sempre me incentivar a buscar o maior detalhamento possível de tudo. Também sou muito grata pela acolhida que deu no nosso estabelecimento em Nova Iorque e pelos diversos momentos de descontração de final de semana e dos almoços regados pelos mais variados assuntos, desde curiosidades da vida botânica até o resultado e melhores momentos dos torneios de *baseball* e futebol. Muchas Gracias!

Como desenvolvi meu trabalho por três anos distante da USP, gostaria de agradecer as pessoas que me auxiliaram e permitiram o acesso a laboratórios externos da USP: Entre estas pessoas estão **Lawrence Kelly**, **Gregory Plunkett**, **Dennis Stevens** e **Amy Litt** que me receberam e abriram às portas de toda a estrutura do NYBG. Também agradeço muito a **Renato Goldenberg** que permitiu que eu utilizasse a estrutura do Herbário do Departamento de Botânica da UFPR, incluindo o agitado Laboratório de Sistemática e a **Erika Amano**, que da mesma forma permitiu a utilização do laboratório de Botânica Estrutural da UFPR.

A atividade nos diversos laboratórios que frequentei foi muito facilitada pela ajuda que recebi de várias pessoas, entre elas **Antoine Nicolas**, **Natalia Pabón-Mora**, **Marcela Thadeo** e **Matt Sewell** no NYBG, **Benoit Louille** e **Alexandre Zuntini** na USP, e **Nilson Belém Filho** na UFPR. Também aproveito para agradecer meu primo **Marcos de A. Kaehler** que me ensinou os “truques” do ArcView para a confecção dos mapas de distribuição e a **Diana Carneiro** que ilustrou as espécies com toda atenção e cuidado. A todos, muito obrigada!

Também não posso me esquecer das várias pessoas que me ajudaram com as coletas das

espécies de *Lundia* pelo Brasil e América Latina. Agradeço a **Alice Calvente, Anselmo Nogueira, Alberto Urben Filho, Cláudio Nicolleti, Fernando Costa Straube, Milene Silva, Pedro Swartzbach, Fernando Mattos, Renato Goldenberg** e claro, **Paulinho Labiak**.

Gostaria de agradecer às várias pessoas que contribuíram para a execução deste projeto nas discussões sobre os métodos, nomenclatura e conceitos. Dentre as pessoas que conheci na USP agradeço pelas intensas discussões sobre morfologia e métodos com as pessoas do grupo de estudos coordenado pela Profa. Lúcia Lohmann (GEEBIC), especialmente **Suzana Alcantara, Mariane Souza-Baena, Marcelo Pace, Anselmo Nogueira, Richard Winkworth, Hugo Cota-Sanchez, Benôit Loeuille** e novamente **Lúcia Lohmann; Jefferson Prado** pela valiosa ajuda com a Nomenclatura Botânica; e **Tiina Sarkinen** pela ajuda com os métodos Biogeográficos. Dentre as pessoas que conheci no NYBG agradeço a **Marcela Thadeo, Natalia Pabón-Mora, Fávio Gonzales, Marc Jeanson** e **Donald McLelland** pelas instrutivas conversas a cerca de morfologia, e novamente a **Fabián Michelangeli** pela ajuda tanto com a morfologia e codificação da morfologia, bem como com as sugestões para o desenvolvimento da parte molecular do projeto.

Gostaria também de agradecer às pessoas dos herbários a que estive vinculada formal ou informalmente. Dentre elas **Abel Conceição** e **Fabiana Begale** do SPF; **Tom Zanoni** e **Luci Klebienko** do NY; **Renato Goldenberg, Paulo Labiak** e **Simone Pereira** do UCPB; **Clarice Poliquesi** e Dr. **Gert Hatschbach** do MBM. Muito obrigada pela presteza!

Não menos importante, gostaria de agradecer aos amigos **Viviane Muniz Barreto, Alberto Urben-Filho, Cila Rocha, Fernando Straube, Elisa Sukanuma, Alejandra Vasco, Marcela Thadeo, Douglas Daly, Suzana Alcantara, Benôit Loeuille** e **Mariana W. Loeuille** pelo apoio, descontração, hospedagem, jantares, almoços, saca-rolhas... ou seja: pela amizade! Sou muito agradecida a todos vocês!

Por fim agradeço muito às instituições que me acolheram e financiaram a execução do desta tese: ao **CNPq** pelas bolsas de Doutorado (processo 140114/2007-6) e Doutorado Sandwich (processo 201723/2008-5), à International Association for Plant Taxonomy (**IAPT**) pelo “2008 IAPT Research Grant” e à American Society of Plant Taxonomists (**ASPT**) pelos “2008 ASPT Graduate Student Research Grant”. Também agradeço ao **The New York Botanical Garden** por ter me acolhido, e a **Fabián Michelangeli** por ter custeado minhas atividades nas dependências do NYBG.

Sumário

Resumo	1
Abstract	2
Introdução Geral	3
Histórico desta tese	7
Referências Bibliográficas	12
Capítulos:	
Capítulo 1. “Phylogeny of <i>Lundia</i> (Bignoniaceae, Bignoniaceae) based on molecular and morphological characters” (em inglês).....	17
Acknowledgments.....	18
Abstract.....	19
Introduction.....	21
Material and methods.....	23

Results.....	29
Discussion.....	33
Literature Cited.....	41
Capítulo 2. “Taxonomic revision of <i>Lundia</i> DC. (Bignoniaceae, Bignoniaceae)” (em inglês)	63
Summary.....	66
Taxonomic history.....	66
Morphology and anatomy.....	69
Wood.....	69
Branches.....	69
Petioles and petiolules.....	70
Leaves.....	71
Tendrils.....	72
Inflorescence.....	72
Calyx.....	74
Corolla.....	75
Nectar Guides and Nectar Disc.....	76
Androecium.....	77
Pollen.....	78
Gynoecium.....	79
Fruit.....	80
Seed.....	81
Pollination.....	81
Taxonomic treatment.....	82
Key to species.....	82
<i>Lundia</i>	84
<i>Lundia corymbifera</i>	85
<i>Lundia damazioi</i>	91
<i>Lundia densiflora</i>	94
<i>Lundia erionema</i>	98
<i>Lundia gardneri</i>	102
<i>Lundia helicocalyx</i>	104
<i>Lundia laevis</i>	106
<i>Lundia longa</i>	109
<i>Lundia nitidula</i>	113
<i>Lundia obliqua</i>	117
<i>Lundia puberula</i>	120
<i>Lundia spruceana</i>	125
<i>Lundia virginialis</i>	128
Doubtful and excluded names.....	131
Acknowledgments.....	133
Literature Cited.....	134
Numerical list of species.....	138
Index to numbered collections examined.....	139
Capítulo 3. “Biogeographic history of the Neotropical genus <i>Lundia</i> DC.” (em inglês)	163
Abstract.....	164
Introduction.....	166
Material and Methods.....	169
Results.....	172

Discussion.....	173
References.....	178
Considerações finais	190
Referências.....	193

Anexos

Anexo 1 : Artigo submetido para publicação: “A new species of *Lundia* (Bignoniaceae) from Brazil.”.....195

Anexo 2: Filogenia morfológica de *Lundia* DC. (Bignoniaceae, Bignoniaceae). Painel apresentado no 59º Congresso Nacional de Botânica (anexado na versão eletrônica apenas).

Lista de Figuras:

Capítulo 1:

Fig. 1. Majority rule consensus trees and respective phylograms derived from bayesian analyses: A- *ndhF*; B- *PepC*. Values presented over the nodes represent parsimony bootstrap, while values presented under the nodes represent posterior probabilities derived from the bayesian analyses (in %); * indicates 100% support. Arrows indicate the *Lundia* clade and gray boxes indicate section *Eulundia*. Only bootstrap values greater than 75 and posterior probabilities greater than 95% are shown.....49

Fig. 2. Majority rule consensus tree derived from a bayesian analysis of the combined dataset. Numbers above branches represent posterior probabilities (in %); only values greater than 95% are shown.....50

Fig. 3. Selected morphological characters mapped over the bayesian consensus tree derived from the combined analysis using a “Slow optimization criterion.” Numbers shown over the circles and rectangles correspond to the morphological characters presented in Appendix S1. Numbers presented under the circles and rectangles represent the character states presented in Appendix S2. Black and white circles represent non-homoplasious and homoplasious characters, respectively. Black rectangles represent the homoplasious characters that lack reversals after that particular node. Arrows represent characters that are diagnostic of *L. nitidula* and *L. obliqua*.....51

Capítulo 2:

Fig. 1. A. *Lundia longa*. Cross section of stem showing four phloem wedges (Zuntini 1, SPF); B. *L. damazioi*. Cross section of stem showing multiples of four phloem wedges (Pace 55, SPF); C. *L. obliqua*. Cross section of a young stem showing the differential deposition of suberin in the cortex (Kaehler 406, UP CB); D. *L. laevis*. Old interpetiolar gland fields (Rosário 48, NY); E. *L. erionema*. Interpetiolar gland field with ants (Lohmann 371, NY); F. *L. nitidula*. Non-prominent interpetiolar edge (Reitz 3117, NY); G. *L. spruceana*. Gland field on the inflorescence axis (Nee 48266, NY); H. *L. damazioi*. Prominent interpetiolar edge (Hatschbach 52738, MBM).....148

Fig. 2. A. *Lundia helicocalyx*. Simple trichomes at leaflet margin, apex, and surface; white arrow indicates glandular peltate trichomes; black arrow indicates ‘scale-type’ gland (Kaehler & Nogueira 175, UP CB); B. *L. obliqua*. Inflorescence bracts showing the place of abortion of two flower buds (Hatschbach 42796, US); C. *L. damazioi*. Calyptrate calyx (Labiak & Schwarzbach 5181, UP CB); D. *L. erionema*. Buds showing a non-calyptrate opening; arrow indicates the reduced lobes of the calyx

(Cremers 8588, CAY); E. *L. damazioi*. Spathaceous calyx (Goldenberg 1422, MBM); F. *L. longa*. Bilabiate calyx (Campos-Porto s.n., RB).....149

Fig. 3. Three corolla shapes in *Lundia*: A. *L. damazioi*: narrow infundibuliform (Labiak 5181, UPCB); B. *L. puberula*: infundibuliform with narrow base (Cid 5235, INPA); C. *L. erionema*: corolla infundibuliform (Granville 6653, CAY).....150

Fig. 4. A. *Lundia helicocalyx*. Habit; white arrow indicates a young corolla (white externally and yellow internally); red arrow indicates pale yellow old flowers (Kaehler & Nogueira 196, SPF); B. *L. nitidula*. Cross section of a petal showing the staminode (st), simple trichomes (s.tr), and glandular trichomes with a positive result for protein (arrows) (Kaehler et al. 156, SPF); C. *L. nitidula*. Cross section of the petals surface showing glandular trichomes with positive result for carbohydrates (pink head) (Kaehler et al. 156, SPF); D. *L. nitidula*. SEM of short stalked glandular trichomes (Kaehler et al. 392, UPCB); E. *L. obliqua*. Long stalked glandular trichomes showing a positive result for oils (yellow head) (Kaehler 409, UPCB); F. *L. nitidula*. SEM of the internal surface of the base of a petal, showing a series of short stalked glandular trichomes (Kaehler et al. 392, UPCB).....151

Fig. 5. A. *Lundia densiflora*. Stamens inserted in two heights (arrows) (Silva 1777, NY); B. *L. longa*. Densely villose anthers (Pirani & Yano 769, SPF); C. *Cuspidaria octoptera*. Sparse trichomes on anthers (Hatschbach 78663, MBM); (D-H) Pollen grains; D. *L. damazioi* (Braga 1528, US); E. *L. spruceana* (Wurdack 2231, K); F. *L. nitidula* (Hatschbach 48567, MO); G. *L. obliqua* (Macedo 5763, US); H. *L. corymbifera* (Heringer 6268, US).....152

Fig. 6. A. *Lundia damazioi*. Cross section of ovary showing four ovules per locule (Labiak & Schwarzbach 5181, UPCB); B. *L. corymbifera*. Long trichomes at the base of ovary (Kaehler 151, UPCB); C. *L. densiflora*. Rhomboid stigma (Silva 1777, NY); D. *L. laevis*. Round stigma (Amaral 1134, F); E. *L. longa*. Elliptic stigma (Kaehler 199, UPCB); F. *L. nitidula*. Elliptic stigma showing trichomes in the margin (Hatschbach 48567, US).....153

Fig. 7. A-B *Lundia damazioi*: A. Habit and details of interpetiolar ridge, domatia, and lenticels; B. Open flower (Labiak et al 4615, MBM); C-E *L. gardneri*: C. Habit, detail of indument on leaflets, and detail of prophylls; D. Calyptrate calyx opening, E. Open flower (Hatschbach et al. 78663, MBM); F-K *L. corymbifera*: F. Habit, and detail of the interpetiolar region; G. Calyptrate calyx opening; H. Open flower; I. Rhomboid stigma; J. Ovary with long trichomes at base; K. Fruit base and cross section in (F-J: Kaehler et al. 402, UPCB; K: Magalhães 5048, IAN).....154

Fig. 8. Distribution of: *Lundia corymbifera*, *L. damazioi*, and *L. densiflora*.....155

Fig. 9. A-D *Lundia densiflora*: A. Habit; B. Open flower; C. Detail of the apex of the filament and anther (Evandro & Knowles 763, INPA); D. Detail of fruit base in cross section; E-F *L. helicocalyx*: E. Habit; F. Detail of the calyx (Arrais et al. s.n., TEPB [TEBP 10548]); G *L. erionema*: G.

Habit (<i>Prevost 736</i> , CAY).....	156
Fig. 10. Distribution of: <i>L. erionema</i> , <i>L. gardneri</i> , and <i>L. helicocalyx</i>	157
Fig. 11. A-G <i>L. laevis</i> A. Habit and detail of the interpetiolar gland field; B. Calyx opening by a transversal rupture; C. Open flower and detail showing the position of the glandular long and short stalked trichomes; D. Glandular long stalked trichome; E. Glandular short stalked trichome; F. Apical portion of stamen showing a glabrescent filament and pubescent anther; G. Gynoecium showing the rounded stigma (<i>Amaral 1134</i> , UB).....	158
Fig. 12. Distribution of: <i>Lundia laevis</i> , <i>L. longa</i> , and <i>L. nitidula</i>	159
Fig. 13. A-D <i>Lundia longa</i> : A. Habit and detail of the interpetiolar region; B. Open calyx; C. Open flower and detail of the short stalked trichomes on nectar guides, D. Ovary showing long trichomes at base (<i>Hatschbach & Kumrow 47986</i> , CEPEC); E-F <i>L. nitidula</i> : E. Habit and detail of the interpetiolar region, F. Open flower (<i>Hatschbach et al. 72457</i> , MBM); G-H <i>L. obliqua</i> : G. Habit and detail of interpetiolar region, H. Open flower (<i>Hatschbach 51250</i> , MBM).....	160
Fig. 14. Distribution of: <i>Lundia obliqua</i> , <i>L. puberula</i> , <i>L. spruceana</i> , and <i>L. virginalis</i>	161
Fig. 15. A-B. <i>Lundia puberula</i> : A. Habit and detail of the interpetiolar region; B. Open flower and stigma detail (<i>Prance et al. 6462</i> , MG); C-D. <i>L. spruceana</i> : C. Habit and detail of the interpetiolar region; D. Detail of open flower and stigma (<i>Solomon 14807</i> , MBM); E-G. <i>L. virginalis</i> : E. Habit, and detail of the interpetiolar region; F. Calyx shape when opened; G. Open flower and detail of the stigma (<i>Stannard et al. 51839</i> , CEPEC).....	162
Capítulo 3:	
Fig. 1. Distribution of the 13 species of <i>Lundia</i> currently recognized.....	184
Fig. 2. Neotropical areas considered in this study, modified from Morrone (2002). Pink=Amazonian sub-region (A); Light Blue=Caribbean sub-region (B); Orange=Chaqueña sub-region (C); Dark Blue=Andean region (D); and Green=Paranaense sub-region (E).....	185
Fig. 3. Bars represent the Height Posterior Distribution bound (HPD) of the estimated age. Red bars represent the calibrated nodes, and blue bars represent the HPD bounds for these nodes. Numbers presented above branches correspond to clade nodes (as discussed in the text). Colors of circles correspond to the colors of Fig. 2. Frequencies of distributions are presented in Table 1. Asterisks indicate clades with PP>0.95. A=Amazonian, B=Caribbean, C=Chaqueña, D= Andean, and E= Paranaense sub-regions.....	186

Lista de Tabelas

Capítulo 1

Table 1. Markers tested in the pilot study, followed by primer sequences and references.....	53
Table 2. Properties of the sequences tested. Six species were sampled for most markers in the pilot study (<i>Cuspidaria argentea</i> , <i>Lundia spruceana</i> , <i>L. corymbifera</i> , <i>L. helicocalyx</i> , <i>L. nitidula</i> , and <i>L. obliqua</i>), except for the markers <i>ndhF</i> , <i>PepC</i> and <i>ncpGS</i> for which a different number of taxa was used in this comparison; the exact number of sequences compared for each of these markers is listed below. Asterisks indicate markers for which we were unable to obtain outgroup	

sequences. We were also unable to obtain sequences for the following markers: rpb2, Pist, MAL, LFY and G3pdh.....54

Table 3. PCR conditions for each primer tested. All markers were submitted to 40 cycles during amplification.....55

Capítulo 3:

Table 1. Age, high posterior distribution bound (HPD bound), and frequency of distributions between sub-regions reconstructed for the individual clades. Clade numbers correspond to those presented in Fig. 3. A=Amazonian, B=Caribbean, C=Chaqueña, D= Andean, and E= Paranaense sub-regions.

Apêndices

Capítulo 1:

Appendix 1. Taxa, geographic origin, vouchers, and GenBank accessions (*ndhF*, *PepC*). “na” indicates that no sequence is available for that accession and “ns” indicates sequences that have not yet been submitted to GenBank. **Species:** Geographic origin; Voucher (Herbarium); GenBank accessions: *ndhF*; *PepC*.....46

Appendix S1. Morphological characters, respective character states and commentary. Character definitions follow the Lindley terminology compiled by Stearn (1992), except for leaf venation patterns which follows Ellis et al. (2009), or characters in which a detailed description of character coding is presented.....56

Appendix S2. Character coding of all specimens of *Lundia* and outgroups. The number of columns and rows represent the characters and character states listed in Appendix S1, respectively.....60

Capítulo 3:

Appendix S1. Taxa, geographic origin, vouchers, and GenBank accessions (*ndhF*, *PepC*). “na” indicates that no sequence is available for that accession and “ns” indicates sequences that have not yet been submitted to GenBank. **Species:** Geographic origin; Voucher (Herbarium); GenBank accessions: *ndhF*; *PepC*.....188

Resumo

Lundia DC. (Bignoniaceae, tribo Bignonieae) se caracteriza pelo hábito lianescente, pelas glândulas interpeciolares, anteras e ovários vilosos, e pelos tricomas simples na margem do estigma. Além disso, o gênero não apresenta o disco nectarífero que está localizado na base do ovário da maior parte dos representantes da tribo Bignonieae. Neste trabalho são reconhecidas 13 espécies de *Lundia*, das quais uma é nova (*L. laevis*). Para a compreensão do parentesco filogenético entre as espécies do gênero, foi reconstruída a filogenia de *Lundia* com base em um marcador de cloroplasto (*ndhF*), um marcador nuclear (*PepC*), e caracteres morfológicos. Os dados foram analisados utilizando parcimônia e metodologia bayesiana, os quais reconstruíram topologias congruentes. Em todas as análises, *Lundia* emergiu como grupo monofilético, com alta sustentação de caracteres morfológicos e moleculares. Além disso, todas as espécies amostradas múltiplas vezes também formaram grupos monofiléticos, exceto no caso de *L. nitidula* a qual emergiu como parafilética, com *L. obliqua* inserida no clado *L. nitidula*; no entanto, o parentesco entre os indivíduos inseridos no clado *L. nitidula* + *L. obliqua* apresentou baixa resolução. A filogenia de *Lundia* contribuiu com informações importantes para uma melhor circunscrição das espécies e elaboração de uma revisão taxonômica do gênero que incluiu descrições, chaves de identificação, comentários taxonômicos e mapas de distribuição para as 13 espécies reconhecidas. Entre as mudanças taxonômicas resultantes da revisão estão o reconhecimento de um táxon previamente sinonimizado (*L. nitidula*), a sinonimização de duas outras espécies (*L. cordata* em *L. corymbifera* e *L. glazioviana* em *L. virginalis*), e o ajuste na utilização de um nome mal aplicado (*L. longa*). Além disso, a filogenia do gênero também serviu como base para um estudo biogeográfico de *Lundia*, o qual indicou que o gênero originou-se no Mioceno, em uma área que atualmente agrega a sub-região Amazônica e a região Andina. O primeiro evento de diversificação dentro de *Lundia* ocorreu quando o Mar de Pebas (uma extensa área submersa na Amazônia Oriental) ainda existia. Aparentemente, o Mar de Pebas serviu como uma barreira geográfica que isolou uma linhagem de *Lundia* exclusivamente Andina (*L. spruceana*) de uma linhagem amazônica. Este evento vicariante foi seguido de diversos eventos de dispersão em direção às sub-regiões Paranaense e Caribenha.

Abstract

Lundia DC. (Bignoniaceae, tribe Bignonieae) is characterized by the liana habit, interpetiolar gland fields, villose anthers and ovary, and by the simple trichomes at the stigma margins. Furthermore, the genus lacks the nectary disc that is located at the base of the ovary of most other representatives of tribe Bignonieae. This study recognizes 13 species of *Lundia*, one of which is new (*L. laevis*). In order to gain a better understanding of the phylogenetic relationships between the species included in the genus, we reconstructed the phylogeny of *Lundia* based on a chloroplast (*ndhF*) and a nuclear marker (*PepC*), and morphological characters. The data was analyzed using parsimony and Bayesian methods, both of which reconstructed congruent topologies. In all analyses, *Lundia* emerged as monophyletic, strongly supported by morphological and molecular characters. Furthermore, all species sampled multiple times also emerged as monophyletic, except for *L. nitidula* which was paraphyletic, with *L. obliqua* nested within the *L. nitidula* clade; however, relationships between individuals within the *L. nitidula* + *L. obliqua* clade were poorly supported. The phylogeny of *Lundia* contributed important information for a better circumscription of species and for the preparation of a taxonomic revision of the genus that included descriptions, identification keys, taxonomic comments and distribution maps for all 13 recognized. The taxonomic changes proposed in the revision included the recognition of a previously synonymized taxon (*L. nitidula*), the synonymization of two other taxa (*L. cordata* under *L. corymbifera* and *L. glazioviana* under *L. virginalis*), and the correction of a misapplied name (*L. longa*). Furthermore, the phylogeny of the genus also served as basis for a biogeographic study of *Lundia*, which indicated that the genus originated during the Miocene, in an area that is currently occupied by the Amazonian sub-region and Andean region. The first diversification event within *Lundia* occurred when the Pebas System (an extensively submerged area in Western Amazonia) was still present. Apparently, the Pebas System served as a geographic barrier that isolated an exclusively Andean lineage of *Lundia* (*L. spruceana*) from an Amazonian lineage. This vicariant event was followed by multiple dispersal events towards the Paranaense and Caribbean sub-regions.

Introdução Geral

Bignoniaceae inclui plantas lenhosas, geralmente lianas, mas também inclui árvores e arbustos. A maioria das espécies possui folhas compostas, 1-3-pinadas ou 3-5(-9) folioladas. No caso de folíolos ternados ou múltiplo ternados, o folíolo terminal é freqüentemente transformado em gavinha. A filotaxia é geralmente oposta, com poucas exceções. Os ramos são normalmente cilíndricos, podendo também apresentar ângulos marcados como em *Amphilophium* Kunth (Gentry 1980). É comum a ocorrência de glândulas, sendo estas interpeciolares (*Lundia* DC., *Arrabidaea* DC. e *Paragonia* Bureau) ou peciolares (*Pachyptera* DC. ex Meisn. e *Adenocalymma* Mart. ex. Meisn.). São ainda presentes domácias neuro-axilares (*Catalpa* Scop. e *Parmentiera* DC.), e glândulas extra-nupciais no cálice (*Amphilophium*) e nupciais nos lobos da corola (Seibert 1948). Também é freqüente a ocorrência de tricomas glandulares na superfície interna da corola (Seibert 1948, Gentry 1980, Lopes et al. 2002).

As flores de Bignoniaceae são dispostas em inflorescências axilares, terminais ou caulifloras. As flores são andróginas e diclamídeas. O cálice pode ser tubular, campanulado ou urceolado, com bordo truncado, lobado, denteado, bilabiado ou espatáceo (Gentry 1980). A corola é tubular, geralmente bilabiada, infundibuliforme, hipocrateriforme ou campanulada (Gentry 1974). O androceu é geralmente composto por quatro estames férteis, exceto em *Catalpa* e em *Pseudocatalpa caudiculata* (Standl.) A.H. Gentry que apresentam apenas dois estames, e alguns gêneros Africanos que apresentam cinco ou seis estames (Gentry 1980). Na maioria dos gêneros um dos estames é reduzido a estaminódio, normalmente curto, exceto em *Jacaranda* Juss. e *Digomphia* Benth., onde o estaminódio é longo e piloso (Lohmann 2004). As anteras são normalmente glabras, mas são indumentadas em *Lundia* e em algumas espécies de *Pachyptera* e *Cuspidaria* DC. O gineceu é composto de um estigma bilamelar e o

ovário apresenta dois carpelos fundidos. Os carpelos são separados por um septo e a placentação é axial, com várias séries de óvulos dispostos em duas placentas. A superfície externa do ovário usualmente é glabra, mas também pode ser pilosa (*Lundia* e *Tynanthus* DC). O ovário normalmente fica sobreposto a um disco nectarífero bem desenvolvido, que é ausente em *Bignonia* L. *Lundia* e *Tynanthus* (Gentry 1980).

Os frutos são geralmente deiscentes, do tipo cápsula com deiscência paralela ou perpendicular ao septo, menos frequentemente indeiscentes (*Amphitecna*, *Crescentia*, *Colea*, *Opihiocolea*, *Phyllarhtron* e *Rhodocolea*; Gentry 1980). A estrutura do pericarpo normalmente é coriácea, mas pode também ser lenhosa (p.ex., *Amphilophium*) ou suculenta como em *Eccremocarpus* (Fisher et al. 2004).

Bignoniaceae apresenta aproximadamente 827 espécies distribuídas em 82 gêneros (Lohmann & Ulloa 2006 em diante). A delimitação das tribos da família tem sido confusa. A primeira subdivisão foi feita por De Candolle (1838), que considerou uma Tribo com frutos indeiscentes (Crescentieae) e uma com frutos deiscentes (Bignonieae). Meio século depois, Bentham & Hooker (1876) subdividiram a tribo Bignonieae em três, e para isso consideraram o número de lóculos (um em Jacarandae) e a posição do septo nos frutos (paralelo às valvas em Bignonieae e perpendicular em Tecomae). Schumann (1895) incluiu os gêneros de Jacarandae em Tecomeae e propôs Tourretieae (frutos com quatro lóculos) e Eccremocarpaceae, com frutos uniloculares e deiscência do ápice para a base. Por fim, Gentry (1980) acrescentou mais três tribos ao sistema de Schumann: Coleeae (com frutos indeiscentes e distribuição no Velho Mundo), Schlegelieae (lianas com frutos indeiscentes) e Oroxyleae (plantas com número cromossômico 14 ou 15). Desta forma, Gentry (1980) reconheceu oito Tribos na família.

Utilizando uma filogenia molecular, Spangler & Olmstead (1999) propuseram a

elevação de Schlegelieae a família e encontraram que Tecomeae (*sensu* Schumman 1994 e Gentry 1980) se tratava de um grupo parafilético. Recentemente, uma nova filogenia molecular com uma amostragem mais completa foi reconstruída visando um melhor conhecimento do parentesco entre as tribos de Bignoniaceae (Olmstead et al. 2009). Neste estudo, Jacarandae ressurgiu como irmã das demais Bignoniaceae, mas com uma circunscrição mais restrita daquela proposta por Bentham & Hooker (1876). Além disso, Tecomeae, como circunscrita por Schumman (1895) e Gentry (1980), aparece novamente como parafilética. Na nova circunscrição proposta por Olmstead et al. (2009), Tecomeae passa a incluir um número muito menor de espécies sendo o único grupo pantropical, enquanto as demais espécies previamente reconhecidas em Tecomeae (“*Tabebuia* alliance” + “paleotropical clade”), juntamente com Catalpeae, Crescentieae e Oroxyleae formam um clado irmão à Bignonieae. A tribo Bignonieae, por outro lado, representa o único grande clado que, exceto pela inclusão de *Perianthomea* (Lohmann 2006), teve sua circunscrição inalterada. Por fim, Tourretieae e Eccremocarpeae formam um clado fortemente sustentado e tratados como tribo Eccremocarpeae.

Bignonieae é a maior tribo da família Bignoniaceae. A tribo caracteriza-se pelos frutos com tamanho e forma variados, deiscência septicida e placentação axial (Lohmann 2004). As flores são vistosas, e apresentam características de melitofilia, ornitofilia, quiropterofilia e esfingofilia, variando assim a forma, coloração, posição e odor (Gentry 1974). Apresentam caules lenhosos com o floema ramificado, de quatro a 32 vezes, em direção ao cerne (Schumman 1895, Gentry 1980, Lohmann 2006, Pace et al. 2009). A grande maioria das espécies são lianas, mas algumas espécies são arbustivas. As lianas apresentam folhas opostas com o folíolo terminal geralmente modificado em gavinha (Lohmann 2004).

A elevada variabilidade morfológica dos representantes de Bignonieae fez com que membros deste grupo apresentassem uma delimitação genérica bastante complicada no passado. Isto se deve ao fato das classificações tradicionais utilizarem principalmente caracteres reprodutivos como a cor das flores e a forma do fruto, os quais são extremamente homoplásicos na tribo (Lohmann 2006). No entanto, estudos filogenéticos recentes sugerem os caracteres vegetativos como sendo atributos melhores para diagnosticar gêneros de Bignonieae (Lohmann 2006). Em particular, Lohmann (2006) constatou que dentre os 47 gêneros atribuídos a Bignonieae, apenas seis mantêm a circunscrição utilizada tradicionalmente.

Apesar dos problemas com a classificação genérica da tribo, *Lundia* é um dos poucos gêneros cuja circunscrição se manteve inalterada nos diferentes sistemas. De fato, o estudo de Lohmann (2006) confirmou a monofilia do gênero, corroborando a circunscrição tradicionalmente adotada para o grupo. O gênero apresenta corola infundibuliforme e pubescente, com lobos subrotundos a obovados (Bureau 1868). O cálice é tubular ou cupular e normalmente abre-se por uma ruptura transversal ou oblíqua. O androceu é composto por quatro estames férteis, didínamos e um estaminódio curto. As anteras normalmente são inclusas e densamente pilosas. O gineceu é composto por um ovário que varia de ovado a cilíndrico e densamente indumentado; o estilete é incluso e pubescente; o estigma é bilamelar variando entre pubescente e glabro, normalmente com a margem recoberta por tricomas. Os frutos são do tipo cápsula bicarpelar e plana, com deiscência longitudinal e paralela ao septo. As sementes são glabras, planas, aladas e elípticas. Outras características diagnósticas de *Lundia* são a ausência de disco nectarífero e as sementes dispostas de duas a seis séries no septo (Bureau 1868, Fischer et al. 2004).

Lundia foi originalmente descrita por De Candolle (1838), o qual também produziu

o primeiro tratamento do gênero (De Candolle 1845). Posteriormente, *Lundia* foi tratada novamente por Bureau (1868), o qual reconheceu sete das nove espécies descritas por De Candolle (1845) bem como descreveu duas novas espécies; este trabalho ainda apresentou uma chave para a identificação e descrições das espécies, além de ilustrações para espécies selecionadas. Posteriormente, Bureau & Schumann (1897) trataram as espécies de *Lundia* do Brasil na *Flora Brasiliensis*. Este trabalho incluiu descrições e comentários taxonômicos, além de uma extensiva lista de material examinado, o que fez com que esta obra se tornasse referência para a identificação das espécies de *Lundia* até o presente.

Lundia distribui-se pela região tropical Centro e Sul Americana desde o Sul do México até o Sul do Brasil, ocorrendo até a Bolívia à Oeste (Lohmann 2003, no prelo). As espécies ocupam principalmente Florestas tropicais das Américas Central e do Sul, mas algumas espécies também ocorrem nas Savanas e Caatingas Brasileiras. O Brasil representa o centro de diversidade das espécies do gênero (Gentry 1979).

Histórico desta tese

A presente tese teve como objetivos centrais: (i) Elaborar uma revisão taxonômica do gênero *Lundia*; ii) Reconstruir a filogenia de *Lundia* com base em caracteres moleculares e morfológicos; e, (iii) Estudar a história biogeográfica do grupo.

A primeira atividade do presente estudo constituiu na elaboração de uma matriz morfológica, cujos caracteres e seus respectivos estados de caráter foram inicialmente estabelecidos com base na análise de exsicatas provenientes de herbários Brasileiros. Cerca de 80 exsicatas foram analisadas nesta primeira etapa e cerca de 250 caracteres compuseram a primeira matriz. Esta matriz inicial constituiu a base tanto para a elaboração das descrições taxonômicas como para a construção de uma matriz a ser

utilizada em reconstruções filogenéticas. Para a reconstrução da filogenia de *Lundia* com base em caracteres morfológicos foram selecionados apenas os caracteres morfológicos apropriados para tais reconstruções, os quais corresponderam àqueles que obedeciam os princípios de independência dos caracteres e homologia dos estados de caráter (de Pinna 1991, Hawkins 1997, Scotland & Pennington 2000). Caracteres que não estavam de acordo com estes princípios (p.ex., densidade de indumento em diversos órgãos e tamanho) foram excluídos da matriz construída para a análise filogenética.

Uma matriz morfológica com 78 caracteres foi então analisada com o princípio da parcimônia levando a reconstrução de uma filogenia morfológica de *Lundia*, a qual foi apresentada no 59^o Congresso Nacional de Botânica, em Natal, Rio Grande do Norte (Anexo 2). Subsequentemente, exsicatas oriundas de outros países da América Latina foram analisadas, incluindo a análise da variação microscópica de vários caracteres morfológicos, levando a algumas alterações no delineamento de caracteres e de seus respectivos estados de caráter, bem como a adição de novos caracteres a uma matriz morfológica final. Tais análises foram conduzidas ao longo do terceiro ano de Doutorado, durante um Doutorado Sandwiche realizado no Jardim Botânico de Nova Iorque, EUA. A matriz morfológica final incluiu 80 caracteres e é apresentada no Capítulo 1.

A segunda atividade do presente estudo foi o trabalho molecular. Um estudo anterior (Lohmann 2006), já havia testado diversos marcadores para reconstruções filogenéticas na Tribo Bignonieae (p.ex., *ndhF*, *trnL-F*, *trnT-L*, *rpS16*, *rpL16*, *rpL20-5'*, *rpS12*, *trnH-psbA*, *trnS-trnG*, *PepC*-longo, *PepC*-curto, *Aat*, *Waxy*, *Chs* e ITS) e identificado os marcadores *ndhF* e *PepC*-longo como os mais apropriados para reconstruções filogenéticas ao nível genérico em Bignonieae. Assim o presente estudo adotou os mesmos marcadores (*ndhF* e *PepC*-longo) como ponto de partida. Contudo,

apesar da boa variabilidade para resolver parentescos ao nível genérico em Bignoniaceae, os marcadores *PepC*-longo e *ndhF* não apresentaram variação suficiente para resolver todos os parentescos ao nível específico, levando a uma topologia com resolução relativamente baixa. Assim, foi realizada nova busca a marcadores moleculares que pudessem contribuir para uma melhor resolução do parentesco entre as espécies de *Lundia*. Foram testados os marcadores propostos por Garrick et al. (2008), Tronchet et al. (2006), Linder (2000), e Emshwiller & Doyle (1999), bem como marcadores ainda inéditos que vêm sendo utilizados em outros gêneros de Angiospermas nos níveis específico e infra-específico (A. Nicolas com. pess., G. Plunkett com. pess.). Infelizmente, tais buscas não resultaram em nenhum marcador com um maior número de caracteres informativos do que os marcadores inicialmente identificados por Lohmann (2006). Desta forma, a reconstrução filogenética de *Lundia* contou com três matrizes de dados: *ndhF*, *PepC*-Longo e morfologia. A incorporação da matriz morfológica contribuiu consideravelmente para a resolução da topologia final que é apresentada no Capítulo 1.

Por fim, o estudo biogeográfico de *Lundia* foi iniciado com a datação dos tempos de divergência das linhagens do gênero. Tal procedimento é calculado a partir de estimativas de divergência das linhagens seguindo modelos de Relógios Moleculares. Para tanto, não é possível incluir dados morfológicos ou inserções/deleções nas análises. Assim, a datação foi realizada exclusivamente com base na filogenia molecular. Como a filogenia exclusivamente molecular apresentou baixa resolução, utilizamos a metodologia bayesiana que permite a incorporação das incertezas das análises filogenéticas na análise de datação. Em particular, a metodologia bayesiana considera a variação do comprimento dos ramos em todas as topologias geradas pela análise, incorporando assim o erro associado à baixa resolução da topologia final (Drummond &

Rambaut et al. 2007). Como a estimativa de divergência se baseia no comprimento dos ramos, é essencial que sejam identificados os modelos evolutivos mais apropriados para cada conjunto de dados (Schenk & Hufford 2010). O método bayesiano permite a incorporação de modelos evolutivos diferentes para cada uma das partições utilizadas na análise. Desta forma esse método minimiza erros associados às estimativas dos comprimentos dos ramos. O método ainda permite a incorporação de vários pontos de calibração na árvore, de forma a minimizar os erros das estimativas das idades de divergência em ramos mais longos (Schenk & Hufford 2010).

Apesar da grande importância da incorporação de registros fósseis para calibração de árvores filogenéticas, esta metodologia possui limitações. Em particular, a seleção dos fósseis e posicionamento dos mesmos na filogenia são problemáticos, podendo levar a erros nas estimativas finais de divergência entre linhagens. Apesar de diversos fósseis de representantes da Tribo Bignonieae terem sido encontrados (L.G. Lohmann com. pess.), apenas dois registros fósseis em Bignonieae tiveram a identificação e posicionamento confirmados até o momento (L.G. Lohmann et al. in prep.). Estes mesmos registros foram então utilizados como pontos de calibração no presente trabalho.

Inicialmente realizamos uma primeira análise de datação, a qual incluiu ambos fósseis como pontos de calibração e uma ampla amostragem de táxons em Bignonieae (42 terminais). Subsequentemente realizamos uma segunda análise com uma amostragem mais restrita de táxons (33 terminais) e utilizando apenas o registro fóssil mais próximo de *Lundia* (Lohmann et al., in prep.). A segunda análise, incluindo apenas um fóssil levou à uma idade média do intervalo de confiança (*Height Posterior Distribution Bound*, ou *HPD-Bound*) expressivamente maior (*Lundia* 30.1 ± 0.66 ma [HPD=16-42 ma]) do que a análise com dois registros fósseis (*Lundia* = 17 ± 0.19 ma

[HPD=12-22 ma]). Assim, foi utilizada a análise com 42 terminais nas interpretações biogeográficas finais.

Outra limitação da utilização de fósseis na datação de filogenias está associada à determinação da idade de cada fóssil, a qual representa apenas uma estimativa mínima da idade. Felizmente, as análises bayesianas realizam a calibração das filogenias estabelecendo a idade mínima do fóssil como o valor médio da distribuição anterior (*prior*) da idade do nó onde o fóssil foi posicionado. Assim, a distribuição do intervalo de confiança associado à idade do fóssil é incorporada à análise. Desta forma a análise não se baseia somente nos comprimentos dos ramos, mas também nos valores atribuídos aos pontos de calibração, bem como estima os valores de amplitude de distribuição das probabilidades posteriores (*HPD-Bound*) para todos os nós, incluindo os nós utilizados como pontos de calibração. A incorporação deste erro é de extrema importância pois permite que o erro associado às estimativas das idades de divergência das várias linhagens possam ser levados em consideração de forma explícita nas interpretações históricas realizadas com base na árvore datada.

Além da análise de datação da filogenia, também realizamos uma análise biogeográfica dos eventos de dispersão e vicariância S-DIVA, a qual estima as frequências de distribuição dos ancestrais comuns mais recentes (*Most Recent Common Ancestral* - MRCA). Tal análise é baseada nas topologias geradas pela análise bayesiana (após *burn in*), novamente permitindo a incorporação de possíveis erros através do cálculo da probabilidade de ocupação de diferentes áreas pelos ancestrais. Esta reconstrução das áreas ocupadas pelos ancestrais nas topologias é realizada utilizando o princípio da parcimônia.

Um passo importante para a reconstrução de áreas ancestrais é a codificação das áreas a serem utilizadas em cada estudo. Duas opções de codificação foram inicialmente

consideradas neste trabalho. A primeira foi feita com base no sistema de Domínios Morfoclimáticos e Fitofisionômicos de Ab'Saber (1977), a qual considerou dez domínios onde as espécies de *Lundia* e grupos externos ocorriam. Os resultados desta primeira análise levaram a reconstrução de muitas áreas ambíguas (áreas ancestrais conjuntas - *MaxAreas*) e que frequentemente representavam domínios de distribuição disjunta, levando a resultados pouco informativos. A segunda codificação das áreas biogeográficas seguiu a classificação de Morrone (2002) em quatro sub-regiões Neotropicais mais a região Andina. Esta análise sugeriu hipóteses para os eventos de distribuição-vicariância dentro de *Lundia* com uma menor quantidade de áreas disjuntas conjugadas e foi então escolhida para as interpretações biogeográficas finais (Capítulo 3).

Referências Bibliográficas

- Ab'Saber, A. 1977. Espaços ocupados pela expansão dos climas secos na América do Sul, por ocasião dos períodos glaciais quaternários. **Paeloclimas 3**: 1-19.
- Bentham, G. & J.D. Hooker. 1876. Bignoniaceae. *In* **Genera Plantarum 2**: 1026-1053.
- Bureau, M.E. 1868. Revisión des Genres *Tynathus* et *Lundia*. **Adansonia (Baillon). Recueil Périodique D'observations Botaniques 8**: 270-294.
- Bureau, E. & K. Schumann. 1897. Bignoniaceae II. *In* C.F.P.von Martius & auct. suc. (eds.), **Flora Brasiliensis 8(2)**: 234-245.
- De Candolle. 1845. *Lundia* DC. *In* **Prodromus Systematis Naturalis Regni Vegetabilis 9**: 180-181.
- De Candolle. 1838. Revue sommaire de la famille des Bignoniacées. **Bibliothèque Universelle Genève 17**: 120-140.
- de Pinna, M.C.C. 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm.

Cladistics 7: 367-394.

Drummond A.J. & A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. **BMC Evolutionary Biology 7:** 214.

Emshwiller, E. and J.J. Doyle. 1999. Chloroplast-expressed Glutamine Synthetase (ncpGS): potential utility for phylogenetic studies with an example from *Oxalis* (Oxalidaceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution 12:** 310-319.

Fischer, E., I. Theisen & L.G. Lohmann. 2004. Bignoniaceae. *In* J.W. Kadereit (ed.). **The Families and Genera of Vascular Plants Vol VII**, Pp. 9-38, Springer-Verlag Heidelberg, Alemanha.

Garriick R.C., C.A. Meadows, A.N. Nicolas, J.D. Nason and R.J. Dyer. 2008. A set of polymorphic nuclear intron markers for conservation genetics and phylogeography of *Euphorbia* species (*Pedilanthus* clade). **Conservation Genetics 9:** 1673-1679.

Gentry, A.H. 1974. Coevolutionary patterns in Central America Bignoniaceae. **Annals of Missouri Botanical Garden 61:** 728-759.

Gentry, A.H. 1979. Distribution patterns of Neotropical Bignoniaceae – some phytogeographic implications. *In*: K. Larsen & L. Holmnielsen (eds.), **Tropical Botany**, Pp. 339-354, Nova Iorque, Academic Press, EUA.

Gentry, A.H. 1980. Bignoniaceae - Part I. **Flora Neotropica Monographs 25(1):** 1-131.

Hawkins, J.A., C.E. Hughes & R.W. Scotland. 1997. Primary homology assessment, characters and character states. **Cladistics 13:** 275-283.

Linder C.R., L.R. Goertzen, B.V. Heuvel, J. Francisco-Ortega, and R.K. Jansen. 2000. The complete external transcribed spacer of 18S-26S rDNA: amplification and phylogenetic utility at low taxonomic levels in Asteraceae and closely allied

- families. **Molecular Phylogenetics and Evolution** **14**: 285-303.
- Lohmann, L.G. 2003. Phylogeny, classification, morphological diversification and biogeography of Bignoniaceae (Bignoniaceae). Tese de Doutorado, University of Missouri-St. Louis, St. Louis, EUA.
- Lohmann, L.G. 2004. Bignoniaceae. In N. Smith, S.A. Mori, A. Henderson, D. Wm. Stevenson & S.V. Heald (eds.). **Flowering Plants of the Neotropics**, Princeton, Princeton University Press, EUA.
- Lohmann, L.G. 2006. Untangling the phylogeny of Neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). **American Journal of Botany** **93**: 304-318.
- Lohmann, L.G. No prelo. A new generic classification of Bignoniaceae based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. **Annals of the Missouri Botanical Garden**.
- Lohmann, L.G. & C.U. Ulloa. 2006 em diante. **Bignoniaceae**. In iPlants prototype Checklist. www.iplants.org (acessado em 18/09/2010).
- Lopes, A.V., S. Voguel & I.C. Machado 2002. Secretory trichomes, a substitutive floral néctar source in *Lundia* DC. (Bignoniaceae), a genus lacking a functional disc. **Annals of Botany** **90**: 169-174.
- Morrone, J.J. 2002. Presentación sintética de un nuevo esquema biogeográfico de América Latina y el Caribe. In C. Costa, S.A. Vanin, J.M. Lobo & A. Melic (eds.), **Proyecto de Red Iberoamericana de Biogeografía y Entomología Sistemática. Monografías Tercer milenio Vol. 2**, Pp 267-275, Zaragoza, Sociedad Entomologica Aragonesa, Espanha.
- Olmstead R.G., M. 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.

- Pace, M., L.G. Lohmann & V. Angyalossi. 2009. The rise and evolution of the cambial variant in Bignoniaceae (Bignoniaceae). **Evolution & Development** **11**: 465-479.
- Schenk, J.J. & L. Hufford. 2010. Effects of substitution models on divergence time estimates: simulations and an empirical study of model uncertainty using Cornales. **Systematic Botany** **35**: 601-617.
- Schumann, K. 1895. Bignoniaceae. In Engler A.G. & K.A. Prantl (eds.), **Die Natürlichen Pflanzenfamilien** **4(3b)**: 189-252.
- Scotland, R. & R.T. Pennington. 2000. **Homology and systematics: Coding characters for phylogenetic analyses**. In A. Warren (ed.) The systematic association special volume series n° 58, Pp. 145-182, Taylor & Francis, Londres, Reino Unido.
- Seibert, R.J. 1948. The use of glands in a taxonomic consideration of the family Bignoniaceae. **Annals of Missouri Botanical Garden** **35**: 123-137.
- Spangler, R.E. & R.G. Olmstead. 1999. Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences *rbcL* and *ndhF*. **Annals of Missouri Botanical Garden** **86**: 33-46.
- Tronchet, F. G.M. Plunkett, J. Jeremie and P.P. Lowry II. 2005. Monophyly and major clades in *Meryta* (Araliaceae). **Systematic Botany** **30**: 657-670.
- Spangler, R.E. & R.G. Olmstead. 1999. Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences *rbcL* and *ndhF*. **Annals of Missouri Botanical Gard**

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A reconstrução filogenética de *Lundia* amostrou as 12 espécies inicialmente reconhecidas para gênero (Lohmann & Ulloa 2006 em diante) mais uma espécie nova para o marcador *ndhF* e onze espécies (exceto *L. puberula* e *L. gardneri*) para o marcador *PepC*. A resolução em alguns clados dentro de *Lundia* foi baixa nas análises

realizadas com os marcadores isoladamente, mas o gênero se manteve como monofilético e bem sustentado em todas as análises. A incorporação de dados morfológicos para todos os espécimes analisados, além das inserções/deleções das sequências foram cruciais para melhorar a resolução da topologia. Uma única espécie (*L. nitidula*) não emergiu como monofilética, pois *L. obliqua* apareceu inserida no clado que incluiu todos os indivíduos de *L. nitidula* amostrados. O mapeamento de caracteres sobre a topologia de consenso resultante da análise bayesiana evidenciou diversas sinapomorfias morfológicas do gênero *Lundia*, incluindo um caráter floral (presença de tricomas na margem do estigma) que ainda não havia sido apresentado na literatura. O mapeamento de caracteres também revelou diversos caracteres importantes para o reconhecimento de diferentes espécies e linhagens dentro do gênero. A filogenia de *Lundia* contribuiu dados importantes para uma melhor circunscrição das espécies e resolução de problemas taxonômicos no gênero. Além disso, a filogenia do gênero também serviu como base para um estudo biogeográfico do grupo.

O tratamento taxonômico de *Lundia* inicialmente considerou as 12 espécies até então reconhecidas na literatura (Lohmann & Ulloa 2006 em diante). Entretanto, 13 espécies foram reconhecidas no tratamento taxonômico final por conta da adição de uma espécie nova (*L. laevis*). Além disso, a circunscrição de quatro das 12 espécies inicialmente reconhecidas foi alterada. As alterações nomenclaturais e taxonômicas realizadas no presente trabalho incluíram a correção de um nome (*L. longa*) mal aplicado por De Candolle (1845), a elevação de uma variedade (*L. virginalis* var. *nitidula*) ao nível específico (*L. nitidula*) e a sinonimização de dois nomes (*L. cordata* em *L. longa* e *L. glazioviana* em *L. virginalis*). Dentre os 42 nomes atribuídos a *Lundia*, apenas dois não tiveram seus tipos checados (*L. duseniana* e *L. “longa”* var. *domatiata*) pois não puderam ser localizados. Entretanto, dentre estes dois nomes apenas *L.*

duseniana foi colocada em *incertae sedis*, pois sua descrição não é suficientemente clara para a designação de um Lectótipo.

A análise biogeográfica indicou que o gênero *Lundia* diversificou-se durante o Mioceno (17 m.a. [12-22 m.a]) em um período inter-glacial, quando a temperatura da terra e o nível dos oceanos eram muito superiores aos observados atualmente. O Mioceno foi uma época de intensa atividade Tectônica na América do Sul (Potter & Szattmari 2009) quando ocorreu o surgimento dos Andes e consequente alteração dos cursos dos rios das bacias Amazônica e Orinoco (Hoorn et al. 2010). Essa alteração hidrográfica na região Amazônica Ocidental gerou um imenso sistema lacustre que aparentemente teve um papel muito importante no isolamento geográfico (evento vicariante) e diversificação da primeira linhagem de *Lundia* (*L. spruceana*). Tal sistema também foi considerado como uma barreira geográfica importante para diversificação de outros grupos de angiospermas (i.e., Rubiaceae; Hoorn et al. 2010), e provavelmente também está associado à diversificação de diversos outros gêneros de plantas Neotropicais.

Indicadores litológicos provêm indícios de um clima favorável ao estabelecimento de florestas durante o Mioceno, sugerindo uma conexão entre as áreas florestadas Amazônicas e áreas das Florestas do Leste do Brasil neste período (Scotese 2010). No entanto, pouco ainda se sabe sobre o grau de desenvolvimento de tais florestas (se eram contínuas ou intercaladas por áreas de savanas), pois a região não apresenta nenhum registro fossilífero do Mioceno que corrobore a dominância de florestas ou savanas na região durante este período (Almeida & Carneiro 1998). Atualmente estas regiões estão separadas por uma extensa área de savana, que estão conectadas através de florestas de galeria encontradas ao longo dos rios (Oliveira Filho & Ratter 1999). Estas informações, associadas à filogenia datada de *Lundia* sugerem subseqüentes dispersões

de representantes de *Lundia*, da Amazônia para o leste da América do Sul e vice-versa, as quais foram aparentemente facilitadas pelo sistema florestal que permitiu a migração de linhagens entre as duas formações (i.e., Amazônia e Florestas do Leste do Brasil). Além disso, estes dados também sugerem que a grande diversificação do clado “SE Brazil” (do inglês, ‘South-Eastern Brazilian’) na sub-região Paranaense esteja associada à diversificação ambiental da Serra do Mar. Tal diversificação ambiental também é corroborada com registros geológicos, que indicam que a formação da Serra do Mar iniciou-se no Cretáceo (Almeida 1976). No entanto, foi durante o Eo- e Meso - Mioceno que intensos processos geomórficos erosivos modelaram a configuração atual da paisagem da Costa Brasileira (Almeida & Carneiro 1998). A presença de áreas com grande diversidade topográfica na Costa Brasileira cria gradientes de temperatura (Ruggiero & Hawkins 2008) e pluviosidade (Nimer 1979) que favorecem os processos de intemperismo físico e químico que influenciam a estrutura, concentração de nutrientes e profundidade do solo entre as porções baixas e altas da Costa. Como fatores abióticos atuam como filtros para seleção de organismos capazes de se estabelecer em diferentes regiões (Punyasena et al. 2007), é provável que estes também tenham influenciado a diversificação de linhagens em tempos pretéritos.

O presente estudo demonstrou que estudos taxonômicos associados à filogenia datadas representam poderosas ferramentas para o entendimento da diversificação dos organismos vivos. Os dois estudos apresentaram resultados complementares, sendo a filogenia importante para o reconhecimento das linhagens e a taxonomia importante para a circunscrição de espécies e organização dos nomes previamente atribuídos. O resultado desta fusão permite que padrões evolutivos possam ser interpretados com mais clareza. No entanto, para que interpretações detalhadas de padrões evolutivos possam ser realizadas é estritamente essencial a utilização de filogenias robustas. De fato,

análises evolutivas detalhadas visando uma melhor compreensão da história biogeográfica dos organismos, bem como um melhor entendimento dos padrões e processos associados à evolução de caracteres só poderão ser atingidos com a melhoria da resolução das filogenias moleculares. Apesar da filogenia de *Lundia* ter contribuído dados importantes para a resolução de diversos problemas taxonômicos, bem como para uma melhor compreensão da história biogeográfica do grupo, a reconstrução de uma filogenia ainda mais robusta para o gênero através da incorporação de um maior número de caracteres moleculares informativos contribuiria com dados importantes para uma melhor resolução do parentesco entre espécies. Além disso, a incorporação de dados de diferentes naturezas, incluindo contagens cromossômicas, dados anatômicos e ecológicos (p.ex., biologia reprodutiva e fenologia), certamente trariam informações adicionais importantes para um melhor entendimento dos processos envolvidos na diversificação das linhagens de *Lundia* como um todo.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, F.M. 1976. The system of continental rifts bordering the Santos Basin, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* **48** (Supl.): 15-26.
- Almeida, F.M. & C.D.R. Carneiro. 1998. Origem e evolução da Serra do Mar. *Revista Brasileira de Geociências* **28**: 135-150.
- de Candolle, A. P. 1845. *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. 9: 142-248. Paris, França.
- Hoorn, C., F.P. Wesselingh, H. ter Steege, M.A. Bermudez, A. Mora, J. Sevink, I. Sanmartín, A. Sanchez-Meseguer, C.L. Anderson, J.P. Figueiredo, C. Jaramillo, D. Riff, F.R. Negri, H. Hooghiemstra, J. Lundberg, T. Stadler, T. Särkinen & A. Antonelli. 2010. Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape

- evolution, and biodiversity. *Science* **330**: 927-931.
- Lohmann, L.G. & C.U. Ulloa. 2006 em diante. *Bignoniaceae*. In: iPlants prototype Checklist. Disponível em: <http://www.iplants.org> (acessado em 18/09/2010).
- Nimer, E. 1979. *Climatologia do Brasil*. Secretaria de Planejamento da Presidência da República, Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Diretoria Técnica, Superintendência de Recursos Naturais e Meio Ambiente. Rio de Janeiro, Brasil.
- Oliveira-Filho, A.T. & J.A. Ratter. 1998. A study of the origin of Central Brazilian forests by the analysis of plant species distribution patterns. *Edinburg Journal of Botany* **52**: 141-194.
- Potter, P.E. & P. Szatmari. 2009. Global Miocene tectonics and the modern world. *Earth-Science Reviews* **96**: 279–295.
- Punyasena, S.W., G. Eshel & J.C. McElwain. 2007. The influence of climate on the spatial patterning of Neotropical plant families. *Journal of Biogeography* **35**: 117-130.
- Ruggiero A. & B.A. Hawkins. 2008. Why do mountains support so many species of birds? *Ecography* **31**: 306-315.