

UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES  
DÉBORA CLIVATI

FILOGENIA DO GÊNERO *CAMBESSEDESIA* DC.  
(MELASTOMATACEAE) COM BASE EM DADOS  
MORFOLÓGICOS E MOLECULARES (REGIÃO ITS DO DNA  
RIBOSSÔMICO NUCLEAR)

Mogi das Cruzes, SP  
2008

UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES  
DÉBORA CLIVATI

FILOGENIA DO GÊNERO *CAMBESSEDESIA* DC.  
(MELASTOMATACEAE) COM BASE EM DADOS  
MORFOLÓGICOS E MOLECULARES (REGIÃO ITS DO DNA  
RIBOSSÔMICO NUCLEAR)

Dissertação apresentada ao curso de  
Biotecnologia, subárea Taxonomia molecular, da  
Universidade de Mogi das Cruzes como parte dos  
requisitos para obtenção do título de Mestre.

Prof. Orientador: Dr. Vítor Fernandes Oliveira de Miranda

Mogi das Cruzes, SP

2008

**Financiamento: CNPq – PROTAX processo n° 131249/2006-1**

**FICHA CATALOGRÁFICA**

Universidade de Mogi das Cruzes - Biblioteca Central

Clivati, Débora

Filogenia do gênero *Cambessedesia* DC. (*Melastomataceae*) com base em dados morfológicos e moleculares (região ITS do DNA ribossômico nuclear) / Débora Clivati. -- 2008.

88 f.

Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) - Universidade de Mogi das Cruzes, 2008

Área de concentração: Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. Vítor Fernandes Oliveira de Miranda

1. *Cambessedesia* DC. 2. Filogenia 3. Biogeografia  
I. Título II. Miranda, Vítor Fernandes Oliveira de

CDD 581.38

### ATAS

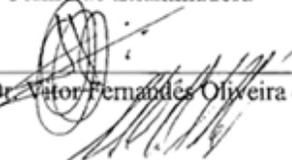
#### ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM BIOTECNOLOGIA DA UNIVERSIDADE DE MOGI DAS CRUZES

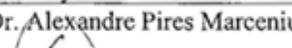
Às quatorze horas do dia vinte e um de fevereiro de dois mil e oito, na Universidade de Mogi das Cruzes, realizou-se a defesa de dissertação "FILOGENIA DO GÊNERO CAMBESSEDESIA DC. (MELASTOMATACEAE) COM BASE EM DADOS MORFOLÓGICOS E MOLECULARES (REGIÃO ITS DO DNAr)" para obtenção do grau de Mestre pelo(a) candidato(a) **Débora Clivati**. Tendo sido o número de créditos alcançados pelo(a) mesmo(a) no total de 60 (sessenta), a saber: 36 unidades de crédito em disciplinas de pós-graduação e 24 unidades de crédito no preparo da dissertação, o(a) aluno(a) perfaz assim os requisitos para obtenção do grau de Mestre. A Comissão Examinadora estava constituída dos Senhores Professores Vitor Fernandes Oliveira de Miranda e Alexandre Pires Marceniuk da Universidade de Mogi das Cruzes e Paulo Takeo Sano da Universidade de São Paulo, sob a presidência do primeiro, como orientador da dissertação. A Sessão Pública da defesa de dissertação foi aberta pelo Senhor Presidente da Comissão que apresentou o(a) candidato(a). Em seguida o(a) candidato(a) realizou uma apresentação oral da dissertação. Ao final da apresentação da dissertação, seguiram-se as arguições pelos Membros da Comissão Examinadora. A seguir a Comissão, em Sessão Secreta, conforme julgamento discriminado por cada membro, considerou o(a) candidato(a)

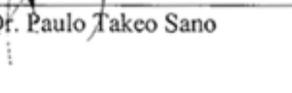
Aprovada por unanimidade  
(aprovado(a)/reprovado(a)) (unanimidade/majoria)

Mogi das Cruzes, 21 de fevereiro de 2008.

Comissão Examinadora

  
 Prof. Dr. Vitor Fernandes Oliveira de Miranda

  
 Prof. Dr. Alexandre Pires Marceniuk

  
 Prof. Dr. Paulo Takeo Sano

Julgamento

aprovada  
(aprovado(a)/reprovado(a))

aprovada  
(aprovado(a)/reprovado(a))

aprovada  
(aprovado(a)/reprovado(a))

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à Deus, pelo milagre da vida; meus pais e irmãos, pela compreensão e amor incondicional e minha tia Vera, por ter me ajudado a decidir a iniciar o mestrado e por todo o amor. Agradeço Marcus Vinícius por todo amor e companheirismo!

Sou infinitamente grata ao meu orientador e amigo, Prof. Vítor, pela orientação, pelo carinho, pela ajuda, pelas risadas, pelo ombro amigo, pelos sermões, quando necessários e pelas palavras de apoio. Ao CNPq pelo financiamento deste trabalho através da bolsa Protax (Processo nº 131249/2006-1).

Meu “muito obrigada” à Dr<sup>a</sup> Angela Borges Martins e à Karina Fidanza (Unicamp); Andrea Karla A. dos Santos (UEFS), que me forneceu não só alíquotas de DNA, mas porções enormes de atenção, carinho e ajuda em tantos momentos durante o mestrado; Ricardo Villas-Bôas (LAMOL/UEFS); Fabián Michelangeli (New York Botanical Garden), pelas sugestões e auxílio com as Melastomataceae, além dos artigos enviados; Andriago Monroe Pereira (Unesp Rio Claro) e Ana Angélica (UFU), pelas informações sobre abelhas; Bernardo D. Ranieri (UFMG), pelas informações sobre *Cambessedesia semidecandra*.

Agradeço Dr. Alexandre Marceniuk (UMC) e Dr. Paulo Takeo Sano (USP), por terem aceitado o convite para participarem da banca examinadora.

Agradeço, ainda: Daiene e Deibs; Corina, Fabi, Juliana, Sara e Taty (NIB), pelas inúmeras vezes que me ajudaram no laboratório, pelo carinho e pela amizade que cultivamos nesse último ano; aos amigos do *Herbarium Mogiense*, Alexei, Aurélio, Carolina, Cristiane, Cristine, Fábio, Janaína, Renata, e Thiago, por existirem na minha vida. Sem eles, a vida no herbário deixaria apenas lembranças com cheiro de naftalina. O companheirismo de todos sempre foi e sempre será um dos meus alicerces.

Às amigas Bianca Berneck, Carolina Pozzebom, Catarina Munhae e Giselle Utida, pelas risadas compartilhadas, lágrimas enxugadas, loucuras compreendidas, falhas desculpadas, pela ausência perdoada e pelo carinho de todos os dias; Lucas, e Rafael Pedrosa (UFPE) pelas sugestões.

A todos os curadores de herbários que cederam materiais para estudo, pois sem as exsicatas meu trabalho seria muito limitado; gostaria de agradecer especialmente pelas às doações ao *Herbarium Mogiense*.

Finalmente, quero agradecer a todos que não citei nomes, mas que de alguma forma colaboraram com o desenvolvimento desse trabalho.

*“Sempre somos capazes de dar algo mais;  
mesmo nas pedras germinam as flores”.*  
Bergson

*“Não deixe portas entreabertas  
Escancare-as  
Ou bata-as de vez.  
Pelos vãos, brechas e vendas,  
passam apenas semiventos,  
Meias verdades  
E muita insensatez”.*  
Flora Figueiredo

## RESUMO

O gênero *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae) apresenta ocorrência restrita no cerrado brasileiro, especialmente nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. É endêmico ao Brasil e sua distribuição se dá especialmente nos campos rupestres dos estados da Bahia, Minas Gerais e Goiás, mas também ocorrem nos cerrados de Pernambuco, São Paulo, Mato Grosso e Paraná. Seus representantes apresentam plantas subarborescentes, cuja característica marcante é a cor da corola, que apresenta um padrão laranja combinado com amarelo, ou corola totalmente amarela, incomum à família. Desde sua descrição, foram realizados diversos rearranjos taxonômicos e propostas de novas espécies, sendo o gênero *Cambessedesia* DC. atualmente composto por 21 espécies. O gênero foi agregado à tribo Microlicieae de acordo com os sistemas, porém esse posicionalmente é duvidoso. O presente estudo, sem precedentes quanto à amostragem taxonômica para o gênero, apresenta a análise filogenética de *Cambessedesia* baseada em caracteres morfológicos e moleculares (região ITS do DNA ribossômico). Os resultados indicam uma relativa congruência entre os cladogramas baseados em dados morfológicos e moleculares quanto à posição mais basal de *Cambessedesia hermogenesii* em relação às demais espécies. O posicionamento de *C. hilariana* como segunda espécie mais basal é congruente quando comparadas as análises de dados morfológicos e moleculares. O padrão de distribuição geográfica para *Cambessedesia* pode ser explicado pelo processo de extinção de prováveis ancestrais outrora amplamente distribuídos pelo cerrado, resultando na existência de atuais relictos provenientes de eventos de vicariância.

**Palavras-chave:** biogeografia; *Cambessedesia*; filogenia.

## ABSTRACT

The genus *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae) is typical to Brazilian *cerrado*, especially in the Cadeia do Espinhaço. The genus is endemic to Brazil and can be found in *campos rupestres* from Bahia, Minas Gerais, and Goiás States, but some species are found in Pernambuco, São Paulo, Mato Grosso, and Paraná States as well. The plants are subshrubs, and the principal trait is the corolla color, usually orange and yellow or totally yellow, not common to its family. After some taxonomical systems and proposals of new species, the genus *Cambessedesia* DC. comprises 21 species. The genus was joined to tribe Microlicieae according to historical systems, but that placement is doubtful. This study, the first one regarding the amount of *Cambessedesia* taxa, presents the phylogenetical analysis based on morphological and molecular (region ITS from DNAr) data sets. The results indicate the congruence between morphological and molecular traits regarding the basal position of *Cambessedesia hermogenesii* in relation to the other species. The placement of *C. hilariana* as the second more basal species is congruent when comparing both data sets. The biogeographical pattern of *Cambessedesia* maybe could be explained by the extinction of ancestors perhaps with wide geographical ranges in the past *cerrado*, giving rise in actual relicts resulted from a vicariant process.

**Key-words:** biogeography; *Cambessedesia*; phylogeny.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Área de distribuição do cerrado no Brasil.....	15
<b>Figura 2.</b> Campo rupestre localizado na Serra do Cipó, Santana do Riacho, MG.....	17
<b>Figura 3.</b> Distribuição dos campos rupestres no Brasil.....	18
<b>Figura 4.</b> Espécies representantes do gênero <i>Cambessedesia</i> DC.....	23
<b>Figura 5.</b> Esquematização da região ITS do DNA ribossômico nuclear.....	30
<b>Figura 6.</b> Demonstração da região de anelamento do iniciador ITS2 na seqüência de nucleotídeos da região ITS do DNAr nuclear da espécies de <i>Cambessedesia tenuis</i> .....	50
<b>Figura 7.</b> Seqüências da região ITS do DNAr das espécies de <i>Cambessedesia</i> e seu grupo-externo, alinhadas e editadas.....	52
<b>Figura 8.</b> Comparação entre a árvore de consenso estrito (A) e a árvore de repesagem sucessiva de caracteres (B).....	54
<b>Figura 9.</b> Cladograma resultante da análise combinada de dados morfológicos e moleculares que apresentou menor índice de incongruência ( <i>ILD</i> ).....	60
<b>Figura 10.</b> Cladograma resultante de busca heurística otimizada por máxima parcimônia com o número de transformações representadas pelos comprimentos dos ramos.....	61
<b>Figura 11.</b> Evolução da margem foliar (caráter 9) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de <i>Cambessedesia</i> DC.....	63
<b>Figura 12.</b> Evolução do pecíolo da bractéola (caráter 15) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de <i>Cambessedesia</i> DC.....	64
<b>Figura 13.</b> Evolução do número de pétalas (caráter 24) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de <i>Cambessedesia</i> DC.....	65
<b>Figura 14.</b> Evolução do número de pétalas estames (caráter 30) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de <i>Cambessedesia</i> DC.....	66
<b>Figura 15.</b> Evolução da deiscência da teca (caráter 35) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de <i>Cambessedesia</i> DC.....	67

- Figura 16.** Evolução forma foliar (caráter 6) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.....68
- Figura 17.** Evolução da cor das pétalas (caráter 27) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.....69
- Figura 18.** Evolução forma das bractéolas (caráter 13) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.....70
- Figura 19.** Evolução da forma das pétalas (caráter 25) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.....71
- Figura 20.** Evolução do indumento do ovário (caráter 39) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.....72
- Figura 21.** Evolução do ápice das pétalas (caráter 26) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.....73
- Figura 22.** Áreas de endemismo obtidas através da análise de distribuição geográfica nos programas NDM/VNDM.....77
- Figura 23.** Localização dos municípios correspondentes à área de endemismo (à direita), e o posicionamento deles em relação à Cadeia do Espinhaço.....78

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Breve histórico das definições de “caráter”.....26
- Tabela 2.** Espécies do gênero *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae) e espécies do grupo-externo, das quais foram codificados os caracteres utilizados na matriz morfológica.....33
- Tabela 3.** Descrição dos caracteres morfológicos e seus estados codificados a partir das estruturas vegetativas e reprodutivas de espécies de *Cambessedesia* DC. (grupo-interno) e das espécies *Huberia piranii*, *Microlicia viminalis*, *Trembleya parvifolia* e *Miconia ligustroides* (grupo-externo).....41
- Tabela 4.** Matriz construída a partir da codificação de estruturas vegetativas e reprodutivas das 21 espécies de *Cambessedesia* DC e 4 espécies do grupo-externo (Melastomataceae).....47
- Tabela 5.** Resultados do *BLAST* quanto à identidade das seqüências da região ITS do DNAr nuclear de algumas espécies de *Cambessedesia* em relação às seqüências depositadas no *GenBank*.....49
- Tabela 6.** Índice de incongruência entre as os cladogramas (morfológico, molecular e combinado), calculado partir de seus comprimentos.....59
- Tabela 7.** Relação dos índices de consistência (CI), índices de retenção (RI), índices de retenção rescalonados (CR), índices de homoplasia (HI) resultados das análises filogenéticas dos caracteres das espécies de de *Cambessedesia* DC. Os valores estão em ordem crescente de IH e decrescente de IC.....62

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	13
1.1 Cerrado.....	13
1.1.1 Campos Rupestres.....	15
1.1.2 Cadeia do Espinhaço.....	16
1.2 Considerações sobre endemismo.....	18
1.3 Melastomataceae.....	19
1.3.1 <i>Cambessedesia</i> DC.....	20
1.4 Filogenia.....	25
1.4.1 Filogenia Morfológica.....	25
1.4.2 Filogenia Molecular.....	27
1.4.2.1 DNA ribossômico.....	28
1.4.2.2 A região ITS.....	29
2 OBJETIVOS.....	31
2.1 Objetivo Geral.....	31
2.2 Objetivos Específicos.....	31
3 MÉTODOS.....	32
3.1 Estudos dos caracteres morfológicos.....	32
3.2 Extração de DNA e Amplificação Gênica.....	35
3.3 Análise Filogenética.....	37
3.3.1 Filogenia Morfológica.....	37
3.3.2 Evolução dos caracteres morfológicos.....	37
3.3.3 Filogenia Molecular.....	37
3.4 Análise Biogeográfica.....	39

<b>3.4.1 Distribuição Geográfica.....</b>	<b>39</b>
<b>3.4.2 Áreas de Endemismo.....</b>	<b>39</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>41</b>
<b>4.1 Dados Morfológicos.....</b>	<b>41</b>
<b>4.2 Dados Moleculares.....</b>	<b>49</b>
<b>4.3 Análises Filogenéticas.....</b>	<b>54</b>
<b>4.3.1 Filogenia Morfológica.....</b>	<b>54</b>
<b>4.3.2 Filogenia Molecular.....</b>	<b>60</b>
<b>4.4 Evolução dos caracteres.....</b>	<b>63</b>
<b>4.5 Biogeografia.....</b>	<b>75</b>
<b>4.6 Análise de Endemismo.....</b>	<b>78</b>
<b>5 CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....</b>	<b>79</b>
<b>6 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>81</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O gênero *Cambessedesia* DC. pertence à família Melastomataceae e tem ocorrência restrita no cerrado brasileiro, especialmente nos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço. É um grupo de plantas subarbustivas, cuja característica marcante é a cor da corola, que apresenta um padrão laranja combinado com amarelo, ou corola totalmente amarela, incomum à família, que é reconhecida pelas variações entre roxo, lilás, rosa e branco (MARTINS, 1984).

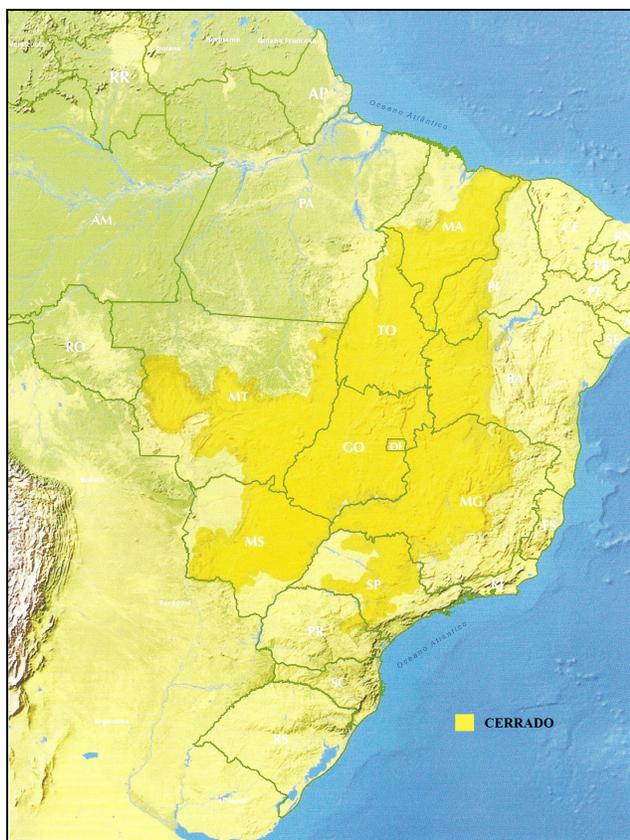
Até o momento pouco se conhece sobre as espécies de *Cambessedesia*, principalmente no que diz respeito às suas relações filogenéticas.

Com o presente estudo pretende-se contribuir com o conhecimento sobre as relações interespecíficas, evolução de alguns caracteres morfológicos e informações mais robustas sobre endemismo com base na distribuição geográfica e os possíveis centros de origem e diversidade das espécies.

### 1.1 CERRADO

O gênero *Cambessedesia* ocupa uma área restrita no Brasil, pois sua distribuição geográfica é delimitada pelo cerrado.

O cerrado é um bioma exclusivamente brasileiro, caracterizado por ocorrer geralmente em áreas planas, com vegetação arbórea, arbustiva ou composta por gramíneas (RIZZINI, 1997). A área do cerrado é mais significativa na região central do país (Figura 1), havendo disjunções nas regiões Norte, Nordeste, Leste e Sul, Paraná, Serra do Mar, Serra da Mantiqueira, Chapada do Araripe (Ceará e Pernambuco), Bahia, Pará, Amazonas, Amapá, entre outros (RIZZINI, 1997).



**Figura 1.** Área de distribuição do cerrado no Brasil.(Fonte: modificado de Ministério do Meio Ambiente, 2006).

Atualmente, o cerrado perfaz 23% da cobertura vegetal do Brasil (Figura 1) e, devido à sua extensão, é considerado o segundo bioma mais importante do país, depois da Amazônia (KLINK *et al.*, 2005). Conhecido como a savana mais rica do mundo em termos de biodiversidade, com mais de 10 mil espécies de plantas, das quais 4.400 são endêmicas (IBAMA, 2007), e tendo sido constatada uma perda de mais da metade da sua área nos últimos 35 anos devido à exploração comercial, o cerrado é considerado um dos *hotspots* para a conservação da biodiversidade mundial (KLINK *et al.*, 2005).

A estrutura e a composição florística do cerrado variam de acordo com as diversas condições de solo, clima e topografia. De maneira geral, a temperatura anual varia de 20 a 26°C e o índice pluviométrico de 750 a 2.000 mm anuais. Os solos, profundos e bem drenados, sempre contêm água disponível para a vegetação, mesmo nos períodos de estiagem, pois é acumulada durante o período de chuva (FERRI, 1980).

Por muito tempo a vegetação foi considerada xeromórfica, ou seja, com adaptações a ambientes secos. Hoje se sabe que características como porte baixo, ramos tortuosos, folhas coriáceas, brilhantes ou pilosas e súber espesso são devido às condições físico-químicas do solo (pobre em nutrientes e rico em alumínio), e não à falta de água, que é abundante à certa

profundidade. Essa particularidade das plantas do cerrado é denominada de escleromorfismo oligotrófico (FERRI, *l.c.*).

### **1.1.1 Campos Rupestres**

Uma das fitofisionomias mais interessantes do cerrado são os campos rupestres, que ocorrem em altitudes mínimas de 900 m acima do nível do mar, agregados a afloramentos rochosos e, conseqüentemente, solos rasos. É a vegetação predominante nas regiões mais altas de algumas serras, sobretudo na Cadeia do Espinhaço, devido às suas condições únicas que possibilitam o desenvolvimento de uma flora típica. Os campos rupestres também ocorrem na Chapada dos Veadeiros (GO), Chapada dos Guimarães (MT), norte de Roraima, Serra da Canastra (MG) e Ibitipoca (MG). Os campos rupestres são formados por mosaicos de comunidades vegetais, de acordo com a topografia, declividade, influências microclimáticas e a natureza do substrato, crescendo tanto sobre as rochas quanto nos substratos formados por rochas recém-decompostas (GIULIETTI e PIRANI, 1987).

O solo apresenta substratos rochosos de quartzito-arenito, sendo raso, oligotrófico e rico em alumínio trocável (CONCEIÇÃO, 2007). Sua principal característica é a pobreza em nutrientes, comparando-se com solos provenientes de rochas ígneas. A matéria orgânica apresenta cor enegrecida devido à presença significativa de fragmentos de carvão originado dos incêndios naturais (BENITES *et al.*, 2003). Entre as rochas, o solo é um pouco mais profundo, possibilitando o estabelecimento de plantas com raízes mais longas (GIULIETTI e PIRANI, 1987).



**Figura 2.** Campo rupestre localizado na Serra do Cipó, município de Santana do Riacho, MG. (Foto da autora).

### **1.1.2 Cadeia do Espinhaço**

A associação dos campos rupestres com a Cadeia do Espinhaço leva à investigação da sua formação geológica, pois há um padrão de ocorrência desta fitofisionomia nos solos sobre quartzito-arenito.

A Cadeia do Espinhaço é formada por uma área de aproximadamente 1.000 km de comprimento e entre 50 e 100 km de largura, localizando-se a 800 m do nível do mar. É compreendida pelos estados de Minas Gerais e Bahia e às disjunções da mesma cadeia, entre os limites latitudinais entre 21° S e 10° S. É limitada ao sul pela Serra de Ouro Preto (sul da cidade de Ouro Preto, MG), e ao norte pelo estado da Bahia, estendendo-se pela Chapada Diamantina (GIULIETTI e PIRANI, 1987). É uma grande divisora hidrográfica interposta entre as bacias do centro-oeste brasileiro e o Rio São Francisco (SAADI, 1995).



**Figura 3.** Distribuição dos campos rupestres no Brasil (Fonte: Almeda, 1999).

A origem da Cadeia do Espinhaço é datada no final do Paleoproterozóico (1.752 m.a.a.) até o final do Neoproterozóico (900 m.a.a.), quando a costa leste do continente foi submetida a empurrões causando dobramentos e superposições (SAADI, 1995). A Cadeia do Espinhaço foi submetida a remodelamentos devido aos movimentos tectônicos ocorridos durante o Terciário (GIULIETTI e PIRANI, 1987).

Da história sedimentar e metamórfica Proterozóica, surgiu a unidade litoestratigráfica quartzítica do Super Grupo Espinhaço, que através do comportamento frente ao intemperismo e a resistência mecânica à erosão, controlou grande parte da formação do relevo em escala regional (SAADI, 1995).

As principais estruturas do Super Grupo Espinhaço são compostas por empurrões e dobras com direção meridiana (SAADI, 1995). Sua borda leste é marcada pelas intervenções de sucessivas falhas, que compõem o cinturão de cavalgamentos na zona proximal da colisão continental que edificou o orógeno Espinhaço (SAADI, 1995).

Do ponto de vista geológico, a característica fundamental da Cadeia do Espinhaço é a predominância absoluta de quartzitos que, em toda sua extensão, compõe uma cobertura rígida, mas densamente cisalhada e fraturada. A influência fluvial sobre essa formação geológica está representada pelas cristas, escarpas e vales profundos (SAADI, 1995).

Segundo Saadi (*l.c.*), as formas de relevo refletem o produto de um conjunto de processos convergentes, não havendo evidências de períodos climáticos secos, que podem ter sido apagados pelo forte intemperismo da região durante os períodos úmidos. Entretanto, alguns vestígios permitem sugerir que a formação geológica da Cadeia do Espinhaço evoluiu sob condições paleoclimáticas predominantemente úmidas e quentes.

A evolução geomorfológica da Serra do Espinhaço, em Minas Gerais, extrapolando para a Cadeia do Espinhaço como um todo, foi caracterizada pela sucessão de eventos, como os plainamentos regionais, ocorridos durante o Mesozóico-Terciário, e a dissecação e entulhamento dos vales durante o Quaternário (SAADI, 1995).

O tipo climático atual, segundo Köppen é mesotérmico (verões amenos e chuvosos), com temperatura média entre 17,4 °C e 19,8°C, e até 22°C mesmo nos meses mais quentes. Esse tipo de clima pode ser caracterizado por possuir um período seco durante 3 a 4 meses e um período úmido durante 7 a 8 meses, sendo o período seco coincidente com o inverno. Nas grandes altitudes, o clima é amenizado devido à umidade vinda do Oceano Atlântico, que, ao longo do ano, provê umidade em forma de chuva ou orvalho na encosta leste das montanhas do Espinhaço (GIULIETTI e PIRANI, 1987).

## 1.2 CONSIDERAÇÕES SOBRE ENDEMISMO

A distribuição restrita de um táxon é uma consequência de diversos fatores ecológicos e históricos, os quais devem ser igualmente considerados para explicar seu endemismo (BROWN e LOMOLINO, 2006; ZOMIRO e ZULLINI, 2003).

Quanto aos fatores ecológicos, observa-se que a habilidade de sobrevivência e a extinção das populações afetam sua capacidade de permanecer em áreas restritas e os processos de dispersão influenciam sua capacidade de colonizar áreas favoráveis. As condições bióticas e abióticas determinam as distribuições locais habitáveis dentro da área geográfica e impedem os táxons de expandirem para a periferia de sua área. Quanto aos fatores históricos, é preciso avaliar como o táxon tornou-se confinado à atual distribuição, para reconstruir sua origem geográfica, propagação e contração. Entretanto, ao se analisar os fatores históricos, como a formação de barreiras geográficas, deriva continental, mudanças do nível do mar e glaciações, é preciso também considerar que outros eventos estavam influenciando concomitantemente o táxon em estudo. Os mesmos eventos históricos

determinaram as expansões e contrações de outras populações, limitando a distribuição umas das outras através das interações bióticas. Isso demonstra quão complexa é a investigação sobre a distribuição espacial de espécies atuais, visto que diversas são as causas que influenciam sua ocorrência nas áreas geográficas. Portanto, o levantamento de hipóteses deve ser considerado como ponto de partida para estudos mais aprofundados sobre a história e as relações ecológicas de um táxon (BROWN e LOMOLINO, 2006).

### 1.3 MELASTOMATACEAE

Um grande número de espécies endêmicas ocorre nos campos rupestres e, apesar de não haver uma homogeneidade na composição florística dos campos rupestres, há dominância de algumas famílias, como Asteraceae, Bromeliaceae, Cyperaceae, Fabaceae, Eriocaulaceae, Melastomataceae, Orchidaceae, Poaceae e Velloziaceae (CONCEIÇÃO, 2007).

Melastomataceae compreende cerca de 150 a 166 gêneros e 4570 mil espécies. A família foi amplamente estudada, para a qual diversos sistemas de classificação foram sugeridos (TRIANA, 1871; COGNIAUX, 1891; KRASSER, 1893; VLIET *et al.*, 1981 *apud* RENNER, 1993.). O sistema mais recente divide Melastomataceae em duas subfamílias, Melastomoideae e Kibessioideae, sendo a primeira dividida em 8 tribos, Microlicieae, Rhexieae, Merianieae, Sonerileae, Miconieae, Blakeeae e Astronieae e a segunda em uma única tribo, Kibesseae (RENNER, *l.c.*).

Sua distribuição é pantropical, sendo especialmente comum em ambientes montanhosos tropicais e geralmente as espécies arbustivas ocorrem sob alta incidência solar, sendo típicos de estágios sucessionais iniciais (WATSON e DALLWITZ, 1992).

São plantas que variam do hábito herbáceo ao arbóreo, apresentam pilosidade variada, podendo ter tricomas estrelados, dendríticos, glandulares, com haste pluricelular, multisseriados ou escamas peltadas (WURDACK, 1986). As folhas são opostas e decussadas, com limbo inteiro, podendo ter de duas a 8 nervuras secundárias subparalelas, divergentes na base e convergentes no ápice, sendo essa sua principal característica diagnóstica. As inflorescências podem ser cimosas ou racemosas, axilares ou terminais. As flores geralmente são bracteoladas, diclamídeas, dialipétalas e geralmente hermafroditas, variando entre as colorações branca, rósea, lilás e roxa. O hipanto é bem desenvolvido e o cálice e a corola são distintos. A corola pode apresentar 4 – 6, ou 8 pétalas e o número de estames é geralmente o

dobro do número de pétalas. Os filetes são curvos e essa curvatura pode se acentuar durante a antese, ocorrendo o movimento das anteras para um mesmo lado da flor (BARROSO, 1991). Esse fenômeno está relacionado com a polinização, pois permite às abelhas um posicionamento adequado para vibrar as anteras, promovendo a chuva de pólen (FRACASSO, 2003). A antera pode ser, às vezes, unilocular, deiscente por poros apicais ou por fendas longitudinais. O fruto pode ser capsular poricida ou baga enquanto as sementes são numerosas e pequenas, sendo dispersas por vento ou gotas de chuva, e o endosperma é ausente (BARROSO, *l.c.*).

Cerca de 480 espécies distribuídas em 63 gêneros ocorrem no Brasil (BARROSO, *l.c.*), sendo alguns gêneros restritos à região central, como *Cambessedesia*, *Chaetostoma*, *Lavoisiera*, *Marcetia*, *Microlicia*, *Trembleya* e *Svitramia*. Outros, como *Leandra*, *Miconia*, *Ossaea* e *Tibouchina*, têm distribuição mais ampla (ROMERO e MARTINS, 2002). De acordo com Fritsch *et al.* (2004), mais de 90% das quase 300 espécies da tribo Microlicieae são endêmicas do cerrado, sendo a mais diversa nos campos rupestres. Entre elas estão as espécies do gênero *Cambessedesia* (Fritsch, 2004).

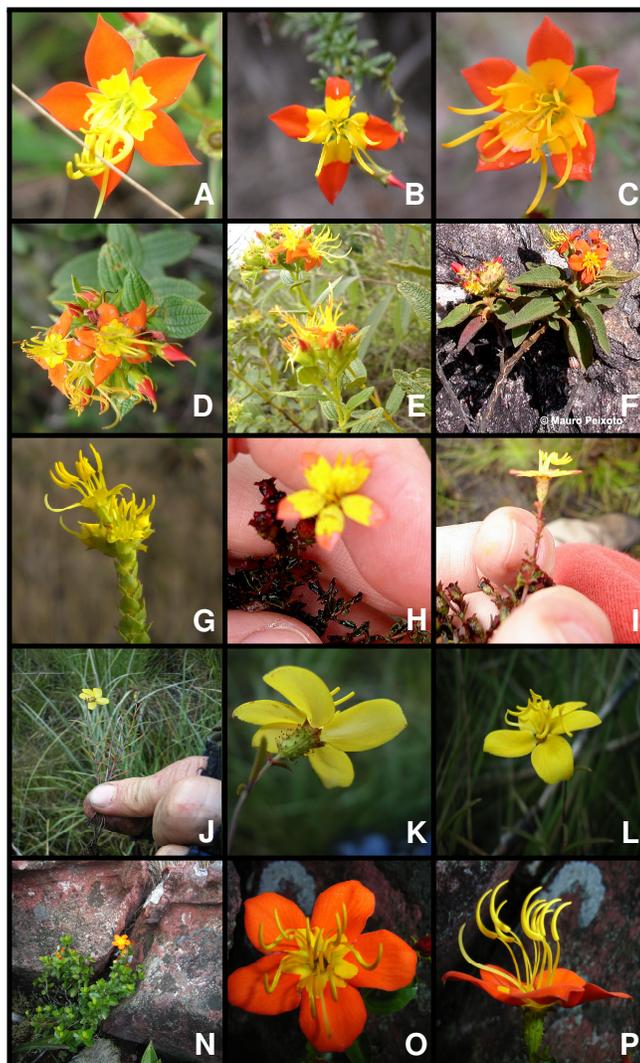
### 1.3.1 *Cambessedesia* DC.

O gênero *Cambessedesia* (Figura 4) é endêmico no Brasil, distribuído especialmente nos campos rupestres dos estados da Bahia, Minas Gerais e Goiás, podendo ocorrer também nos cerrados de Pernambuco, São Paulo, Mato Grosso e Paraná (MARTINS, 1984).

De Candolle descreveu o gênero em 1828, circunscrevendo-o pelas flores com hipanto globoso a obovado, cujos lacínios são persistentes e têm forma aguda. De acordo com o autor, a corola apresenta 5 pétalas geralmente obovadas. O número de estames segue o padrão da família, sendo o dobro do número de pétalas. As anteras são lineares e falciformes, com base subrostrada, auriculada a gibosa, conectivo evidente e prolongado e o estilete é filiforme. O fruto é capsular com forma ovada-globosa e possui 3 lóculos. As sementes são triangulares a ovadas e seu hilo é linear. As folhas são sésseis e as flores podem ser púrpuras ou amarelas. O gênero foi dedicado a Cambessedes, que auxiliou Saint-Hillaire na publicação *Flora Brasiliae Meridionalis* (1825-1833). Na publicação foram descritas 10 espécies e uma variedade, retiradas do gênero *Rhexia*: *Cambessedesia late-venosa* (*Rhexia late-venosa* Mart.); *C. purpurata* (*Rhexia purpurata* Schr. et Mart.); *C. corymbosa* (*Rhexia corymbosa* Mart. et

Schr.); *C. balsaminifera* (*Rhexia balsaminifera* Mart. et Schr.); *C. sincorensis* (*Rhexia resinosa* Schrank, *Rhexia sincorensis* Mart.); *C. crenulata* (*Rhexia crenulata* Mart. et Schrank.); *C. espora* (*Rhexia espora* A. St.-Hil in Bonpl., *Rhexia chamaedrifolia* Schr. et Mart.) e *C. espora* var. *ilificolia* (*Rhexia ilicifolia* Schrank et Mart.); *C. adamantium* (*Rhexia adamantium* A.St.-Hil in Bonpl.); *C. hilariana* (*Rhexia galioides* Schr. et Mart., *Rhexia hilariana* Kunth in Bonpl., *Rhexia suberosa* Spreng.); e *C. bidentata* (*Rhexia bidentata* Nees et Mart.).

Cogniaux (1891) reformulou a circunscrição do gênero, descrevendo-o mais detalhadamente. Adicionalmente dividiu *Cambessedesia hilariana* em variedades, conforme sua diversidade morfológica: *C. hilariana* var. *setosa*, *C. hilariana* var. *lanceolata*, *C. hilariana* var. *grandiflora*, *C. hilariana* var. *vulgaris*, *C. hilariana* var. *genuina*, *C. hilariana* var. *longifolia*, *C. hilariana* var. *bidentata*, *C. hilariana* var. *galioides*, *C. hilariana* var. *obtusifolia*, *C. hilariana* var. *ciliata*, *C. hilariana* var. *linearis*; e descreveu novas espécies: *C. eichleri* Cogn.; *C. membranacea* Gardn.; *C. purpurata* DC; *C. weddellii* Naud.; *C. latevenosa* DC.; *C. rugosa* Cogn.; *C. arenaria* Cogn.; *C. corymbosa* DC.; *C. espora* DC.; *C. espora* DC. var. *chamaedryfolia* Cogn.; *C. ilicifolia* Triana; *C. regnelliana* Cogn.; *C. adamantium* DC.; *C. setacea* Cogn.



**Figura 4.** Algumas espécies representativas do gênero *Cambessedesia* DC. A-B) *C. hilariana*, Serra do Cipó, Santa Luzia, MG. (Crédito: C.A.Mittelstaedt e D.Clivati, 2006); C) *C. hilariana*, Ibicoara, BA. (Crédito: J. Mullins, 2004); D-E) *C. corymbosa*, Serra do Cipó, Santa Luzia, MG. (Crédito: C.A.Mittelstaedt e D.Clivati, 2006); F) *C. salviifolia*. (Crédito: M. Peixoto); G) *C. espora* subsp. *ilicifolia*. Brumadinho, MG. (Crédito: V.A.O.Dittrich, 2007); H-I) *C. semidecandra*, Serra do Cipó, Santa Luzia, MG. (Crédito: C.A.Mittelstaedt e D.Clivati, 2006); J-L) *C. gracilis*, Catolés, BA. (Crédito: J. Mullins, 2004); M-O) *C. tenuis* Piatã, BA; (Crédito: J. Mullins Santa Luzia Santa Luzia, 2004).

Segundo Martins (1984), vários autores (MARTIUS, 1829; DON, 1832; CHAMISSO, 1834; SPACH, 1835; ENDICHLER, 1840; GARDNER, 1844 *apud* MARTINS, 1984), realizaram pequenas modificações em *Cambessedesia*, aprimoradas por TRIANA (1871), que reuniu uma quantidade maior de informações provenientes de material de herbários europeus. Mais modificações foram realizadas por outros autores (RECHINGER, 1908; MARKGRAF, 1927; WURDACK, 1981 *apud* MARTINS, 1984) e, ao final delas, o gênero contava com 19 espécies.

A revisão taxonômica do gênero (MARTINS, 1984) circunscreve o táxon com base nas flores pentâmeras ou 6-meras, com coloração vermelho-alaranjada com base amarela, ou totalmente amarela, assim como conectivo espessado dorsalmente, algumas vezes com um apêndice na base. O ovário pode ser piloso ou glandular-piloso, puberoso ou pubescente. O gênero é constituído por duas seções, a *Cambessedesia* e a *Pyramia* (Cham.) A.B.Martins. A primeira detém as espécies que apresentam ovário com 3 a 4 lóculos e tricomas glandulares simples, enquanto a segunda seção, proveniente do gênero *Pyramia* Cham., detém as espécies que apresentam ovário com 5 a 6 lóculos e possuem tricomas dendríticos ou estrelados (MARTINS, *l.c.*).

Desde sua determinação por De Candolle (1891), realizaram-se rearranjos taxonômicos e descrições de novas espécies, sendo o gênero *Cambessedesia* atualmente composto por 21 espécies descritas. Até 2004, *Cambessedesia* foi considerado membro da tribo Microlicieae de acordo com os sistemas de Triana (1871), Cogniaux (1891) e Renner (1993). Posteriormente, Fritsch *et al.* (2004), num estudo focando as relações entre os gêneros da tribo Microlicieae, com base em dados morfológicos e moleculares, obtiveram como resultado o posicionamento de *Cambessedesia* fora da referida tribo. O gênero ficou agrupado numa politomia com as tribos Melastomeae, Sonerileae, Dissochaeteae, Bertolonieae (em parte) e Blakeeae, e a politomia ficou agrupada com o clado do núcleo Microlicieae.

Fritsch *et al.* (*l.c.*) sugeriu que *Cambessedesia* e mais outros 3 gêneros deveriam ser acomodados em outras tribos. Essa decisão ainda requer estudos mais detalhados, com maior amostragem de gêneros, os quais já estão em andamento (MARTINS, *com.pess.*).

Além do posicionamento incerto do gênero *Cambessedesia* dentro da família Melastomataceae, suas relações intra-específicas também são desconhecidas à luz da filogenia, sendo imprescindível a realização de estudos baseados em dados morfológicos e moleculares.

## 1.4 FILOGENIA

O objetivo principal da sistemática filogenética é a reconstrução das relações de ancestralidade entre os táxons através dos caracteres derivados compartilhados. Assim, as classificações que não utilizam a filogenia como ferramenta correm o risco de serem artificiais, sendo útil apenas para identificações e não para questões evolutivas (WILEY *et al.*, 1991).

### 1.4.1 Filogenia Morfológica

Segundo Wiley *et al.* (1991), todas as evidências relevantes disponíveis devem ser utilizadas para a inferência da filogenia dos grupos. Essas evidências são os atributos inerentes a cada organismo, ou seja, seu caráter intrínseco. Através dos caracteres do organismo podem ser inferidos os caracteres do táxon ao qual ele se insere.

Wiley (1981) já discutia a falta de definição para o termo “caráter”, criando ele próprio uma acepção: “uma característica de um organismo, produto de uma seqüência ontogenética ou citogenética de características pré-existentes, ou uma característica de um organismo parental pré-existente. Essas características surgem na evolução através de modificações de seqüências moleculares, ontogenéticas ou citogenéticas pré-existentes”. O autor destaca a importância de se codificar corretamente tanto caracteres morfológicos quanto moleculares para análises filogenéticas.

Mais recentemente, Sereno (2007) também discutiu amplamente a negligência do significado de “caráter”, revisando os conceitos utilizados até então (Tabela 1). A discussão baseia-se nos preceitos de caráter como “variáveis independentes”, e de estados de caráter como “condições mutuamente exclusivas de um caráter”. A conclusão é de que a independência e a exclusão mútua são as propriedades necessárias suficientes para definir caráter e estados de caráter, tanto para dados morfológicos, quanto moleculares.

**Tabela 1.** Breve histórico das definições de “caráter”. Modificado de Sereno (2007).

Definição	Referência
“Qualquer atributo de um organismo ou de um grupo de organismos pelo qual se difere de outros organismos pertencentes à outra categoria ou se assemelha a organismos da mesma categoria”.	MAYR <i>et al.</i> (1953)
“As particularidades que distinguem semaforontes (ou grupo de semaforontes) de outros caracteres dos semaforontes”.	HENNIG (1966)
“Uma teoria na qual dois atributos que parecem diferentes, são, na verdade, o mesmo (homólogos)”.	PLATNIK (1979)
“A parte ou atributo de um organismo que pode ser descrito, figurado, medido, pesado, contado, marcado ou transmitido de um biólogo para outro”.	WILEY (1981)
“O caráter multi-estado é considerado um grupo de mais de dois estados orgânicos ou inorgânicos que, através de algum processo, transformou-se de um para outro”.	O’GRADY e DEETS (1987)
“Atributos de organismos que sofreram mudança evolutiva (...), um gene, uma característica morfológica, uma seqüência ontogenética, um atributo comportamental ou qualquer outro aspecto herdável”.	MABEE (1989)
“O conceito de homologia primária é uma hipótese baseada na similaridade e reflete a expectativa de que haja uma correspondência das partes (dos organismos) que pode ser detectada pela equivalência das similaridades observadas”.	DE PINNA (1991)
“Qualquer característica observável de um organismo”.	GRANDE e RIEPPEL (1994); LIERN <i>et al.</i> (2001)
“Uma característica particular interpretada como homóloga a outra característica”.	ZELDITCH <i>et al.</i> (1995)
“(1) uma hipótese de <i>homologia primária</i> em dois ou mais <i>táxons terminais</i> baseadas nas observações originais dos organismos. (2) Uma característica observável de um organismo usado para distingui-lo de outro”.	KITCHING <i>et al.</i> (1998)
“Os termos <i>caráter</i> e <i>homologia primária</i> tornaram-se o mesmo”.	WILLIAMS e SEIBERT (2000)
“Qualquer caráter compartilhado entre os organismos que, acredita-se, proverá informação para a análise filogenética (...) a soma das características que apresentam similaridades particulares (...) identidades topológicas (...) ou relações de homologia primária (...) cada qual observado em organismos diferentes”.	STEVENS (2000)
“Hipótese (...) objeto de estudo do teste cladístico de congruência numa análise de parcimônia”.	FOREY e KITCHING (2001)
“Uma observação que captura peculiaridades distintas entre organismos (...) uma relação lógica estabelecida entre atributos intrínsecos de dois ou mais organismos que, se corroborados por congruência, é hipoteticamente explicado como uma relação histórica”.	RIEPEL e KEARNEY (2002)
“Uma série de eventos históricos singulares”.	GRANT e KLUGE (2004)

A complexidade da codificação de caracteres, mesmo sendo mais marcante nos dados morfológicos, também é inerente aos dados moleculares.

Apesar de não ser possível definir se as transversões e transições são homólogas entre as seqüências analisadas, a dificuldade na determinação de homologias entre os caracteres morfológicos é um dos argumentos freqüentemente empregados para justificar o emprego de dados moleculares, ao invés de morfológicos, na reconstrução das relações filogenéticas. Além disso, a ambigüidade dos estados de caráter também justificaria a utilização de dados moleculares, ao invés de morfológicos (SCOTLAND *et al.*, 2003).

Segundo Scotland (*l.c.*), a morfologia é uma fonte de todo o conhecimento que se tem atualmente sobre os organismos, porém, seu emprego na análise filogenética deixa lacunas, que só seriam preenchidas pela apreciação dos dados moleculares.

Nesse contexto, a análise filogenética baseada em dados morfológicos pode ser uma importante ferramenta para complementar as informações resultantes das análises baseadas em dados moleculares, e vice-versa, já que ambas são evidências da história evolutiva dos organismos.

Por outro lado, até o presente momento, a reconstrução da história filogenética a partir de dados moleculares tem se baseado primordialmente em informações pontuais (como uma ou poucas seqüências de DNA), o que leva a um vislumbre limitado da filogenia dos organismos.

#### **1.4.2 Filogenia Molecular**

A filogenia molecular apresenta como importante vantagem sobre a filogenia morfológica a utilização de um número muito maior de caracteres, dada à combinação de nucleotídeos e a variação de cada nucleotídeo entre indivíduos do mesmo táxon, entre táxons, etc. (DOYLE, 1992).

Além disso, a codificação dos caracteres moleculares é mais objetiva do que os dados morfológicos, uma vez que não há ambigüidade, já que há apenas 4 nucleotídeos possíveis, compreendidos como 4 estados do mesmo caráter (MEYER, 1997).

Porém, os nucleotídeos apresentam diversas combinações e localizações no genoma, e a escolha de quais devem ser comparados é fundamental para a análise filogenética (WHEELER, 2001).

A sistemática atualmente já é direcionada pela reconstrução filogenética através de dados moleculares e estudos dessa natureza têm sido cada vez mais comuns. Apesar disso, é imprescindível ressaltar que esse tipo de análise resulta em árvores que recapitulam a história evolutiva da molécula empregada e não do táxon em estudo (DOYLE, 1992).

Por outro lado, a história evolutiva da molécula só é reconstruída quando se analisa genes ortólogos (aqueles que são homólogos nas diferentes espécies). Nem sempre é possível distinguir moléculas ortólogas de parálogas, ou seja, aquelas que sofreram divergência no momento da duplicação gênica que as originou (MEYER, 1997; PAGE e HOLMES, 1998). Por isso, os dados moleculares apresentam, de maneira semelhante aos dados morfológicos, problemas relacionados à determinação da homologia do caráter utilizado na análise filogenética.

#### 1.4.2.1 DNA ribossômico

Algumas famílias multigênicas apresentam apenas uma cópia ou poucas cópias de genes no genoma, as quais geralmente têm funções distintas. Outras famílias multigênicas são muito repetidas e em seqüência, contendo múltiplas cópias de genes com a mesma função. É provável que essas repetições *in tandem* tenham evoluído devido à grande demanda de proteínas da célula hospedeira. O DNA ribossômico codifica RNAr, que é um elemento do ribossomo. Devido à função de síntese de proteínas do ribossomo, o RNAr é encontrado em todas as espécies e em grande quantidade em cada célula, inclusive em mitocôndrias e cloroplastos (PAGE e HOLMES, 1998)

Existem três tipos de RNAr no genoma nuclear dos eucariotos: o 18S ou subunidade menor, com aproximadamente 1.800 pares de bases; o 26S ou subunidade maior, com aproximadamente 4.000 pares de bases; e o RNAr 5,8S, com aproximadamente 160 pares de bases. Além dessas seqüências codificadoras, o arranjo de DNAr também contém regiões espaçadoras, que sinalizam a transcrição de RNA, sendo elas um espaçador externo transcrito (ETS) e dois espaçadores internos transcritos (ITS1 e ITS2). O conjunto de seqüências de genes e espaçadores formam uma unidade de transcrição de RNAr. Essas unidades são repetidas *in tandem* em muitas espécies e cada unidade é separada por um espaçador não-transcrito (NTS) (PAGE e HOLMES, 1998).

O número de cópias do DNAr varia entre as espécies e suas seqüências vem sendo freqüentemente empregadas em análises filogenéticas moleculares, baseadas no fato de que a síntese protéica é essencial à vida e por isso os ribossomos estão presentes em todas as formas de vida (HILLIS e DIXON, 1991).

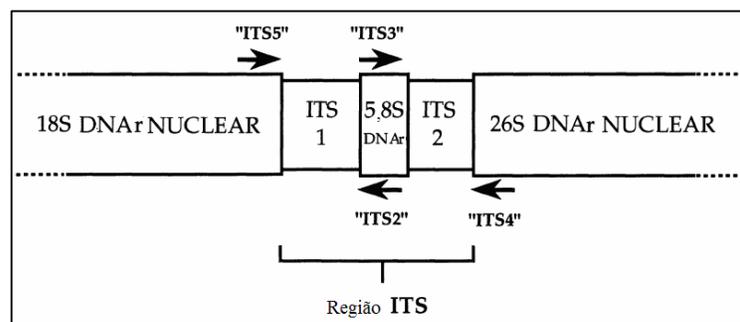
O DNAr, entretanto, não evolui de uma maneira simples. Há um padrão entre as seqüências de DNAr intra-específicas e interespecíficas, as quais apresentam, respectivamente, um alto grau de similaridade e uma ampla divergência. Geralmente uma baixa variação intra-específica é esperada quando há baixo nível de divergência interespecífica. O padrão encontrado no DNAr, resultante da *evolução em concerto*, é explicado por mecanismos genéticos (*crossing-over* e conversão genética) que transferem seqüências de DNA entre genes, permitindo que evoluam concomitantemente. Isso significa que as mutações podem se espalhar, mesmo que sejam em diferentes cromossomos (PAGE e HOLMES, 1998).

A desvantagem de se utilizar seqüências que evoluem em concerto é a dificuldade de distinguir quais genes são homólogos, pois genes ortólogos e parálogos podem estar homogeneizados (PAGE e HOLMES, 1998).

#### 1.4.2.2 A região ITS

O espaçador interno transcrito (ITS) é uma região compreendida entre os genes 18S e 26S do DNA ribossômico nuclear (Figura 5). O ITS1 separa os genes 18S e 5,8S, enquanto o espaçador ITS2 separa os genes 5,8S e 26S (BALDWIN *et al.*, 1995). Os espaçadores transcritos (ITS1 e ITS2) contêm sinais para processar a transcrição do RNAr (HILLIS e DIXON, 1991). A região ITS é comprovadamente uma fonte segura de caracteres moleculares utilizadas em análises filogenéticas em muitas famílias de angiospermas. Os espaçadores ITS1 e ITS2 (cada um com aproximadamente 300 pares de bases) podem ser diretamente amplificados por *PCR* e seqüenciados através de iniciadores “universais” (BALDWIN *et al.*, 1995; Figura 5).

A análise filogenética através da combinação dos dois espaçadores resulta em árvores melhor resolvidas e com suporte mais alto do que a análise baseada em apenas um dos espaçadores. Isso ocorre devido ao fato das seqüências dos espaçadores terem relativamente poucos caracteres, aproximadamente 300 pares de bases cada. (BALDWIN *et al.*, 1995).



**Figura 5.** Esquematização da região ITS do DNA ribossômico nuclear. As setas indicam a posição de anelamento e o sentido dos iniciadores “universais”. Fonte: modificado de BALDWIN *et al.* (1995).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

O presente trabalho tem como objetivo geral desenvolver hipóteses filogenéticas para o gênero *Cambessedesia* com base em dados morfológicos e moleculares (região ITS do DNA ribossômico nuclear).

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Testar a monofilia das seções *Cambessedesia* e *Pyramia* (Cham.) A.B.Martins do gênero *Cambessedesia*;
2. Reconhecer o padrão atual morfológico para as espécies de *Cambessedesia* assim como propor hipóteses para os processos evolutivos dos caracteres;
3. Através da(s) hipótese(s) filogenética(s) encontrada(s), reconhecer se há correlação entre a filogenia e o padrão de distribuição geográfica das espécies.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 ESTUDOS DOS CARACTERES MORFOLÓGICOS

Foram utilizadas neste trabalho todas as espécies e subespécies (Tabela 2), das seções *Pyramia* Cham. e *Cambessedesia*, do gênero *Cambessedesia*, segundo o sistema de Martins (1984), para compor o grupo-interno,. O grupo-externo foi composto por espécies de diferentes tribos de Melastomataceae: *Huberia piranii* Baumgratz (Meranieae), *Microlicia viminalis* Triana (Microlicieae), *Trembleya parviflora* Cogn. (Microlicieae) e *Miconia ligustroides* Naudin (Miconieae).

A codificação dos caracteres foi baseada em material herborizado (exsicatas permutadas de diversos herbários nacionais; Tabela 2) observado ao microscópio estereoscópico (CZM4 - Labomed) e ao microscópio óptico comum (BA400 - Motic), além de literatura (COGNIAUX, 1891; 1888; MARTINS; 1983; 1984; 1985; 1995).

**Tabela 2.** Espécies do gênero *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae) e espécies do grupo-externo, das quais foram codificados os caracteres utilizados na matriz morfológica.

Seção <i>Cambessedesia</i>	
Espécies	Material testemunho/ literatura consultada
1. <i>C. arenaria</i> Cogn.	MARTINS (1984).
2. <i>C. atropurpurea</i> A.B.Martins	MARTINS (1984).
3. <i>C. corymbosa</i> DC.	<i>BHCB</i> 75652, <i>BHCB</i> 31793, <i>BHCB</i> 42744, <i>BHCB</i> 5247, <i>BHCB</i> 19882, <i>BHCB</i> 67982, <i>BHCB</i> 68023, <i>BHCB</i> 63514, <i>BHCB</i> 67981, <i>BHCB</i> 68021, <i>SP</i> 329157, <i>SP</i> 329172, <i>HUFU</i> 24984, <i>HUFU</i> 27052.
4. <i>C. eichleri</i> Cogn.	MARTINS (1984).
5. <i>C. espora</i> subsp. <i>espora</i> (DC) A.B.Martins	<i>BHCB</i> 29094, <i>BHCB</i> 54243, <i>BHCB</i> 19877, <i>BHCB</i> 16279, <i>BHCB</i> 10772, <i>BHCB</i> 10772, <i>HEPH</i> 14327-8, <i>HEPH</i> 21902-9, <i>HEPH</i> 19483-2, <i>HEPH</i> 268-2, <i>HEPH</i> 20435-8, <i>HEPH</i> 11091-4, <i>HEPH</i> 7835-2, <i>HEPH</i> 5028-8, <i>HEPH</i> - 4067-3, <i>HEPH</i> 3517-3, <i>HEPH</i> 17596-0, <i>ESAL</i> 15901, <i>ESAL</i> 11773, <i>HUFU</i> 4113, <i>MG</i> 147437, <i>MG</i> 75778.
6. <i>C. espora</i> subsp. <i>ilicifolia</i> (DC.) A.B.Martins	<i>HRCB</i> 6, <i>HRCB</i> 6, <i>AC</i> 2314, <i>IAC</i> 3478, <i>IAC</i> 3968, <i>IAC</i> 3140, <i>IAC</i> 6396, <i>IAC</i> 8783, <i>IAC</i> 19362, <i>IAC</i> 22276, <i>RBR</i> 22339, <i>RBR</i> 22338, <i>ESAL</i> 16206, <i>ESAL</i> 3639, <i>ESAL</i> 3028, <i>ESAL</i> 11083, <i>ESAL</i> 10664, <i>ESAL</i> 08300, <i>ESAL</i> 07277, <i>ESAL</i> 6242, <i>ESAL</i> 5378, <i>ESAL</i> 4961, <i>ESAL</i> 4910, <i>ESAL</i> 4054, <i>ESAL</i> 3358, <i>ESAL</i> 2939, <i>ESAL</i> 2217, <i>ESAL</i> 954, <i>ESAL</i> 5567, <i>ESAL</i> 13436, <i>BHCB</i> 16432, <i>BHCB</i> 24820, <i>BHCB</i> 24071, <i>BHCB</i> 68509, <i>BHCB</i> 22881, <i>BHCB</i> 3698, <i>BHCB</i> 67966, <i>BHCB</i> 67969, <i>BHCB</i> 67995, <i>BHCB</i> 38032, <i>BHCB</i> 60934, <i>HUFU</i> 28611, <i>HUFU</i> 34924, <i>HUFU</i> 29407, <i>HUFU</i> 28678, <i>HUFU</i> 37949, <i>HUFU</i> 38181, <i>HUFU</i> 38018, <i>BHCB</i> 3245, <i>BHCB</i> 379, <i>BHCB</i> 3398.
7. <i>C. glaziovii</i> Cogn. ex A.B.Martins	<i>SP</i> 215924, <i>SP</i> 212490, <i>HEPH</i> 3975-6, <i>HEPH</i> 6374-6ESA – 81463.
8. <i>C. gracilis</i> Wurdack	<i>HUEFS</i> 98675.
9. <i>C. harleyi</i> Wurdack	<i>HUEFS</i> 106661.
10. <i>C. hermogenesii</i> A.B.Martins	MARTINS (1984).
11. <i>C. hilariana</i> DC.	<i>ESA</i> ? - <i>V.C.Souza et al.</i> – 2219, <i>ESA</i> 48748, <i>ESA</i> 20278, <i>ESA</i> ? - <i>V.C.Souza et al.</i> – 9982, <i>ESA</i> 8912, <i>ESA</i> ? - <i>K.D.Barreto et al.</i> – 3281, <i>ESA</i> 41207, <i>ESA</i> 77998, <i>ESA</i> ex-SPF, ?- <i>V.C.Souza et al.</i> 1523, <i>HRCB</i> 1, <i>HRCB</i> 2 <i>HRCB</i> 3, <i>HRCB</i> 4, <i>HRCB</i> 5, <i>HRCB</i> 8,

**Tabela 2.** Espécies do gênero *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae) e espécies do grupo-externo, das quais foram codificados os caracteres utilizados na matriz morfológica (continuação)

11. <i>C. hilariana</i> DC. (continuação)	HRCB 7, HRCB 9, HAS 86697, IAC 27061, IAC 6395, IAC 14134, IAC 43876, HUEFS 94611, HUEFS 104748, HEPH 21752-2, HEPH 20090-5, HEPH 5486-1, RBR 22337, RBR 22336, BHZB 2545, BHZB 2391, BHZB 5260, BHZB 1047, ESAL 4271, ESAL 1774, ESAL 10345, ESAL 11045, ESAL 11732, BHC B 8633, BHC B 68014, BHC B 60932, BHC B 10465, BHC B 8861, BHC B 8104, BHC B 5824, BHC B 6970, BHC B 67986, BHC B 66959, BHC B 67978, BHC B 67987, BHC B 68009, BHC B 68797, BHC B 80325, BHC B 87000, BHC B 2838, BHC B 5442, BHC B 19874, BHC B 19875, BHC B 14325, BHC B 50985, BHC B 12327, BHC B 5455, BHC B 71452, BHC B 47669, BHC B 26841, BHC B 21450, BHC B 19885, BHC B 18467, BHC B 19879, BHC B 10649, HUFU 29568, HUFU 35699, HUFU 5341, HUFU 8433, HUFU 24987, HUFU 23717, HUFU 23723, HUFU 23719, HUFU 23720, HUFU 28640, HUFU 28845, HUFU 24978, HUFU 24971, HUFU 4405, HUFU 32329, HUFU 25077, HUFU 8355, HUFU 5386, HUFU 5072, HUFU 36831, HUFU 21778, HUFU 24941, HUFU 18269, HUFU 6411, HUFU 44048, HUFU 9548, HUFU 30076, HUFU 8927, HUFU 28697, HUFU 31059, HUFU 29498, HUFU 32843, HEPH 14819-9, HEPH 4071-1, SP 370221, SP 233048, SP 304553, MG 114489, MG 107397, MG 148728.
12. <i>C. latevenosa</i> DC.	ESA 77921.
13. <i>C. membranacea</i> subsp. <i>bahiana</i> A.B.Martins	HUEFS 94164.
14. <i>C. membranacea</i> subsp. <i>membranacea</i> A.B.Martins	SP 141300, MG 112862.
15. <i>C. purpurata</i> DC.	ESA 61453, HUEFS 94189, HUMC 1652.
16. <i>C. rupestris</i> A.B.Martins	MARTINS (1993).
17. <i>C. semidecandra</i> A.B.Martins	BHC B 67974, BHC B 67976, SP 38585, SP 154004, IAC 3479.
18. <i>C. tenuis</i> Markgr.	HUEFS 94553, SP 346945.
19. <i>C. weddelli</i> Naudin.	BHC B 39683, BHC B 60931.
20. <i>C. wurdackii</i> A.B.Martins	MARTINS (1984).
<b>Seção <i>Pyramia</i> Cham.</b>	
21. <i>C. cambessedesioides</i> (Wurdack) A.B.Martins	HUEFS 99615.
22. <i>C. pityrophylla</i> (DC.) A.B.Martins	BHC B 62345, SP 38254, HUFU 25061.

**Tabela 2.** Espécies do gênero *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae) e espécies do grupo-externo, das quais foram codificados os caracteres utilizados na matriz morfológica (continuação).

23. <i>C. salviifolia</i> (Cham.) A.B.Martins	BHCB 48618, BHCB 40199, BHCB 38437, BHCB 8364, BHCB 8161, SP 312989, HUFU 6247, HUFU 24959.
24. <i>C. striatella</i> (Naudin.) A.B.Martins	MARTINS (1984).
<b>Grupo-externo</b>	
25. <i>Huberia piranii</i> Baumgratz - tribo Merianieae	BAUMGRATZ (1999).
26. <i>Microlicia viminalis</i> Triana - tribo Microliciae	ROMERO (2003).
27. <i>Trembleya parviflora</i> Cogn. - tribo Microliciae	MARTINS (1997).
28. <i>Miconia ligustroides</i> Naudin. - tribo Miconieae	GOLDENBERG (2004).

### 3.2 EXTRAÇÃO DE DNA E AMPLIFICAÇÃO GÊNICA

Os experimentos moleculares foram realizados no Laboratório de Genômica Estrutural e Funcional e no Laboratório de Genética de Peixes e Aquicultura, pertencentes ao Núcleo Integrado de Biotecnologia (NIB) da Universidade de Mogi das Cruzes.

Para a obtenção de material genético foram utilizados aproximadamente 50 mg de tecido desidratado (não-tratados previamente) de espécimes de *Cambessedesia*. O material foi macerado em nitrogênio líquido e submetido a testes de extração do seu DNA total, com DNAzol® (Invitrogen; CHOMCZYNSKI *et al.*, 1997), CTAB 2x (DOYLE e DOYLE, 1987) e um protocolo modificado a partir do DNAzol®, com adição de lavagem com fenol e clorofórmio.

O procedimento com DNAzol® é baseado no emprego de uma solução detergente que hidrolisa RNA e promove a precipitação seletiva do DNA das células lisadas. Esse protocolo não requer o emprego de fenóis e o DNA pode ser obtido de diversos volumes de amostras e em um tempo relativamente curto, entre 20 e 35 minutos (LATTIF, 2006).

O protocolo de extração de DNA de Doyle e Doyle (1987) baseia-se na utilização de CTAB (brometo de cetiltrimetilamônio) como detergente para solubilizar membranas, além de formar um complexo com DNA para posterior precipitação. Utilizam-se também fenol e clorofórmio para desnaturar proteínas e torná-las insolúveis na fase aquosa. Esse método requer mais de 175 minutos na soma total de cada etapa (COSTA *et al.*, 2002).

As seqüências dos espaçadores ITS1 e ITS2 foram amplificadas com o uso de iniciadores “universais” (WHITE *et al.*, 1990).

A reação de amplificação empregou 1  $\mu$ L de DNA (20ng/ $\mu$ L), 2  $\mu$ L de cada iniciador (12 pmoles/ $\mu$ L), 5  $\mu$ L de tampão 5x, 3  $\mu$ L de MgCl<sub>2</sub> (25 mM), 0,2  $\mu$ L de *mix* de dNTPs (100 pmoles/ $\mu$ L), 0,13  $\mu$ L de *Taq* polimerase (5U/ $\mu$ L) e água MiliQ para completar o volume de 25 $\mu$ L.

As reações em cadeia da polimerase (*PCR*) foram realizadas no termociclador PTC-100 (*MJ Research*), com desnaturação inicial a 95 °C por 1 minuto, 34 ciclos com desnaturação a 94 °C por 1 minuto, anelamento a 48 °C por 1 minuto e extensão a 70°C por 10 minutos. Para otimização da amplificação foram testados diversos volumes de dimetilsulfóxido 5% e soro albumina bovina 10 mg/mL (DMSO; BSA; MIRANDA *et al.*, 2007 [no prelo]); e de concentração de DNA *template*, a partir de 2 ng/ $\mu$ L até a concentração de cada solução estoque dos produtos de amplificação (entre 20 e 213ng/ $\mu$ L). Foram testados também gradientes de temperatura de anelamento para otimização da amplificação (dados não demonstrados). Os produtos das reações foram observados em gel de agarose a 1% evidenciado em brometo de etídio (0,5  $\mu$ g/mL) a 65V e 38 mA por aproximadamente 50 minutos e comparados com o marcador de peso molecular 100pb da marca Promega.

Após a obtenção de bandas específicas, com tamanhos entre 300 e 400 pares de bases, os produtos de *PCR* foram purificados, diretamente da solução ou pelo gel de agarose, e em seguida realizou-se a precipitação dos fragmentos de DNA. A purificação seguiu o protocolo do *kit* GFX<sup>™</sup> (*GE Healthcare*). As reações de seqüenciamento foram realizadas no seqüenciador automático ABI 3100 (*Perkin Elmer*) segundo protocolo do fabricante e as fitas senso e anti-senso obtidas foram comparadas para obtenção de uma fita consenso, através dos programas *Phred* (EWING *et al.*, 1998), *Phrap* e *Consed* (GORDON, 2004). O alinhamento das seqüências foi feito pelo programa *ClustalW* (THOMPSON *et al.*, 1994), através do programa *BioEdit* 7.0.5.3 (HALL, 1999).

### 3.3 ANÁLISE FILOGENÉTICA

#### 3.3.1 Filogenia Morfológica

Foi construída uma matriz com os dados morfológicos, codificados a partir de estruturas vegetativas e reprodutivas, com o emprego do programa NDE 0.5.0 (PAGE, 2001), a qual foi analisada por meio do programa PAUP\* versão 4b10 (SWOFFORD, 2001) através de busca heurística com 2000 réplicas e adição aleatória otimizada por máxima parcimônia; os caracteres inaplicáveis foram considerados como estado adicional e tratados como não-ordenados. Os valores de *bootstrap* (2.000 réplicas com busca heurística; FELSENSTEIN, [1985]) e *Bremer* (BREMER, 1988) foram gerados para inferir o suporte dos ramos. Posteriormente foi realizada a repesagem sucessiva de caracteres, baseada nos índices de consistência rescalonados (FARRIS, 1969). Para o enraizamento dos cladogramas foi utilizada comparação com o grupo-externo (NIXON e CARPENTER, 1993).

#### 3.3.2 Evolução dos Caracteres Morfológicos

Para estudo de evolução de caracteres morfológicos foram utilizados como fonte de dados os cladogramas obtidos como fonte de dados para a reconstrução, através do programa Mesquite (MADDISON e MADDISON, 2007).

#### 3.3.2 Filogenia Molecular

As análises filogenéticas foram realizadas através do método de *Otimização Direta (OD)* (WHEELER, 1996; JANIES e WHEELER, 2002) nas quais as hipóteses filogenéticas baseadas nas seqüências nucleotídicas são construídas diretamente, sem um alinhamento prévio. Na *OD*, consideram-se os *GAPs* como “entidades não-observáveis”, e os *indels* como processos que causam a diferença no tamanho das seqüências, juntamente com as premissas

da máxima parcimônia (WHEELER, 1996). Considerando os *indels* como processos diretos de transformações e utilizando seqüências ancestrais hipotéticas, é possível gerar uma ou mais hipóteses filogenéticas mais parcimoniosas.

Para o teste de sensibilidade foram combinados dois parâmetros: o de custos de *GAPs* e o da relação entre transições e transversões, os quais foram empregados posteriormente em uma matriz de sensibilidade (ou *espaço de análise sensu* PHILLIPS *et al.*, 2000). A essa matriz foram atribuídos valores gradativos, sendo 1, 2, 3 e 4 para *GAPs* e 1:1, 1:2, 1:3 e 1:4 para a relação transições: transversões.

As seqüências nucleotídicas e os dados da matriz morfológica foram analisados isoladamente, mas combinadas posteriormente em uma análise de evidência total (DNA e morfologia). O espaço de análise foi de 16 conjuntos de penalidades, resultantes de quatro variantes para cada parâmetro (4 x 4), empregados para a análise filogenética de cada uma das partições de dados e análise combinada. As análises foram realizadas através do aplicativo POY 3.0.11 (WHEELER *et al.*, 2003). A matriz de custos foi especificada com o parâmetro “molecularmatrix” (-molecularmatrix ‘gaptvts.txt’). A congruência das análises das diferentes matrizes foi mensurada pelo *Incongruence Length Difference* (ILD; FARRIS *et al.*, 1995; modificado por WHEELER [1999]).

O suporte dos ramos foi inferido pelos *Índices de sensibilidade* (IS). O IS foi calculado pela freqüência de cada clado nas 16 topologias.

Para o enraizamento dos cladogramas foi utilizado um grupo-externo composto pelas espécies *Miconia* sp. (tribo Miconieae), *Microlicia* sp. Triana (Microlicieae) e *Trembleya* sp. Cogn. (Microlicieae). Os cladogramas resultantes foram editados com o aplicativo TreeView 1.6.6 (PAGE, 1996). As análises foram conduzidas no *cluster* de 14 nós formados por *Pentium* IV (2 GHz e 512 Mb de RAM, cada um), em atividade paralela e gerenciado pelo sistema PVM (SUNDERAM, 1990).

Após as análises filogenéticas, os cladogramas foram submetidos à uma busca heurística com otimização de máxima parcimônia cujo número de transformações foi representado pelos comprimentos dos ramos. Os resultados foram comparados aos cladogramas da análise morfológica e da molecular.

### 3.4 ANÁLISE BIOGEOGRÁFICA

#### 3.4.1 Distribuição Geográfica

Foi realizada uma atualização das informações sobre distribuição geográfica, a partir do levantamento de dados de exsicatas de herbários nacionais e internacionais, dos quais se registraram a localidade, assim como suas coordenadas geográficas (quando disponíveis), *habitat* e altitude. A partir dessas informações, foram registradas as coordenadas geográficas dos municípios de origem de cada espécime. Todas as informações disponíveis foram utilizadas para desenvolver hipóteses sobre a origem do gênero *Cambessedesia* e como pode ter ocorrido seu endemismo.

#### 3.4.2 Áreas de endemismo

Um método formal de áreas de endemismo (Szumik *et al.*, 2002; Szumik e Goloboff, 2004) foi implementado pelos programas NDM e VNDM 2.5 (Goloboff, 2005) para avaliar o padrão de distribuição das espécies, baseado nos conceitos de Platnik.

Foi construída uma matriz de presença e ausência, por município, para cada espécie de *Cambessedesia*. Em cada célula da matriz foi registrada a codificação de distribuição das espécies. O método avalia, através de um índice, as áreas (representadas por células) de acordo com o ajuste da distribuição das espécies. Foram retidas as áreas com valores máximos que representam seu endemismo (GROSSO e SZUMIK, 2007).

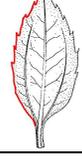
As áreas resultantes foram tratadas como caráter não-ordenado e, em seguida, foram otimizadas pelo método de Fitch (*sensu* RONQUIST, 1994). Os nós que originaram duas ou mais áreas geográficas disjuntas foram consideradas como evidência para eventos de vicariância (GROSSO e SZUMIK, 2007).

## **4 RESULTADOS E DISCUSSÃO**

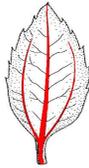
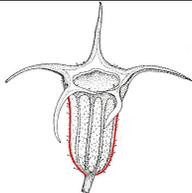
### **4.1 DADOS MORFOLÓGICOS**

A partir da codificação de estruturas vegetativas e reprodutivas das espécies de *Cambessedesia* (Tabela 3), foi construída uma matriz com 44 caracteres morfológicos (Tabela 4), posteriormente submetida à análise filogenética.

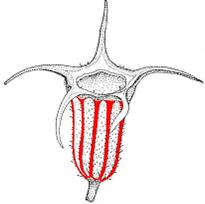
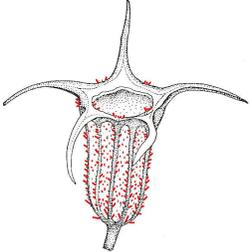
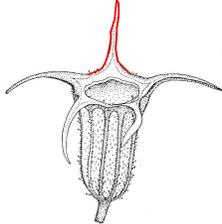
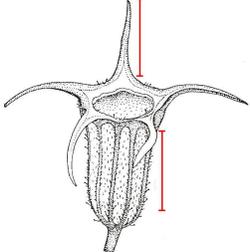
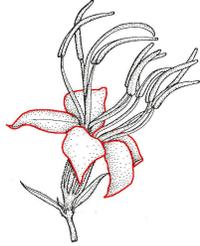
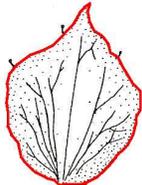
**Tabela 3.** Descrição dos caracteres morfológicos e seus estados, codificados a partir das estruturas vegetativas e reprodutivas das espécies de *Cambessedesia* DC. (grupo-interno) e das espécies *Huberia piranii*, *Microlicia viminalis*, *Trembleya parvifolia* e *Miconia ligustroides* (grupo-externo).

CARÁTER	ESTADOS	REPRESENTAÇÃO DOS CARACTERES*
<b>1. Hábito</b>	(0) subarbusto; (1) arbusto; (2) arvoreta	Verificado pelas descrições em etiquetas das exsiccatas, descrições de espécies e observação em campo
<b>2. Posição do caule</b>	(0) procumbente ou prostrada; (1) ereta	Verificado pelas descrições em etiquetas das exsiccatas, descrições de espécies e observação em campo
<b>3. Forma dos ramos</b>	(0) quadrangulares a subquadrangulares; (1) cilíndricos a subcilíndricos; (2) poligonais.	
<b>4. Posicionamento das folhas</b>	(0) opostas simples; (1) pseudo-fasciculadas.	
<b>5. Lâmina foliar</b>	(0) membranácea a cartilaginosa; (1) coriácea a cartácea.	Verificado pelas descrições em etiquetas das exsiccatas, descrições de espécies e observação em campo
<b>6. Forma foliar</b>	(0) ovóide; (1) elíptica/lanceolada/oblonga; (2) cordiforme; (3) orbicular	
<b>7. Ápice da folha</b>	(0) agudo/acuminado; (1) obtuso; (2) arredondado.	
<b>8. Base da folha</b>	(0) atenuada/aguda; (1) cordada; (2) arredondada.	
<b>9. Margem foliar</b>	(0) inteira; (1) crenada a serreada; (2) crenulada ou ondulada próximo ao ápice e inteira próximo à base.	

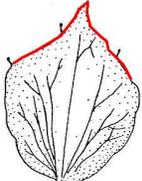
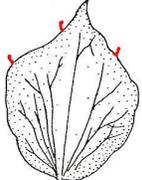
**Tabela 3.** Descrição dos caracteres morfológicos e seus estados, codificados a partir das estruturas vegetativas e reprodutivas das espécies de *Cambessedesia* DC. (grupo-interno) e das espécies *Huberia piranii*, *Microlicia viminalis*, *Trembleya parvifolia* e *Miconia ligustroides* (grupo-externo) (continuação).

CARÁTER	ESTADOS	REPRESENTAÇÃO DOS CARACTERES *
<b>10. Pecíolo das folhas</b>	(0) ausente; (1) presente.	
<b>11. Venação foliar</b>	(0) 1-nérvea; (1) 3-nérvea; (2) 5-nérvea; (3) 7-nérvea.	
<b>12. Brácteas</b>	(0) apenas bractéolas presentes; (1) brácteas e bractéolas presentes; (2) ausência de qualquer tipo de bráctea.	
<b>13. Forma da bractéola</b>	(0) lanceolada/ovalada; (1) cordiforme ou cordada; (2) obovada.	
<b>14. Consistência da bractéola</b>	(0) cartácea; (1) membranácea.	Informação retirada de literatura (MARTINS, 1984)
<b>15. Pecíolo da bractéola</b>	(0) sésil ou subsésil; (1) peciolada.	
<b>16. Indumento das bractéolas</b>	(0) glabra; (1) pilosa em pelo menos uma das faces.	
<b>17. Venação da bractéola</b>	(0) 1-nérvea; (1) 3-nérvea; (2) 5-nérvea; (3) 7-nérvea; (4) nervação irregular.	
<b>18. Forma do hipanto</b>	(0) campanulado/urceolado; (1) oblongo; (2) tubuloso;	

**Tabela 3.** Descrição dos caracteres morfológicos e seus estados, codificados a partir das estruturas vegetativas e reprodutivas das espécies de *Cambessedesia* DC. (grupo-interno) e das espécies *Huberia piranii*, *Microlicia viminalis*, *Trembleya parvifolia* e *Miconia ligustroides* (grupo-externo) (**continuação**).

CARÁTER	ESTADOS	REPRESENTAÇÃO DOS CARACTERES *
<b>19. Superfície do hipanto</b>	(0) estriado; (1) costado da base ao ápice; (2) costado à altura dos lacínios; (3) liso.	
<b>20. Indumento do hipanto</b>	(0) glabro; (1) piloso.	
<b>21. Tubo do cálice</b>	(0) ausente; (1) presente - menor que 0,3mm; (2) presente - igual ou maior que 0,3mm.	Informações de descrições das espécies e observação das exsicatas.
<b>22. Forma dos lacínios</b>	(0) triangular; (1) oval.	
<b>23. Comprimento dos lacínios</b>	(0) menores que a metade do comprimento do hipanto; (1) maiores que a metade do comprimento do hipanto.	
<b>24. Corola quanto ao número de pétalas</b>	(0) 4-mera; (1) 5-mera; (2) 6-mera; (3) 7-mera.	
<b>25. Forma das pétalas</b>	(0) oval/ovalada/ovada; (1) elíptica/lanceolada; (2) oboval; (3) espatulada.	

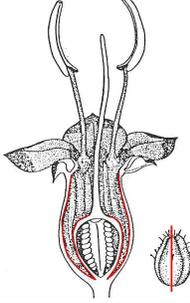
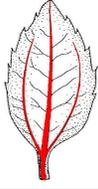
**Tabela 3.** Descrição dos caracteres morfológicos e seus estados, codificados a partir das estruturas vegetativas e reprodutivas das espécies de *Cambessedesia* DC. (grupo-interno) e das espécies *Huberia piranii*, *Microlicia viminalis*, *Trembleya parvifolia* e *Miconia ligustroides* (grupo-externo) (**continuação**).

CARÁTER	ESTADOS	REPRESENTAÇÃO DOS CARACTERES *
26. Ápice das pétalas	(0) agudo; (1) acuminado ou apiculado; (2) obtuso; (3) arredondado.	
27. Cor das pétalas	(0) totalmente vermelhas; (1) totalmente amarelas; (2) vermelhas ou alaranjadas, sendo amarelas na base; (3) roxas, lilases ou rosadas; (4) brancas.	Informações de etiquetas de exsicatas, descrições de espécies e observação em campo
28. Indumento das pétalas	(0) margem glabra; (1) margem ciliada	
29. Pêlo glandular apical das pétalas	(0) ausente; (1) presente.	
30. Número de estames	(0) 10; (1) 12; (2) 8; (3) 5.	
31. Forma do conectivo	(0) giboso na base; (1) espessado na base; (2) espessado no dorso; (3) não-espessado.	
32. Textura da teca	(0) lisa; (1) corrugada.	

**Tabela 3.** Descrição dos caracteres morfológicos e seus estados, codificados a partir das estruturas vegetativas e reprodutivas das espécies de *Cambessedesia* DC. (grupo-interno) e das espécies *Huberia piranii*, *Microlicia viminalis*, *Trembleya parvifolia* e *Miconia ligustroides* (grupo-externo) (**continuação**).

CARÁTER	ESTADOS	REPRESENTAÇÃO DOS CARACTERES *
<b>33. Teca e conectivo - tamanho relativo</b>	(0) teca prolongada abaixo do conectivo; (1) conectivo prolongado abaixo da teca, sem cálcar; (2) conectivo prolongado abaixo da teca, com cálcar; (3) teca e conectivo não-prolongados	
<b>34. Forma das anteras</b>	(0) lineares; (1) oblongas; (2) subuladas; (3) triangulares	
<b>35. Deiscência da teca</b>	(0) poro apical; (1) poro ventral.	
<b>36. Indumento dos filetes</b>	(0) glabro; (1) tricomas na base; (2) tricomas no ápice; (3) tricomas por todo o filete.	
<b>37. Forma do ovário</b>	(0) ovóide; (1) elíptico ou oblongo; (2) piriforme; (3) globoso.	
<b>38. Número de lóculos no ovário</b>	(0) 2 a 4 lóculos no ovário; (1) 5 ou 6 lóculos no ovário.	

**Tabela 3.** Descrição dos caracteres morfológicos e seus estados, codificados a partir das estruturas vegetativas e reprodutivas das espécies de *Cambessedesia* DC. (grupo-interno) e das espécies *Huberia piranii*, *Microlicia viminalis*, *Trembleya parvifolia* e *Miconia ligustroides* (grupo-externo) (**continuação**).

CARACTERES	ESTADOS	REPRESENTAÇÃO DOS CARACTERES *
<b>39. Indumento do ovário</b>	(0) glabro; (1) piloso apenas na base; (2) piloso apenas no ápice; (3) todo piloso.	
<b>40. Aderência do ovário ao hipanto</b>	(0) maior parte da superfície do ovário livre; (1) maior parte da superfície do ovário aderida.	
<b>41. Forma do estilete</b>	(0) reto; (1) encurvado apenas na base; (2) encurvado apenas no ápice; (3) encurvado de forma sigmóide.	
<b>42. Indumento do estilete.</b>	(0) glabro; (1) piloso na base ou metade inferior.	
<b>43. Forma do fruto (cápsula)</b>	(0) ovóide; (1) globosa; (2) oblonga.	
<b>44. Padrão de nervação</b>	(0) acródoma perfeita; (1) acródoma imperfeita; (2) campilódroma; (3) paralelódroma; (4) hipódroma; (5) campilódroma e broquidródroma.	

\* Figuras modificadas de MARTINS (1984).



## 4.2 DADOS MOLECULARES

O protocolo CTAB 2x resultou em produtos de extração muito degradados, enquanto a extração pelo protocolo do DNAzol mostrou-se eficiente devido ao resultado de extração de DNA mais íntegro.

A vantagem da obtenção de DNA total através do Plant DNAzol é por ele ser especificamente formulado para o isolamento de DNA genômico de plantas. A extração é relativamente rápida (aproximadamente 35 minutos) e a solução de extração não é tóxica para as células, uma vez que não utiliza fenóis. Já o protocolo de Doyle requer muitas etapas, muito tempo, e utiliza fenol e clorofórmio (VAN DEN BERG, 2007). Esse protocolo, apesar de amplamente citado na literatura, não foi eficiente para extração de DNA das espécies de *Cambessedesia*, constatado por eletroforese e espectrofotometria (dados não demonstrados).

A ineficiência do protocolo de extração pode ser devido à qualidade do DNA das plantas conservadas em exsicatas. Nenhum material vegetal retirado das exsicatas (quando permitido pelos herbários) teve seu DNA extraído e amplificado com pleno sucesso.

Comparando-se com o material proveniente do Laboratório de Sistemática Molecular de Plantas da Universidade Estadual da Feira de Santana (UEFS), dos quais se amplificaram todas as amostras, concluiu-se que a eficiência do protocolo deve-se à integridade do material genético por conservação dos tecidos vegetais em sílica gel e extração.

A princípio, foi levantada a hipótese de o material vegetal extraído estar deteriorado devido ao longo intervalo de tempo entre a coleta até a extração do DNA. Porém, quando comparado ao material genético doado pela UEFS e segundo informações sobre as coletas do material, esse intervalo de tempo variou de 1 a 15 dias e apresentou resultado eficiente de extração (Andrea Karla A. Santos, UEFS, *com. pess.*). Chegou-se à conclusão de que a falha na extração reside no tipo de conservação a que é submetido o tecido vegetal (exsicatas x sílica gel). Andrea K.A.Santos (*com. pess.*) também vivenciou dificuldades na extração de DNA de exsicatas, obtendo resultado positivo apenas naquelas que tinham até 4 anos de coleta.

As ampliações satisfatórias para posterior seqüenciamento resultaram a partir do produto de extração a 10 ng/μL. Os resultados obtidos nos testes de temperatura para a região do ITS2 a 48°C apresentou amplificação da região de interesse, sendo mantida essa temperatura para as ampliações posteriores.

Todos os resultados dos seqüenciamentos foram submetidos a comparações, através do *BLAST* (Tabela 5), com as seqüências depositadas no *GenBank*, a fim de se certificar que foram amplificadas e seqüenciadas as regiões ITS das espécies em estudo.

**Tabela 5.** Resultados do *BLAST* quanto à identidade das seqüências da região ITS do DNAr nuclear de algumas espécies de *Cambessedesia* em relação às seqüências depositadas no *GenBank*. Em negrito estão as seqüências não utilizadas no trabalho por se tratarem de ITS de fungos.

Espécie consultada	(pb)	Região amplificada	Identidade (%)	Espécies depositadas no <i>GenBank</i>	Código de acesso no <i>Genbank</i>
<i>C. cambessedesioides</i> (AKAS 428)	748	ITS 1, 5,8S e ITS2	93%	<b><i>Ascomycete sp.</i></b> <b>(Fungi)</b>	<b>AJ972866.1</b>
<i>C. gracilis</i> (AKAS 399)	119	ITS 2	93%	<b><i>Ramulari aplospora</i></b> <b>(Fungi)</b>	<b>EU040238</b>
<i>C. gracilis</i> (AKAS 399)	696	ITS 1, 5,8S e ITS2	85%	<i>Miconia longifolia</i> (Melastomataceae: tribo Miconieae)	EF418895.1
<i>C. hermogenesii</i> (AKAS 862)	715	ITS 1, 5,8S e ITS2	90%	<i>Miconia macrodon</i> (Melastomataceae: tribo Miconieae)	AY460516.1
<i>C. hilariana</i> (AKAS 312)	732	ITS 1, 5,8S e ITS2	85%	<i>Tococa capitata</i> (Melastomataceae: tribo Miconieae)	AY460549.1
<i>C. membranacea</i> subsp. <i>bahiana</i> (AKAS 407)	368	ITS 2	94%	<i>Miconia rufescens</i> (Melastomataceae: tribo Miconieae)	AY460526
<i>C. purpurata</i> (AKAS 441)	731	ITS 1, 5,8S e ITS2	88%	<i>Merianthera sipolisii</i> (Melastomataceae: tribo Merianeae)	AY460459.1
<i>C. rupestris</i> (AKAS 859b)	705	ITS 1, 5,8S e ITS2	88%	<i>Miconia macrodon</i> (Melastomataceae: tribo Miconieae)	AY460516.1
<i>C. rupestris</i> (AKAS 859a)	170	ITS 2	95%	<b><i>Cladosporium cladosporioides</i></b> <b>(Fungi)</b>	<b>EU301112</b>
<i>C. tenuis</i> (AKAS 301)	716	ITS 1, 5,8S e ITS2	89%	<i>Miconia dolichopoda</i> (Melastomataceae: tribo Miconieae)	EF418888.1

Das seqüências obtidas, 75% apresentaram identidade com regiões ITS de espécies pertencentes à mesma família de *Cambessedesia* e os outros 25% apresentaram identidade com a região ITS de fungos.

A etapa de amplificação foi problemática devido à inespecificidade dos iniciadores, que resultaram em amplificações da região ITS de fungos e na não amplificação dos espaçadores ITS1 e ITS2 separadamente, mesmo que a reação tenha sido submetida a diversos testes de temperatura e tempo de desnaturação, de anelamento e de extensão e diversas concentrações de reagentes e DNA. No segundo caso, o resultado só foi positivo quando foram utilizados os iniciadores que flanqueiam toda a região ITS, anelando no final da seqüência do gene 18S e no início da seqüência do gene 26S (iniciadores ITS5 e ITS4, respectivamente; Figura 5).

A análise do seqüenciamento da região ITS das espécies de *Cambessedesia* (Tabela 5) demonstrou que o anelamento dos iniciadores é deficiente, pois ocorre pareamento de apenas 12 nucleotídeos dos 20 que compõem o iniciador ITS3 e 13 dos 21 nucleotídeos do iniciador ITS2 (Figura 6).

\* Seqüência senso do iniciador ITS3: 5' GCATCGATGAAGAACGCAGC 3'

\* Seqüência senso da região ITS do DNAr nuclear de *Cambessedesia tenuis*

```

5'TGACTGCGGAAGATCATTGTCGAATCGAGAGACGAANGATGACCGGCGAATCGTAATCGCGTATCG
GAGAGGGCCCGGAGCGGGTATATCTCGCTCGCGCGGCTCGCGTCGCGTCGGCGGGGAGCCTTACCCGAGGC
CCGCGTCGTGCCGGCGAACGAACGAATTCAGCACGGATCGTGCCAAGGAGGTTAACGGAGAGGATCGTCGTC
CCACGGCCCCGGCTGTCTGGACGCGGGACGGGGGGCGGGCGGGCACGCGGATCTCTGCTCGAGTCTGAATG
ACTCTCGGCAACGGATATCTCGGCTCCTGCACCGATGAAGAACGTAGCGAAATGCGATACCTGGTGTGAATTG
5' GCATCGATGAAGAACGCAGC 3'
CAGAATCCCGGAACCATCAATTCTTTGAACGCAAGTTGCGCCCGAAGCCATTCGGCCGAGGGCACGCCTGCC
TGGGTGTCGTGAATCCCTTGCCCCANGGCAACCGCTCGGGCGCANAATATGGTCTCCCGCGGTGTCNGCGCG
CGCGTCNCGTCNAGCGGGTTGGCCNAAAATCNANCATGGNNGNACGGGCTCCNCGNNGTTTCGGNNGGATCN
ATCNANATTGNNTGNNCCNNNGNNTCNNNNNGNNGNNGNNTCCNNANTTTNANNTCNCNNNNNGNNTACC
CNNGNNGNNGNNGGNTACCNNNTNANTTTANNNNTNNNNNNNNNNNNNA3'

```

**Figura 6.** Demonstração da região de anelamento do iniciador ITS2 na seqüência de nucleotídeos da região ITS do DNAr nuclear da espécies de *Cambessedesia tenuis* (AKAS 301).

\* Sequência anti-senso do iniciador ITS3 5' GCTGCGTTCTTCATCGATGC 3'

\* Sequência anti-senso da região ITS do DNAr nuclear de *Cambessedesia tenuis*

```

5'GGAGCCCGCCACACGACGAGCCCGGGCGCAGCCAATCTCGATCGATCCACCGAACGCCGCGGAG
CCCGTCGCCGCCATGCTCGATTTTCGGCCAACCGCGCCTCGACGCGACGCGCGCGCCGACACCGCGGGAGACC
ATATTCTAGCGCCCGAGCGGTTGCCCTGGGGCAAGGGGATTACGACACCCAGGCAGGCGTGCCCTCGGCCGA
ATGGCTTCGGGCGCAACTTGCGTTCAAAGAATTGATGGTTCGCGGGATTCTGCAATTCACACCAGGTATCGCAT
TTCGCTACGTTCTTCATCGACGACGAGAGCCGAGATATCCGTTGCCGAGAGTCATTTCAGACTCGAGCAGAGATC
5'GCTGCGTTCTTCATCGATGC3'
GCGCGTGCCCGCCCGCCCCCGTCCCGCGTCCANGACAGCCGGGGCCGTGGGACGACGATCCTCTCCGTTACC
CTCCTTGGCACGATCCGTGCTGAATTCGTTTCGTTTCGCCGGCACGACGCGGGCCNCGGGTAAANGCCCCCGCC
GACGCNACNCGAGCCGNNNGAGCGAAATATACCCGCNTCGCGGGNCCNCCNCCNATNCNCNAATNACAANT
CCCCNGGNCATCCTTNNGGNCCNTCNAATNCNACAANGNNCCNTTCCNCAGGGTNCNCCTNNNGNAAACNTT
GTTANNNNNTTTTNNNTTNCAAA3'

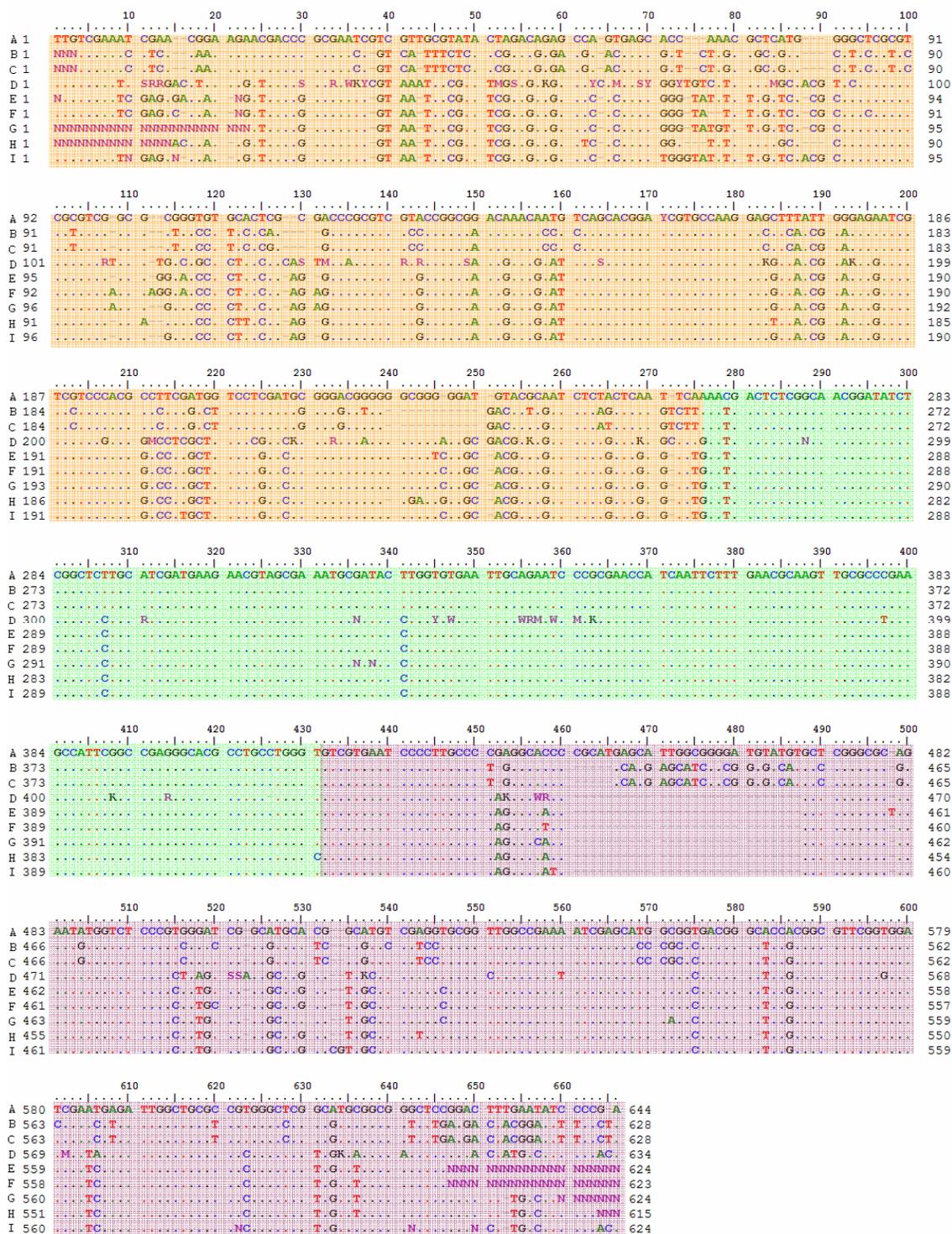
```

**Figura 6.** Demonstração da região de anelamento do iniciador ITS2 na seqüência de nucleotídeos da região ITS do DNAr nuclear da espécie de *Cambessedesia tenuis* (continuação).

Por isso, foi escolhida a amplificação da região ITS em detrimento da amplificação dos espaçadores isolados. Porém, a região ITS, com mais de 700 pares de base, não foi amplificada do material genético proveniente de exsiccatas. Provavelmente a degradação do DNA em consequência da idade (mais de 4 anos) das exsiccatas e dos possíveis métodos de conservação (utilização de microondas ou demora na desidratação das plantas) é o motivo da ineficiência da amplificação da região ITS. Essa alta porcentagem de amplificações inespecíficas (25%) e o anelamento imperfeito demonstram a necessidade de se desenvolver iniciadores próprios para *Cambessedesia* (em andamento).

O seqüenciamento da região ITS de organismos como fungos é um resultado relativamente comum, conforme observado por Miranda *et al.* (2007, no prelo), devido à presença de contaminantes, possivelmente extraídos juntamente com o DNA de interesse.

A presença de *Cladosporium cladosporioides* nos tecidos vegetativos de *Cambessedesia rupestris* pode ser explicada pelo fato deste fungo ser endofítico e entomopatogênico de ocorrência natural, além de agente antagonico às espécies de fungos patogênicos. Essa espécie é amplamente distribuída nas plantações de café da região da Chapada Diamantina (BA) (OLIVEIRA *et al.*, 2004). Testes fisiológicos com Melastomataceae mostram que não há atividade antifúngica contra *C. cladosporioides*, o que reforça a idéia da associação entre os organismos (AGRIPINO *et al.*, 2004).



**Figura 7.** Sequências da região ITS do DNAr das espécies de *Cambessedesia* e seu grupo-externo, alinhadas e editadas. A) *Miconia* sp.; B) *Trembleya* sp.; C) *Microlicia* sp.; D) *Cambessedesia hilariana*; E) *Cambessedesia tenuis*; F) *Cambessedesia purpurata*; G) *Cambessedesia rupestris*; H) *Cambessedesia hermogenesii*; I) *Cambessedesia gracilis*. Blocos laranjas: ITS1, blocos verdes: gene 5,8S e blocos lilases: ITS2.

Considerando a perda de parte das seqüências durante a amplificação, o alinhamento demonstrou que a região ITS1 apresenta aproximadamente 280 pares de base. O gene 5,8S apresenta 155 pares de base e o ITS2, 240.

No ITS 1 podem ser observadas diversas transições e transversões próprias do gênero como nas posições 23, 25, 30, 41, 48, 51, 56, 58, 63, 79, 121, 122, entre outras. Nas posições 88 a 90 são constatadas de duas (CG) a três (ACG) inserções nas seqüências das espécies de *Cambessedesia*. O mesmo ocorre entre as posições 129 e 131, onde há inserção de AG ou AGA.

No gene 5,8S pode-se verificar que, apesar de ser uma região conservada, existem 4 transições, sendo elas A-G na posição 262, C-T na 279 e T-C na 307 e na 341.

No ITS2 parece haver uma grande deleção entre as posições 461 e 487 em todas as espécies de *Cambessedesia* analisadas. Em menor freqüência, existem transições e transversões também observadas apenas em *Cambessedesia*. Nas posições 533 e 534, há uma inserção CG exclusiva de *Cambessedesia gracilis*.

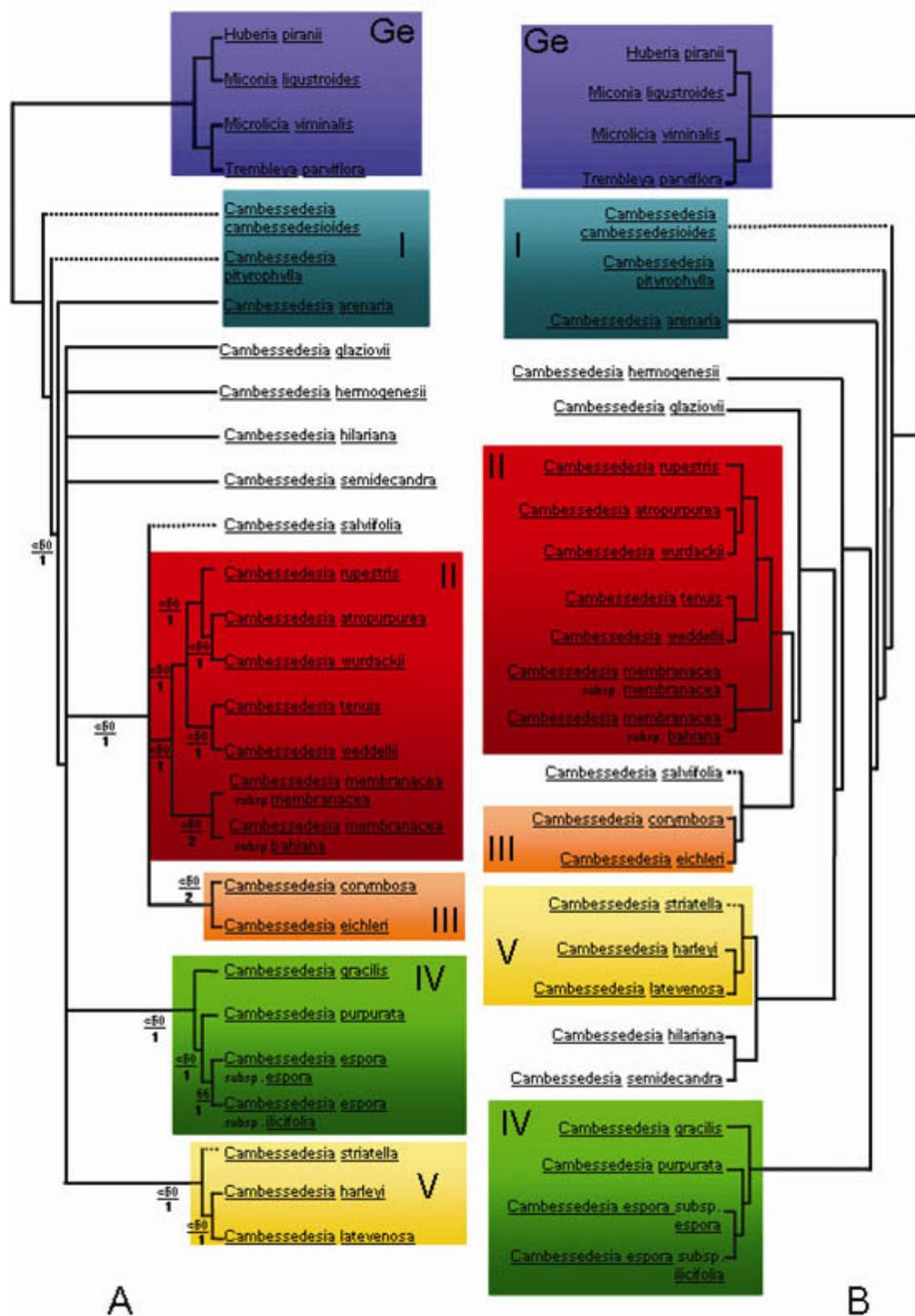
### 4.3 ANÁLISES FILOGENÉTICAS

#### 4.3.1 Filogenia Morfológica

A busca heurística resultou em 9 árvores mais parcimoniosas (AMP) com 216 passos, índice de consistência (IC) = 0,4009, índice de homoplasia (IH) = 0,5991 (excluindo caracteres não-informativos) e índice de retenção (IR) = 0,5020.

A repesagem sucessiva de caracteres (FARRIS, 1989) resultou em apenas uma árvore mais parcimoniosa (Figura 8B), com 5 caracteres com peso igual a 1, 30 caracteres com pesos diferentes de 1, 3 caracteres não foram informativos e 41 foram informativos. A árvore de repesagem (Figura 4) apresentou 45,102 passos (IC = 0,5813 e IR = 0,6892).

O consenso estrito das 9 AMPs (Figura 6A) resultou em 18 táxons distribuídos em 5 clados, congruentes com a árvore de repesagem (Figura 8B). De acordo com a árvore de consenso e a árvore de repesagem, as seções *Cambessedesia* e *Pyramia* são parafiléticas (Figura 4), pois as espécies da seção *Pyramia* ficaram agrupadas com as espécies da seção *Cambessedesia*.



**Figura 8.** Comparação entre as árvores de consenso estrito (A) e de repesagem sucessiva de caracteres (B) (FARRIS, 1989). Os grupos de *Cambessedesia* congruentes entre as árvores estão marcados com as caixas retangulares e números romanos. Valores de *bootstrap* (FELSENSTEIN, 1985) estão em negrito, próximos aos ramos, e os índices de decaimento (ou índice de Bremer; BREMER, 1988), estão em itálico, abaixo do *bootstrap*. As seções do gênero *Cambessedesia* são parafiléticas e as espécies da seção *Pyramia* estão marcadas através dos ramos pontilhados. GE=grupo-externo.

A espécie mais basal é *Cambessedesia cambessedesioides* (Figura 8), cujo ramo é sustentado por folhas pseudofasciculadas (caráter 4, tabelas 3 e 4), hipanto glabro (caráter 20), lacínios do cálice curtos (caráter 23), pétalas elípticas (caráter 25), filetes pilosos no ápice (caráter 36) e venação foliar hipódroma (caráter 44).

*Cambessedesia cambessedesioides* foi considerada por Martins (1984) como componente da seção *Pyramia*, mesmo afirmando que as relações entre essa espécie e as demais dessa seção ser pouco claras, não parecendo próximas (filogeneticamente). Segundo a autora, concordava-se em parte com a sugestão de Wurdack (1981) de que *C. cambessedesioides* representaria o final evolutivo da seção *Pyramia* em direção à *Cambessedesia*. Essa informação é corroborada pelo presente estudo devido o posicionamento mais basal dessa espécie no cladograma.

A segunda espécie mais basal é *Cambessedesia pityrophylla* (Figura 8B), suportada por bractéolas pilosas (caráter 16), flores totalmente amarelas (caráter 27), margem das pétalas ciliadas (caráter 28), com pêlo apical glandular (caráter 29).

A terceira espécie mais basal é *Cambessedesia arenaria* (Figura 8), e seus caracteres autapomórficos são hipanto glabro (caráter 20), conectivo giboso na base (caráter 31), ovário completamente piloso (caráter 39) e fruto com forma elíptica a oval (caráter 43). Conforme sugerido anteriormente por Martins (1984), *Cambessedesia arenaria* seria filogeneticamente próxima de *C. corymbosa*, sendo diferenciadas apenas pelo hipanto glabro, pelas folhas pequenas e trinérveas e altura menor de *C. arenaria*; foi sugerida também a proximidade filogenética a *C. striatella*, e os caracteres que os separariam seriam indumento estrelado e ovário pentalocular de *C. striatella*. Os resultados mostram que *C. arenaria* não possui relação próxima a essas espécies e a semelhança morfológica entre elas pode ser devido à retenção do estado plesiomórfico dos caracteres.

A espécie *Cambessedesia hermogenesii*, de acordo com os resultados da árvore de repesagem (Figura 8B), apresenta ancestralidade próxima das espécies mais derivadas, pertencentes aos agrupamentos II, III, IV e V, e das espécies *C. glaziovii*, *C. salviifolia*, *C. hilariana* e *C. semidecandra*.

A espécie *Cambessedesia glaziovii* é grupo-irmão dos agrupamentos II e III (Fig. 7B), cujos caracteres autapomórficos são base foliar cordiforme (caráter 8), margem da pétala ciliada (caráter 28), filetes glabros (caráter 36) e fruto com forma elíptica a ovada (caráter 43). A proximidade entre *Cambessedesia glaziovii* e *C. purpurata* foi sugerida por Martins (1984) devido à forma das folhas, mas não foi corroborada por este estudo, uma vez que *C. glaziovii*

está mais próxima das espécies do grupo II e III (Figura. 7) do que do grupo IV, ao qual pertence *C.purpurata*.

O grupo II (Fig. 7B), formado por *Cambessedesia atropurpurea*, *C. wurdackii*, *C. rupestris*, *C. tenuis*, *C. weddellii* e as duas subespécies de *C. membranacea*, é sustentado por folhas ovada (caráter 6), com ápice obtuso (caráter 7), anteras oblongas (caráter 34) e estilete ereto (caráter 41), apesar de *C. atropurpurea* e *C. wurdackii* apresentarem reversões para o estado plesiomórfico do estilete (encurvado no ápice). A relação entre *Cambessedesia rupestris*, *C. wurdackii* e *C. atropurpurea* é sustentada pela posição procumbente ou prostrada do caule (caráter 2) - apesar de *C. wurdackii* apresentar uma reversão para a forma ereta; conectivos prolongados abaixo da teca, com apêndice (caráter 33); ovário totalmente piloso (caráter 30), mas não *C. atropurpurea*, que apresenta o estado autapomórfico glabro; frutos esféricos (caráter 43); venação foliar campilódroma (caráter 44), exceto *C. atropurpurea*, que apresenta venação campilódroma e broquidródroma.

*Cambessedesia atropurpurea* foi considerada por Martins (1984) como próxima a *Cambessedesia wurdackii* devido aos apêndices do conectivo. Os resultados mostram *C. wurdackii* e *C.atropurpurea* como grupos-irmãos, sustentados por bractéolas cordiformes (caráter 13), porém *C.wurdackii* apresenta como autapomorfia as bractéolas obovadas; ápice das pétalas agudo (caráter 26), *C. wurdackii* apresentando o estado autapomórfico obtuso; conectivos gibosos na base (caráter 31) e estilete encurvado no ápice (caráter 41). Martins (1984) já havia observado que *C. atropurpurea* e *C. wurdackii* poderiam ter alguma afinidade, porém sustentou essa hipótese na presença de cálcio na base do conectivo. Entretanto esse caráter não é sinapomórfico ao referido clado.

O grupo *Cambessedesia tenuis* - *C. weddellii* (Figura 8B) é sustentado por lacínios ovados (caráter 22) e conectivos espessados na base (caráter 31).

O grupo-irmão *C. membranacea* subsp. *membranacea* - *C. membranacea* subsp. *bahiana* (Fig. 6B) é sustentado por caracteres sinapomórficos como bractéolas (caráter 16), pétalas (caráter 28) e estilete totalmente glabros (caráter 42).

O grupo III (Figura 8B), composto por *C. corymbosa* e *C. eichleri*, mais a espécie *C. salviifolia* formam um grupo-irmão do grupo II, e é sustentado por folhas com base arredondada (caráter 8). As espécies *C. corymbosa* e *C. eichleri* são agrupadas por pétalas glabras (caráter 28), conectivos espessados na base (caráter 31); maior parte da superfície do ovário aderida ao hipanto (caráter 40) e estilete glabro (caráter 42). O ramo de *C. salviifolia* é sustentado por venação irregular das bractéolas (caráter 17), pétalas espatuladas (caráter 25),

com ápice arredondado (caráter 26), teca corrugada (caráter 32), filetes totalmente pilosos (caráter 36), e ovário com 5 a 6 lóculos (caráter 38).

*Cambessedesia corymbosa* foi anteriormente citada como muito próxima *C. salviifolia* por Martins (1984), por todos os caracteres compartilhados, exceto pelo número de lóculos do ovário. Essa proximidade foi corroborada pelos resultados, e o que suporta essa relação é a base arredondada da folha (caráter 8).

O grupo V (Figura 8B) é formado por *Cambessedesia harleyi*, *C. latevenosa* e *C. striatella*, sustentado por folha com ápice arredondado (caráter 7); lacínios longos (caráter 23), exceto *C. harleyi*, que apresenta o estado “curto”; conectivos espessados na base (caráter 31) e frutos oblongos (caráter 43). As sinapomorfias de *C. striatella* são conectivos prolongados abaixo da teca, com apêndice (caráter 33) e 5 a 6 lóculos no ovário (caráter 38).

O grupo *Cambessedesia harleyi* - *C. latevenosa* (Fig. 6B) é sustentado por folhas orbiculares (caráter 6) com base cordiforme (caráter 8) e folhas e folhas 5-venadas (caráter 11).

O clado composto por *Cambessedesia hilariana* e *C. semidecandra* (Figura 8B) é sustentado por bractéolas 1-venadas (caráter 17) e pétalas com ápice agudo (caráter 26), sinapomórfico ao grupo. As duas espécies formam um grupo-irmão do grupo V.

O grupo IV (Figura 8B) é composto por *Cambessedesia gracilis*, *C. purpurata* e as duas subespécies de *C. espora*. Esse grupo de táxons é sustentado por bractéolas cartáceas (caráter 14); tubo do cálice menor que 0,3mm (caráter 21); flores totalmente amarelas (caráter 27); venação foliar acródroma imperfeita (caráter 44), exceto por uma homoplasia (paralelismo) de *C. purpurata*, que apresenta venação campilódroma e uma autapomorfia de *C. gracilis*, que apresenta venação paralelódroma.

Até 1984, *Cambessedesia hilariana* e *C. semidecandra* foram consideradas *C. hilariana* e a proximidade entre elas foi discutida por Martins (1984), devido às características morfológicas que se sobrepõem como hipanto oblongo, corola vermelha a alaranjada com base amarela e disposição pseudoverticilada das folhas. Entretanto, os caracteres que sustentaram o clado foram ramos procumbentes (caráter 2), folhas pseudofasciculadas (caráter 4), anteras oblongas (caráter 34), maior parte da superfície do ovário aderida ao hipanto (caráter 40) e venação foliar acródroma imperfeita (caráter 44), apesar de *C. hilariana* também apresentar venação hipódroma.

O que suporta as espécies como táxons diferentes são a forma sigmóide do estilete de *Cambessedesia hilariana* (caráter 41) e folhas membranáceas a cartilaginosas (caráter 5),

hipanto costado por todo seu comprimento (caráter 19), lacínios ovais (caráter 22), 5 estames (caráter 30) e ovário globoso (caráter 37) de *C. semidecandra*.

A relação entre o clado composto pelo grupo IV e o clado composto pelos grupos II, III e V (Fig. 6B) é sustentada por caracteres sinapomórficos como bractéolas 3-venadas (caráter 17), hipanto oblongo (caráter 18), lacínios curtos (caráter 23) e filetes pilosos na base (caráter 36).

A constituição do grupo-irmão *C. membranacea* subsp. *membranacea* - *C. membranacea* subsp. *bahiana* foi corroborada devido a caracteres sinapomórficos como indumento das bractéolas (caráter 16), margens das pétalas glabras (caráter 28) e estilete totalmente glabros (caráter 42).

Muitos dos caracteres mostraram-se homoplásticos, pois surgiram em diferentes eventos na evolução das linhagens. Porém, a combinação de diversos estados de caráter, mesmo dos homoplásticos, foram suficientes para suportar os clados nas análises filogenéticas. Além disso, apesar de homoplásticos, os índices de retenção permitem inferir que os caracteres são plesiomórficos, o que pode sustentar que as homoplasias surgem de acordo com estímulos ambientais apropriados para determinado estado. Portanto, estados iguais em linhagens diferentes podem ser convergência adaptativa.

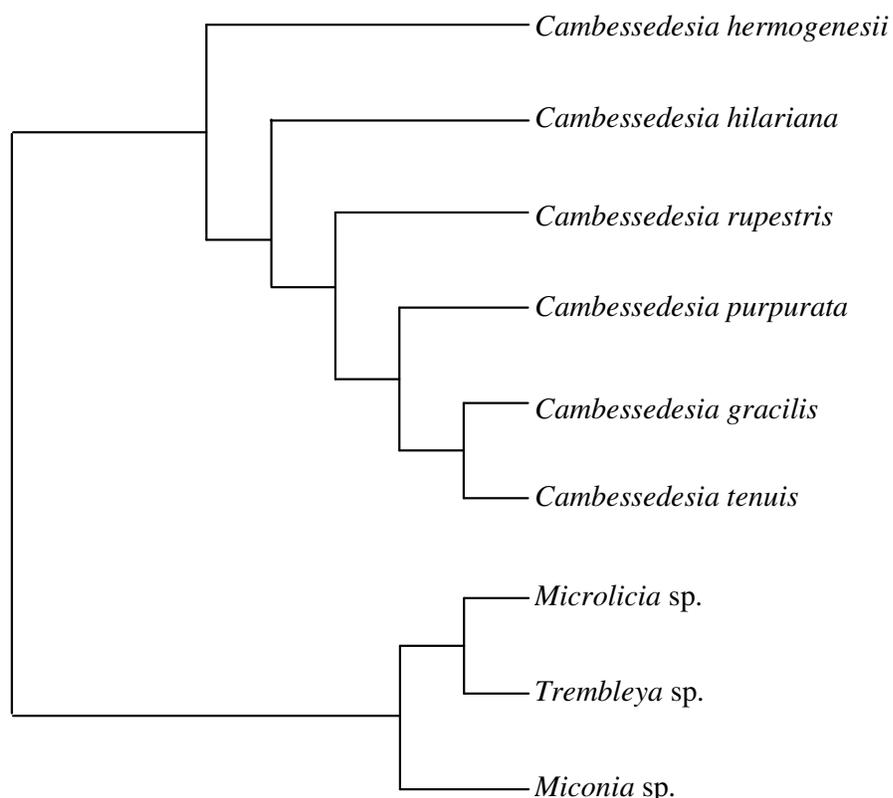
As análises realizadas revelaram combinações não observadas anteriormente. Elas também sugerem a parafilia das seções *Cambessedesia* e *Pyramia*, uma vez que todas as espécies da seção *Pyramia* estão distribuídas em diversos ramos da seção *Cambessedesia*.

### 4.3.2 Filogenia Molecular

O resultado adotado como hipótese filogenética é o cladograma com menor índice de incongruência (*ILD*), que minimiza as homoplasias entre as seqüências de nucleotídeos e matriz morfológica. O menor *ILD* obtido (0,0077) corresponde ao custo 431 de *gaps*:transições: transversões (Tabela 6).

**Tabela 6.** Índice de incongruência entre as os cladogramas (morfológico, molecular e combinado), calculada partir de seus comprimentos (custo: relação *gaps*:*tv*:*ts*; morf=matriz morfológica; *ITS*= espaçadores *ITS*; *ILD*= incongruence length difference).

CUSTO	MORF	ITS	MORF+ITS	ILD
111	72	342	594	0,3030
121	72	439	713	0,2833
131	72	500	822	0,3041
141	72	500	818	0,3007
211	72	432	594	0,1515
221	72	542	713	0,1388
231	72	642	822	0,1314
241	72	737	818	0,0110
311	72	516	594	0,0101
321	72	634	713	0,0098
331	72	740	822	0,0122
341	72	840	921	0,0098
411	72	600	678	0,0088
421	72	721	800	0,0088
<b>431</b>	<b>72</b>	<b>834</b>	<b>913</b>	<b>0,0077</b>
441	72	938	1021	0,0108



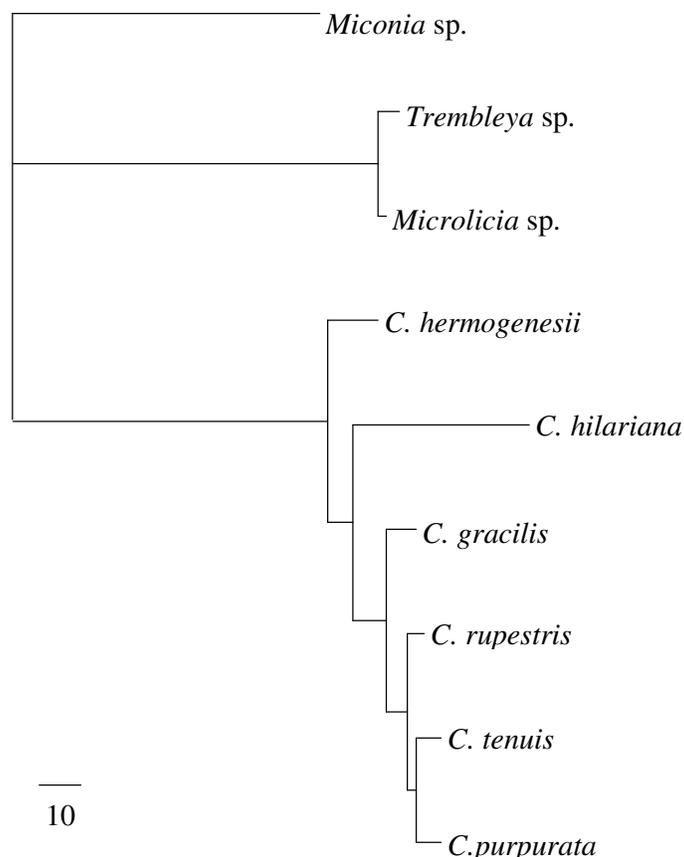
**Figura 9.** Cladograma resultante da análise combinada de dados morfológicos e moleculares que apresentou menor índice de incongruência (ILD).

É possível verificar uma relativa congruência entre o cladograma morfológico (Figura 8) e o filogenético (Figura 9) quanto à posição mais basal de *Cambessedesia hermogenesii* em relação às demais espécies. O posicionamento de *C. hilariana* na análise molecular (Figura 9) é como segunda espécie mais basal, estando de acordo com o cladograma de repesagem de caracteres morfológicos (Figura 8B), onde sua localização também é mais basal em relação às demais espécies. Ao comparar essas informações com o cladograma de consenso estrito (Figura 8A), verifica-se o posicionamento de *C. hilariana* numa politomia, o que justificaria a incongruência das análises morfológicas e moleculares.

Há outra discordância na relação entre *C. tenuis* - *C. gracilis*, *C. purpurata* e *C. rupestris*, na qual *C. gracilis* está mais relacionado com *C. purpurata* do que com *C. tenuis*, de acordo com os cladogramas morfológicos, nos quais compõem o grupo IV (Figura 8). Da mesma forma, *C. tenuis* e *C. rupestris* também são mais próximos entre si do que em relação às outras duas espécies, compondo o grupo II (Figura 8).

A incongruência entre alguns resultados entre a análise filogenética morfológica e a molecular provavelmente ocorreu devido à baixa amostragem de terminais da filogenia

molecular. Entretanto o posicionamento basal de *C. hermogenesii* foi corroborado pelos dados moleculares.



**Figura 10.** Cladograma resultante de busca heurística otimizada por máxima parcimônia com o número de transformações representadas pelos comprimentos dos ramos. A escala representa o número de transformações.

Os comprimentos dos ramos (Figura 10) indicam o número de transformações de cada um deles. As espécies do gênero *Cambessedesia*, de maneira geral, apresentam uma constância de transformações em relação às espécies do grupo-externo. A maioria das espécies de *Cambessedesia* apresenta ramos muito curtos, o que pode indicar uma evidência para semelhanças morfológicas entre elas.

A espécie *Cambessedesia hilariana* se comporta de maneira bem diferente em relação às outras espécies do gênero, apresentando comprimento de ramo muito mais longo. Essa característica coincide com a grande variação morfológica de *C. hilariana*, que taxonomicamente já foi dividida em muitas variedades. O alto polimorfismo também coincide com a ampla distribuição de *C. hilariana*, da mesma forma que os ramos curtos coincidem a distribuição restrita das espécies.

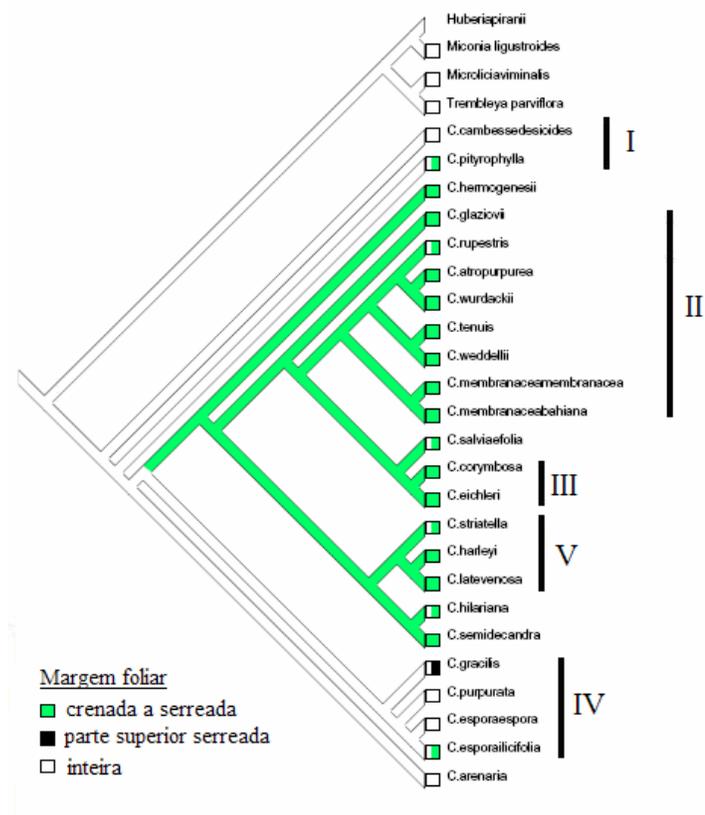
#### 4.4 EVOLUÇÃO DOS CARACTERES

Os cladogramas das figuras 11 a 21 representam a evolução dos caracteres morfológicos. Foram amostrados alguns caracteres morfológicos, parte deles com alto índice de consistência, parte com alto índice de homoplasia (Tabela 7), a fim de se discutir homoplasias como caracteres sinapomórficos para os táxons, assim como inferir hipóteses sobre a evolução dos caracteres nas linhagens de *Cambessedesia*.

**Tabela 7.** Relação dos índices de consistência (CI), índices de retenção (RI), índices de retenção rescalonados (CR), índices de homoplasia (HI) resultados das análises filogenéticas dos caracteres das espécies de de *Cambessedesia* DC. Os valores estão em ordem crescente de IH e decrescente de IC

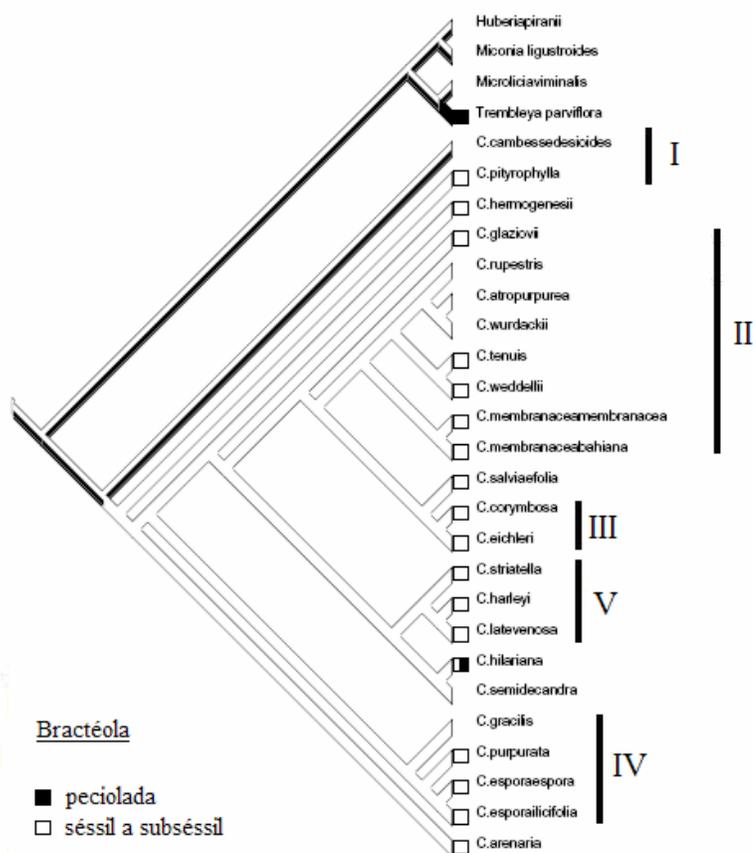
Caracteres	IC	IR	CR	IH
9 Margem foliar	1,000	1,000	1,000	0,000
15 Pecíolo da bractéola	1,000	1,000	1,000	0,000
24 Número de pétalas	1,000	0/0	0/0	0,000
30 Número de estames	1,000	0/0	0/0	0,000
35 Deiscência da teca	1,000	0/0	0/0	0,000
6 Forma foliar	0,750	0,857	0,643	0,250
27 Cor das pétalas	0,750	0,833	0,625	0,250
12 Brácteas	0,667	0,667	0,444	0,333
13 Forma da bractéola	0,667	0,000	0,000	0,333
25 Forma da pétala	0,600	0,750	0,450	0,400
39 Indumento do ovário	0,600	0,714	0,429	0,400
26 Ápice da pétala	0,600	0,667	0,400	0,400
34 Forma da antera	0,600	0,333	0,200	0,400
7 Ápice da folha	0,500	0,750	0,375	0,500
1 Hábito	0,500	0,667	0,333	0,500
36 Indumento do filete	0,500	0,571	0,286	0,500
33 Teca e conectivo	0,500	0,571	0,286	0,500
14 Consistência da bractéola	0,500	0,500	0,250	0,500
32 Textura da teca	0,500	0,000	0,000	0,500
10 Pecíolo da folha	0,500	0,000	0,000	0,500
17 Venação da bractéola	0,429	0,556	0,238	0,571
19 Superfície do hipanto	0,429	0,429	0,184	0,571
21 Tubo do cálice	0,400	0,700	0,280	0,600
4 Posicionamento das folhas	0,400	0,400	0,160	0,600
43 Forma do fruto - cápsula	0,400	0,400	0,160	0,600
3 Forma dos ramos	0,400	0,000	0,000	0,600
31 Forma do conectivo	0,375	0,545	0,205	0,625
8 Base da folha	0,333	0,714	0,238	0,667
2 Posição do caule	0,333	0,000	0,000	0,667
41 Forma do estilete	0,300	0,300	0,090	0,700
37 Forma do ovário	0,286	0,545	0,156	0,714
16 Indumento da bractéola	0,250	0,667	0,167	0,750
22 Forma do lacínio	0,250	0,250	0,063	0,750
20 Indumento do hipanto	0,250	0,000	0,000	0,750
42 Indumento do estilete	0,200	0,429	0,086	0,800
18 Forma do hipanto	0,200	0,333	0,067	0,800
29 Pêlo apical da pétala	0,200	0,333	0,067	0,800
38 Número de lóculos no ovário	0,200	0,000	0,000	0,800
40 Aderência do ovário ao hipanto	0,143	0,400	0,057	0,857
23 Comprimento dos lacínios	0,143	0,333	0,048	0,857
28 Indumento da pétala	0,125	0,222	0,028	0,875
5 Lâmina foliar	0,125	0,000	0,000	0,875
11 Venação	0,400	0,500	0,200	0,600
44 Padrão de nervação	0,417	0,222	0,093	0,583

A margem foliar inteira (caráter 9; Tabela 8, Figura 11) é o estado plesiomórfico do gênero, sendo mantido pelo grupo IV, por *C. cambessedesoides* e *C. arenaria*, os grupos mais basais do gênero.



**Figura 11.** Evolução da margem foliar (caráter 9) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.

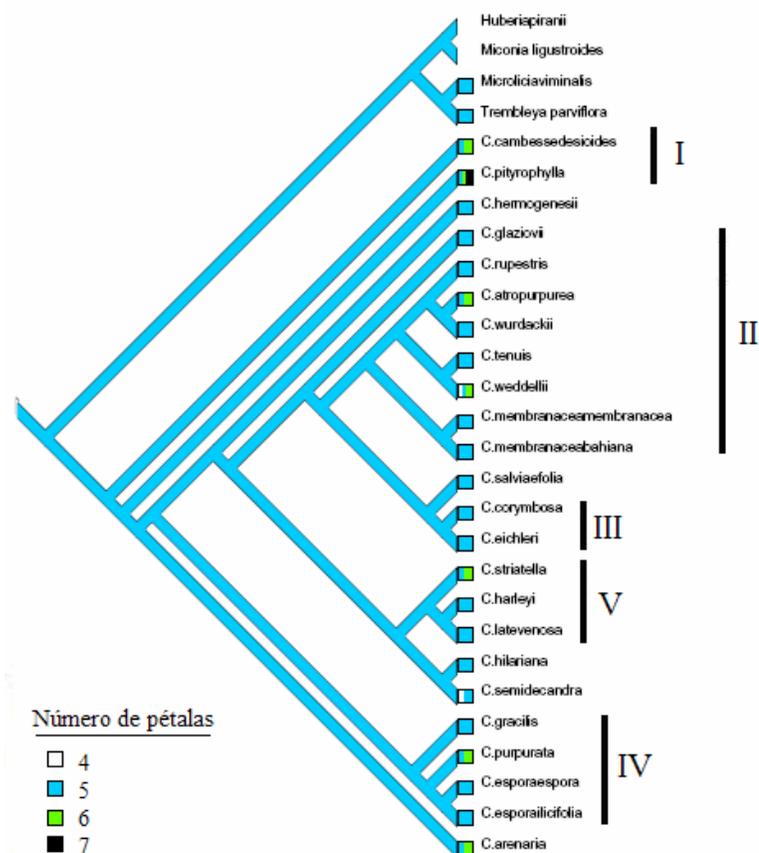
A margem crenada a serreada é uma sinapomorfia que reúne os grupos II, III e V e as espécies *C. hilariana* – *C. semidecandra*, *C. salviifolia*, *C. hermogenesii* e *C. glaziovii*. Eventualmente *C. gracilis* pode apresentar como autapomorfia a porção superior da margem serreada e a inferior, inteira. (IH=0, RI=1,0; Tabela 7).



**Figura 12.** Evolução do pecíolo da bractéola (caráter 15) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedes* DC.

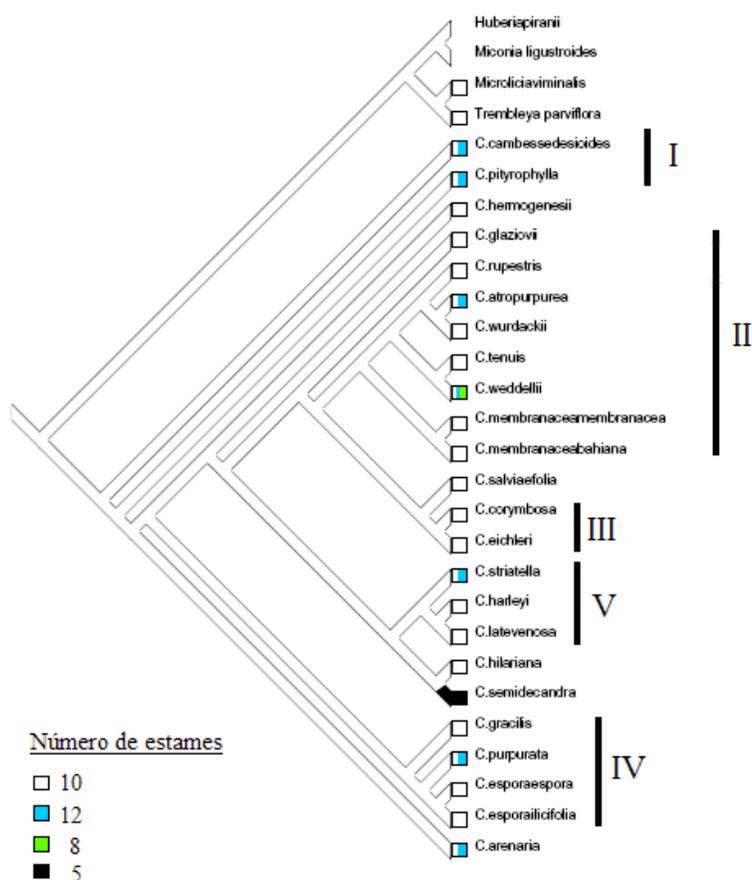
Bractéola sésil ou subsésil (caráter 15; Tabela 8, Figura 12) é um caráter plesiomórfico e mantido por todas as espécies do gênero, exceto *C. hilariana* e *C. cambessedesioides* que podem apresentar bractéolas pecioladas. Esse caráter apresentou alto índice de consistência e retenção (CI=1, RI=1; Tabela 7), sendo sinapomórfico para o gênero.

Os resultados demonstraram que bractéola peciolada ou sésil pode ser um caráter diagnóstico para o gênero, já que taxonomicamente ainda não haviam sido utilizadas para esse fim. A consistência cartácea das bractéolas talvez seja uma evidência de início de adaptação às altas temperaturas durante o dia e baixas temperaturas à noite, já que são folhas modificadas e de menor comprimento.



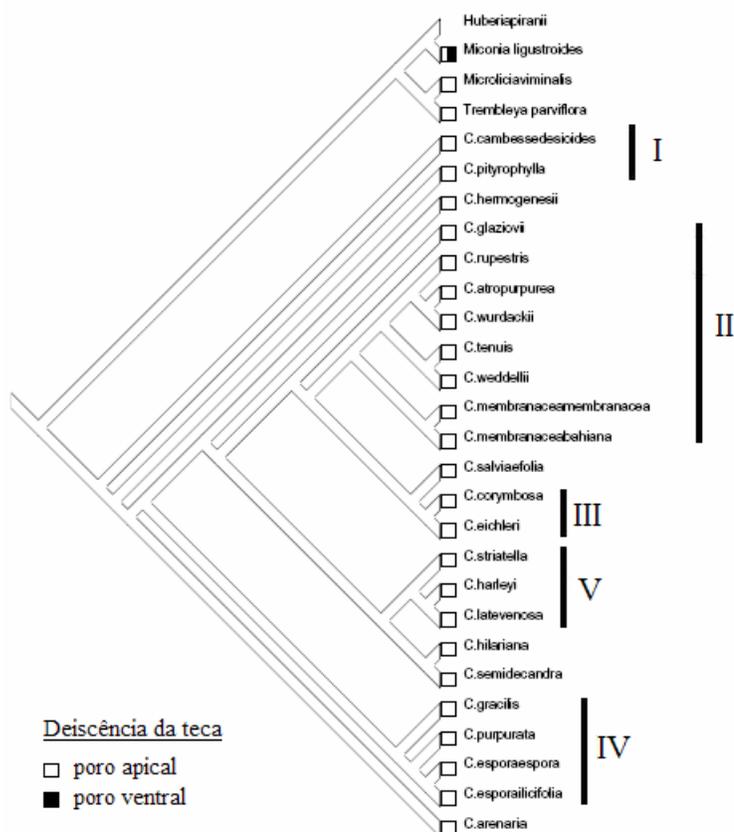
**Figura 13.** Evolução do número de pétalas (caráter 24) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedes* DC.

O número de pétalas (caráter 24; Tabela 8, Figura 13) é um caráter utilizado como diagnóstico, porém as análises indicam que, apesar de consistente para o gênero *Cambessedes* (CI=1; Tabela 7), também foi consistente para o grupo-externo. De acordo com a descrição taxonômica, esse é um caráter diagnóstico para família Melastomataceae de maneira geral, não sendo útil para diagnósticos interespecíficos, visto que *Cambessedes pityrophylla* pode apresentar 4, 5, 6 e 7 pétalas, *C. weddellii* e *C. semidecandra* podem apresentar 4 e 5 pétalas e *C. arenaria* e *C. purpurata* podem apresentar 5 e 6 pétalas.



**Figura 14.** Evolução do número de estames (caráter 30) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.

O número de estames (Caráter 30; Tabela 8, Figura 14) também é consistente para o gênero (CI=1; Tabela 7), assim como para a família, segunda a descrição taxonômica. Entretanto, a espécie *Cambessedesia semidecandra* apresenta uma redução, pela metade, do número de estames, apresentando-se isostêmone. Esse caráter é autapomórfico para a espécie, corroborando sua relevância na utilização para a diagnose taxonômica.

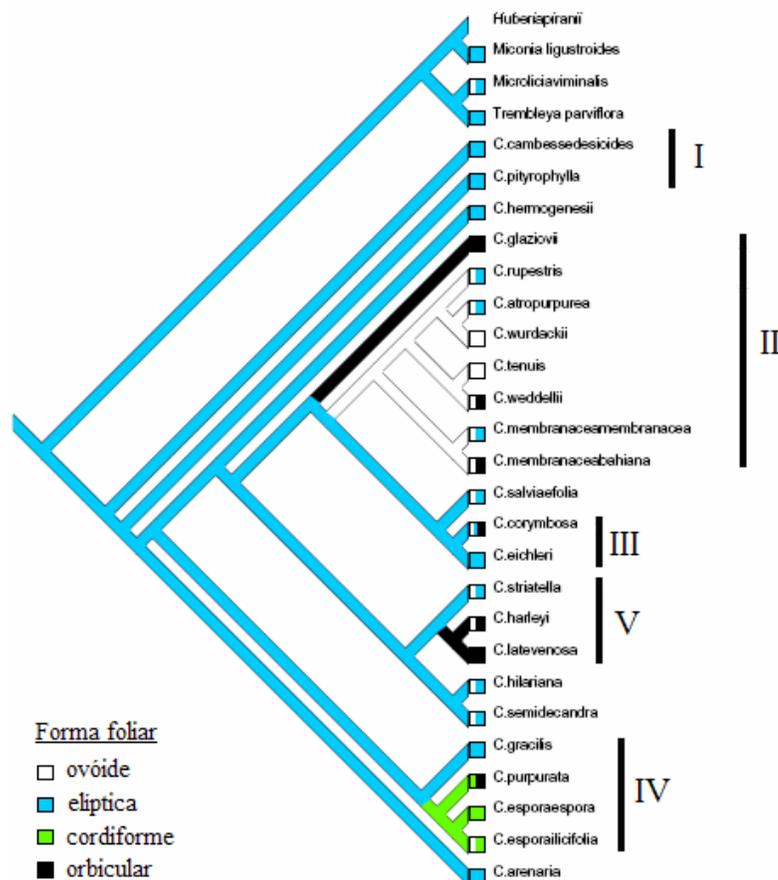


**Figura 15.** Evolução da deiscência da teca (caráter 35) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.

O tipo de deiscência da teca (caráter 35, Tabela 8, Figura 15) é outro caráter altamente consistente (CI=1, Tabela 7), porém com pouco sinal filogenético para as relações interespecíficas de *Cambessedesia*. A forma alongada das anteras e a deiscência poricida estão relacionadas com a diminuição das chances de autopolinização e provê alta especialização inseto-planta. A forma dos estames, assim como a deiscência poricida, são caracteres que evoluíram na família Melastomataceae de tal forma que as flores disponibilizam uma área de pouso para os polinizadores e evitam a autopolinização (FRACASSO, 2003).

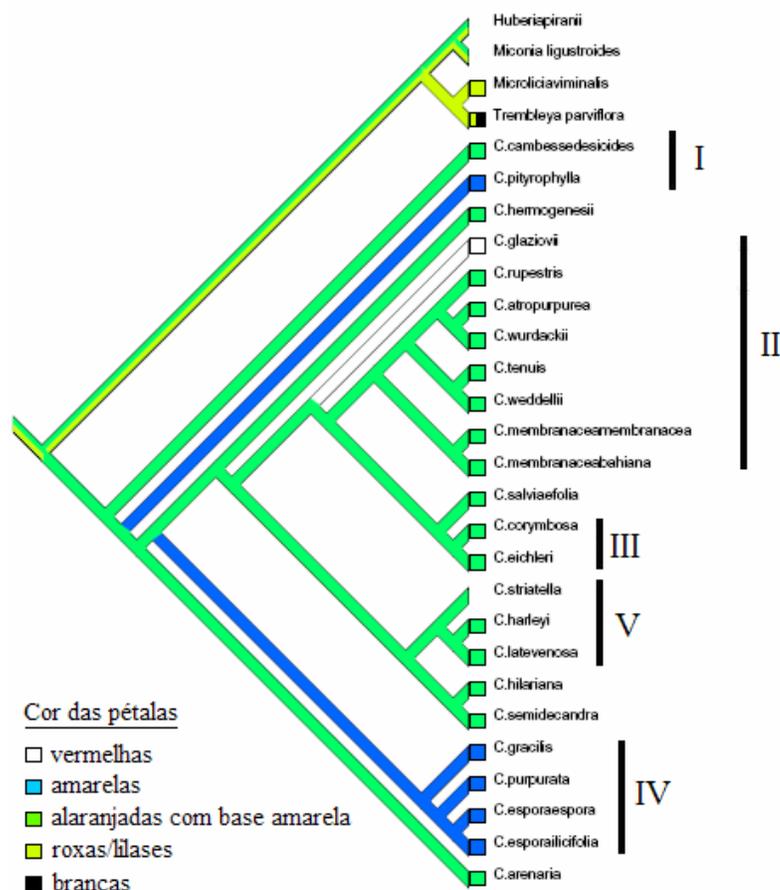
A forma das anteras e a ocorrência da antese também estão diretamente relacionadas com a polinização, especialmente por abelhas vibradoras. Algumas abelhas agarram os estames de uma só vez (*e.g.* *Centris* sp.) e vibram sobre eles, desencadeando uma chuva de pólen, que é aderido ao corpo da abelha, especialmente sobre a região torácica e/ou abdominal. As abelhas que não conseguem segurar todas as anteras de uma só vez devido ao seu menor tamanho corpóreo, fazem sobre um ou dois estames, apenas. Mesmo assim, há a

chuva de pólen, o qual fica aderido também nas laterais do corpo do polinizador (FRACASSO, 2003).



**Figura 16.** Evolução forma foliar (caráter 6) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.

A forma foliar (caráter 6, Tabela 8, Figura 16) apresenta altos índices de consistência (IC=0,75, Tabela 7) e retenção (0,857, Tabela 7), e baixo índice de homoplasia (HI=0,25, Tabela 7). O estado elíptico/lanceolado (1) é plesiomórfico, expresso por quase todas as espécies mais basais. A forma ovóide (0) é uma sinapomorfia para as espécies o grupo II. Folha cordiforme (2) é uma sinapomorfia para as espécies *C. espora* subsp. *espora*, *C. espora* subsp. *ilicifolia* e *C. purpurata*. Folha orbicular é uma autapomorfia para *C. glaziovii*, e sinapomorfia para *C. harleyi* - *C. latevenosa*. As análises corroboram a utilização desse caráter na diagnose das espécies, mesmo sendo homoplástico.



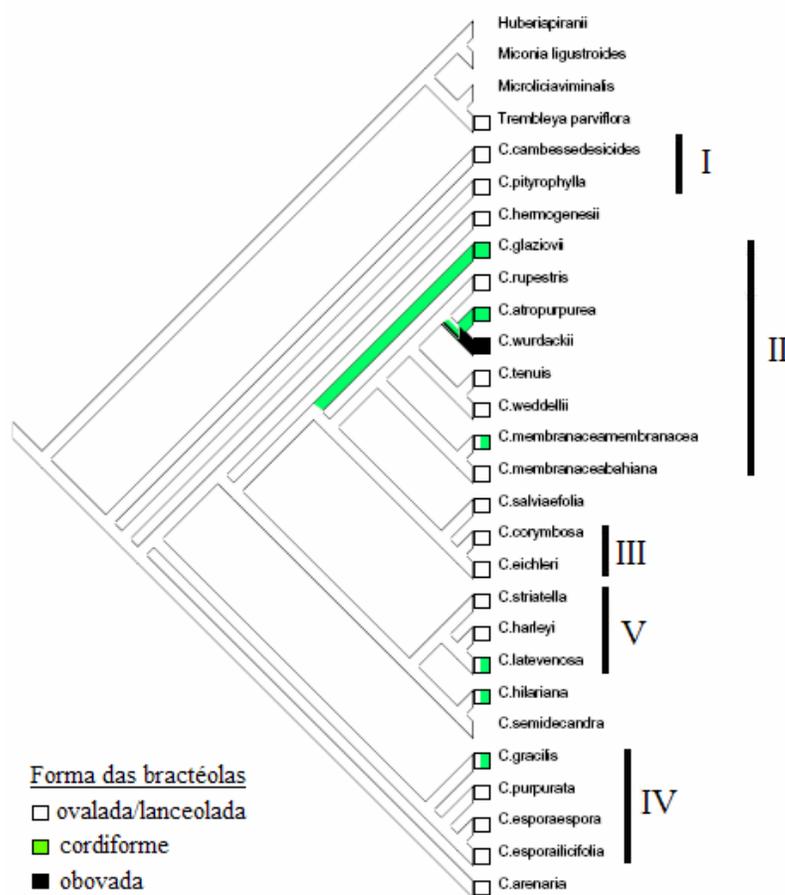
**Figura 17.** Evolução da cor das pétalas (caráter 27) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedes* DC.

A cor das pétalas (caráter 27, Tabela 8, Figura 17) apresentou altos índices de consistência e retenção (CI=0,75, RI=0,833, Tabela 7) e baixo índice de homoplasia (HI=0,25, Tabela 7). O cladograma que representa a evolução da cor das pétalas mostra um elemento do grupo-externo, *Miconia ligustroides*, expressando o padrão de cor plesiomórfico de *Cambessedes*. Essa informação resultou da codificação do caráter na matriz como estado polimórfico. Assim, é possível afirmar, com base nos resultados e na literatura (MARTINS, 1984), que o padrão de cor da corola vermelha ou alaranjada com base amarela é plesiomórfico para o gênero *Cambessedes*. A corola totalmente amarela surgiu em dois episódios evolutivos, como uma autapomorfia para *C. pityrophylla* e como uma sinapomorfia para o grupo IV e a corola totalmente vermelha é uma autapomorfia para *C. glaziovii*. Os resultados corroboram a utilização da cor das pétalas como diagnósticas tanto para o gênero, quanto para determinadas espécies.

A coloração da corola está comprovadamente relacionada com a polinização (FRACASSO, 2003). A cor amarela da base das pétalas, em alguns casos das pétalas inteiras,

do gineceu e androceu, é uma característica atribuída à atração de polinizadores, pois corresponde às faixas de comprimento de onda no espectro visual perceptível especificamente por abelhas (FRACASSO, 2003).

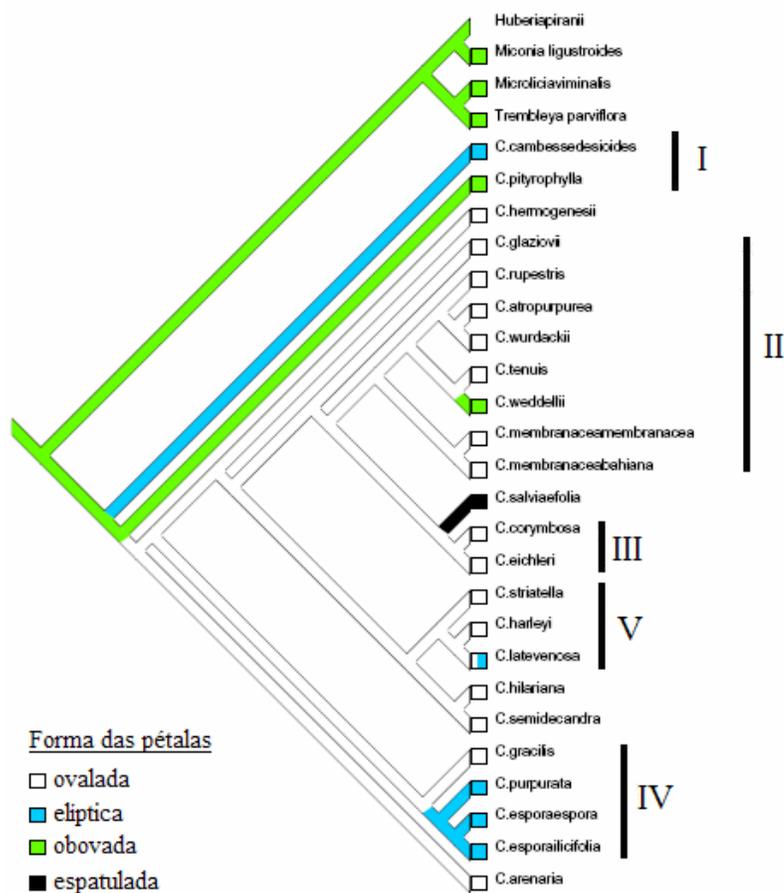
Apesar da cor da corola ser uma convergência evolutiva (WEISS, 1995), a coloração típica de *Cambessedesia* (vermelho-alaranjado da metade para o ápice e amarelo da metade para base da pétala) pode ser uma adaptação aos polinizadores que ocorrem nas áreas de endemismo das espécies.



**Figura 18.** Evolução forma das bractéolas (caráter 13) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.

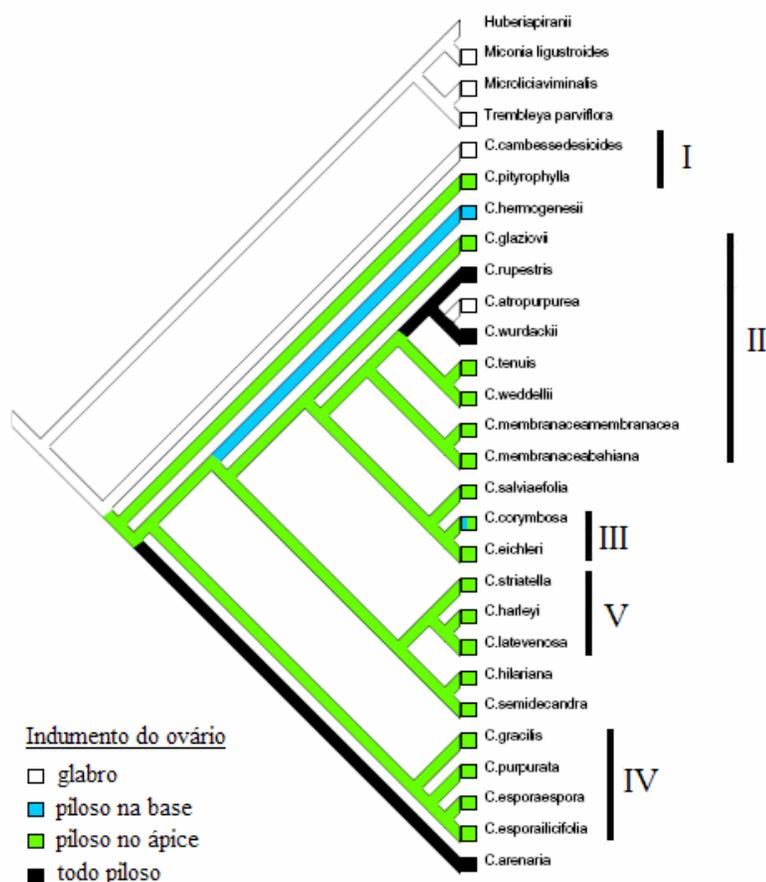
A forma das bractéolas (caráter 13, Tabela 8, Figura 18) apresenta índice de consistência maior (CI=0,667, Tabela 7) que o índice de homoplasia (HI=0,333, Tabela 7). Seu estado plesiomórfico (bractéola lanceolada) é retido pela maioria das espécies de *Cambessedesia*, mas seus estados apomórficos (bractéola cordiforme e bractéola obovada)

surgiram como paralelismo entre *C. glaziovii* e *C. atropurpurea* e como autapomorfia para *C. wurdackii*, podendo ser utilizados como caracteres diagnósticos ou ainda como passos em chaves dicotômicas de identificação.



**Figura 19.** Evolução da forma das pétalas (caráter 25) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.

A forma das pétalas (caráter 25, Tabela 8, Figura 19) apresentou  $CI=0,60$ ,  $RI=0,667$  e  $HI=0,40$  (Tabela 7). Apesar de homoplásticos, os estados desse caráter sustentaram alguns clados, formando grupos consistentes (Figura 8). A forma oval das pétalas é uma sinapomorfia para as espécies dos grupos II, III, IV e V. A forma elíptica surgiu em dois eventos evolutivos distintos, um como autapomorfia para a espécie mais basal, *C. cambessedesioides*, outro como sinapomorfia para as espécies *C. purpurata*, *C. espora* subsp. *espora* – *C. espora* subsp. *ilicifolia* (grupo IV). A forma espatulada é exclusiva para *C. salviaefolia*. Os resultados corroboram a utilização da forma das pétalas na diagnose das espécies.

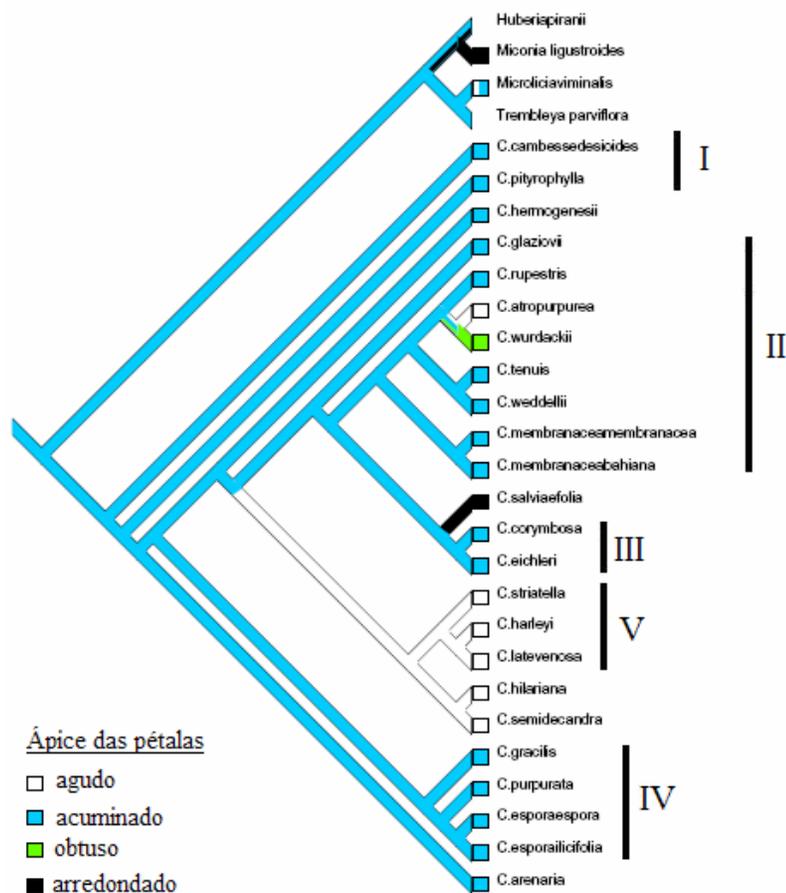


**Figura 20.** Evolução do indumento do ovário (caráter 39) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC.

O ovário glabro (caráter 39, Tabela 8, Figura 20) é o estado plesiomórfico do gênero, que foi mantido pela espécie mais basal, *C. cambessedesoides*, e surgiu como reversão em *C. atropurpurea*. O ovário piloso apenas na base é uma autapomorfia para *C. hermogenesii*, e o ovário piloso apenas na base é uma sinapomorfia para os grupos II, III, IV e V e para as espécies *C. pityrophylla*, *C. glaziovii*, *C. salviaefolia* e *C. hilariana* – *C. semidecandra*. O ovário inteiramente piloso surgiu em dois eventos evolutivos diferentes, como uma sinapomorfia para *C. rupestris* e *C. wurdackii* e uma autapomorfia para *C. arenaria*. Há evidências de que esse caráter, apesar de homoplástico, também pode ser utilizado na diagnose das espécies.

Ápice das pétalas acuminado (CI= 0,600, RI=0,667, HI=0,400, Tabela 7) é o estado plesiomórfico do caráter, apresentado pela maioria das espécies (caráter 26, Tabela 8, Figura 21). O ápice agudo é uma sinapomorfia que reúne as espécies do grupo V com o grupo-irmão

*C. hilariana* - *C. semidecandra*. Esse estado surgiu também em *C. atropurpurea*, como possível paralelismo. O ápice obtuso é uma autapomorfia de *C. wurdackii* e o ápice arredondado, de *C. salviaefolia*.



**Figura 21.** Evolução do ápice das pétalas (caráter 26) representada no cladograma gerado pela análise filogenética de máxima parcimônia das espécies de *Cambessedesia* DC

#### 4.5 BIOGEOGRAFIA

A filogenia da tribo Microlicieae (FRITSCH *et al.*, 2004) demonstrou que não comporta o gênero *Cambessedesia* como seu integrante, deslocando-o para uma politomia juntamente com gêneros pertencentes à outras tribos, como Sonerileae, Dissochateae, Bertolonieae e Blakeeae. A divergência do grupo-irmão Melastomeae – Microlicieae é posterior à divergência do clado politômico que inclui *Cambessedesia*.

O estudo de relógio molecular da tribo Melastomeae (RENNER e MEYER, 2001) possibilitou inferir que o gênero *Rhexia*, endêmico nos Estados Unidos, é muito próximo filogeneticamente da tribo Microlicieae, acomodando-se no clado mais basal da tribo Melastomeae.

Segundo a filogenia de Fritsch *et al.* (2004), que posiciona o gênero *Cambessedesia* relativamente próximo à tribo Melastomeae e, através do cladograma calibrado de Renner e Meyer (2001), que inclui gêneros do grupo-irmão Melastomeae – Microlicieae, pode-se supor uma idade mínima das linhagens ancestrais de *Cambessedesia* para propor a origem biogeográfica do gênero. Segundo Renner (*l.c.*), não se sabe quando Melastomeae divergiu do seu grupo-irmão Microlicieae, mas o evento pode ter ocorrido entre 53 m.a.a (idade do fóssil mais antigo de Melastomeae, localizado na Laurásia) e 26-23 m.a.a. (idade das primeiras sementes de Melastomeae). É possível que essa divergência tenha ocorrido quando as Melastomataceae ainda estavam bem adaptadas à vegetação subtropical da Laurásia. Quanto às sementes do Mioceno, encontradas na Eurásia, elas representam a data e o local de origem do clado (RENNER e MEYER, 2001).

Fato interessante, que corroboraria com o endemismo de *Cambessedesia* a regiões de grandes altitudes e climas frios, é que Melastomeae evoluiu em climas mais frios e foi capaz de persistir na Europa no Alto Mioceno. As baixas temperaturas representaram uma barreira mais fraca para elas do que para qualquer outro grupo de Melastomataceae, sendo que muitos de seus gêneros crescem nas altitudes dos Andes e Himalaia, sobrevivendo a noites congelantes (RENNER e MEYER, 2001).

Assim, a tribo Melastomeae pode ter alcançado a América do Sul no Mioceno médio, sendo essa a data mínima para a divergência dos ancestrais de *Cambessedesia* no Brasil.

Segundo Saadi (1995), não há evidências que permitem afirmar que a Cadeia do Espinhaço tenha evoluído geologicamente sob temperaturas muito baixas, mas há evidências que permitem inferir que evoluiu sob condições quentes e úmidas. Essas condições podem ter

favorecido a ampla distribuição das espécies em algum momento da história evolutiva. Porém, sabendo-se que a Cadeia do Espinhaço sofreu modificações geológicas durante o Quaternário, quando provavelmente as espécies de *Cambessedesia* já estavam ali instaladas, e considerando o clima atual da região, é possível que tais mudanças ambientais tenham favorecido a extinção de muitas linhagens, restando aquelas cujas adaptações morfológicas permitiram sua sobrevivência em novas condições climáticas.

Pode-se supor ainda que as adaptações de *Cambessedesia* sejam reversões aos estados de caráter plesiomórficos das linhagens provenientes da Laurásia.

Uma das hipóteses que podem ser levantadas quanto ao endemismo de *Cambessedesia* baseia-se nos solos desenvolvidos sobre quartzito, que são mais pobres em carbono e nutrientes, apresentando maior degradação e indicando fragilidade do campo rupestre. A perda de matéria orgânica dos solos sobre quartzito associada à baixa produção primária são as principais causas da sua degradação natural sob as atuais condições climáticas, caminhando para o processo de extinção dos campos rupestres (BENITES *et al.*, 2003). Esses fatores permitem inferir que o endemismo de *Cambessedesia* foi originado por vicariância, ou seja, a diminuição das populações a ponto de tornarem-se espécies endêmicas deve ser devido à extinção gradual e natural do campo rupestre.

Outra hipótese é a possibilidade de que a espécies do gênero *Cambessedesia* sejam neo-endêmicas, ou seja, a partir das mudanças climáticas do Pleistoceno, é que sofreram irradiação seguida de contração das populações, restringindo-as aos campos rupestres da Cadeia do Espinhaço, restando apenas poucas espécies mais amplamente distribuídas. O neo-endemismo pode ser corroborado pelo grande número de homoplasias resultantes da análise filogenética, demonstrando o recém-surgimento das espécies, que sofreram poucas modificações até então (BROWN e LOMOLINO, 2006).

Geralmente os organismos (não necessariamente de táxons próximos) das disjunções são morfolologicamente muito similares e habitam ambientes similares. Entretanto, os táxons disjuntos podem apresentar morfologia e ocupação de ambientes diferentes.

Tendo em vista que a maioria das espécies do gênero *Cambessedesia* ocorre em campos rupestres e que as regiões montanhosas, onde os campos rupestres ocorrem, são descontínuas, pode-se verificar que muitas espécies são disjuntas, ou seja, são organismos intimamente relacionados e vivem em áreas separadas entre si, mesmo que em pequenas escalas. Nesse caso podem ser incluídas as espécies do grupo-irmão *C. atropurpurea* - *C. wurdackii* que ocorrem, respectivamente, em Goiás e na Bahia, as espécies *C. membranacea*

subsp. *membranacea* – *C. membranacea* subsp. *bahiana*, que ocorrem respectivamente em Mato Grosso/Goiás e Bahia, entre outras.

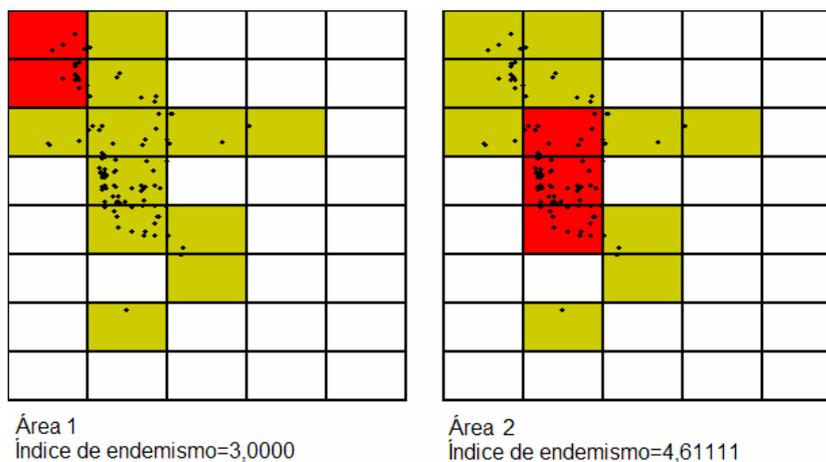
As disjunções refletem eventos passados, tendo os táxons sido dispersos por grandes distâncias através de barreiras geográficas, levadas a locais distantes pela separação das placas continentais, ou sendo os táxons sobreviventes de um ancestral amplamente distribuído em tempos remotos (BROWN e LOMOLINO, 2006).

Existem várias explicações para a ocorrência de espécies disjuntas, como: (1) a ocorrência dos ancestrais nas áreas do cerrado que antes eram unidas, mas posteriormente se separaram e derivaram independentemente; (2) a amplitude com que os ancestrais antes eram distribuídos foi diminuída devido à extinção das populações das áreas intermediárias, deixando relictos; ou ainda (3) a dispersão de pelo menos uma linhagem à longa distância em relação à área de origem dos ancestrais.

A hipótese que pode explicar porque esses organismos, intimamente relacionados com as outras espécies do gênero, ocorrem em locais distantes do centro de origem é a contração e expansão do cerrado. Considerando o gênero *Cambessedesia* seja monofilético, e que *C. hilariana*, a espécie mais amplamente distribuída, é grupo-irmão de *C. semidecandra*, endêmica à imediações da Diamantina (MG), pode-se supor que, das três formas de disjunção, a mais provável tenha sido aquela em que os ancestrais eram amplamente distribuídos pelo cerrado, que outrora perfazia uma área muito maior no Brasil, e a extinção das populações deixou relictos, provavelmente por vicariância devido às expansões e contrações do cerrado e as modificações da Cadeia do Espinhaço.

## 4.6 ANÁLISE DE ENDEMISMO

Foram obtidas três áreas de endemismo, sendo apenas duas relevantes, uma vez que a terceira área foi contida na segunda área.

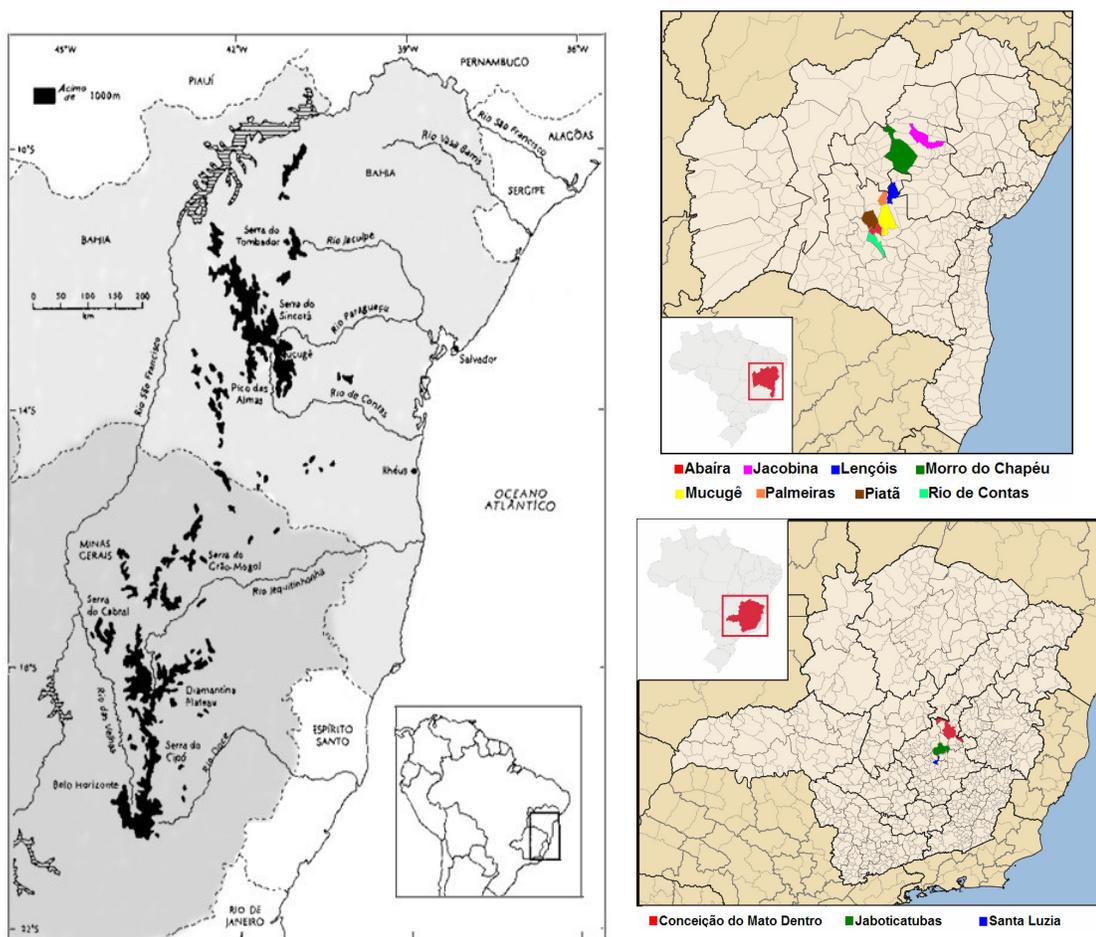


**Figura 22** Áreas de endemismo obtidas através da análise de distribuição geográfica nos programas NDM/VNDM.

A primeira área de endemismo (Figura 22, Área 1) foi sustentada pelas espécies *C. harleyi*, *C. purpurata*, *C. wurdackii*, contribuindo cada uma das espécies com um ponto para o índice de endemismo (3 pontos). A área de endemismo compreendeu 2 células, compostas pelos municípios de Abaíra, Jacobina, Lençóis, Morro do Chapéu, Mucugê, Palmeiras, Piatã e Rio de Contas (BA) (Figura 23). A pontuação de mesmo valor se deu devido às espécies ocorrerem de forma semelhante nas células, ou seja, cada uma está presente nas duas células da área de endemismo e somente nelas.

A segunda área de endemismo (Figura 22, Área 2) apresentou índice de endemismo de 4,611 pontos e compreendeu três células, compostas pelos municípios de Santa Luzia, Conceição do Mato Dentro e Jaboticatubas (MG) (Figura 23). A área 2 foi sustentada pelas espécies *C. espora* subsp. *ilicifolia*, com pontuação de 0,277, ocorrendo em duas células internas e uma externa à área de endemismo; *C. arenaria*, *C. corymbosa*, *C. latevenosa*, *C. salviifolia*, todas contribuindo com 0,833 do índice, ocorrendo em apenas duas das células internas da área de endemismo; e *C. semidecandra*, contribuindo com 1,0 ponto do índice, ocorrendo nas 3 células da área de endemismo e somente nelas.

Os resultados obtidos podem ser úteis à definição de áreas prioritárias para conservação, uma vez que apenas 2,2 % da área do cerrado encontram-se dentro de unidades de conservação (KLINK, 2005).



**Figura 23.** Localização dos municípios correspondentes à área de endemismo no estado da Bahia (acima, à direita), e em Minas Gerais (abaixo, à direita), e o posicionamento das áreas na Cadeia do Espinhaço (à esquerda).

## 5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Muitos caracteres morfológicos mostraram-se homoplásticos, tendo surgido em diferentes eventos na evolução das linhagens. Entretanto, a combinação dos caracteres homoplásticos foi suficiente para sustentar os clados nas análises filogenéticas de *Cambessedesia*..

As hipóteses filogenéticas baseadas em morfologia revelaram combinações não-observadas anteriormente e corroboraram outras já sugeridas. Elas também sugeriram a parafilia das seções *Cambessedesia* e *Pyramia*, uma vez que todas as espécies da seção *Pyramia* estão distribuídas em diversos ramos da seção *Cambessedesia*.

A extração de DNA de exsicatas com mais de quatro anos é problemática devido à sua degradação provavelmente causada pelos métodos de conservação do material vegetal.

Os iniciadores “universais” mostraram baixa especificidade com a região ITS do DNA ribossômico nuclear de *Cambessedesia*, uma vez que houve alta porcentagem de amplificação da região ITS de fungos. Além disso, o anelamento dos iniciadores na região ITS é deficiente nas espécies de *Cambessedesia*, fato compreensível, uma vez que os iniciadores não são específicos para o grupo. A alta porcentagem de amplificações inespecíficas (25%) e o anelamento imperfeito indicam a necessidade de se desenvolver iniciadores próprios para *Cambessedesia* (em andamento).

A região ITS apresentou-se informativa para o estudo das relações interespecíficas do gênero *Cambessedesia*, confirmando positivamente seu emprego em análises filogenéticas de táxons infragenéricos.

A incongruência entre as hipóteses filogenéticas morfológicas e moleculares deve ter ocorrido devido à baixa amostragem de terminais, uma vez que foram seqüenciadas regiões ITS de 6 das 21 espécies do gênero *Cambessedesia*.

Através de estudos baseados em relógio molecular de algumas tribos de Melastomataceae, pode-se inferir que o gênero *Cambessedesia* pode ter surgido entre 53 m.a.a. e 26-23 m.a.a. no Brasil. A origem recente pode ser corroborada devido ao baixo acúmulo de transformações e à grande similaridade morfológica entre as espécies.

O endemismo das espécies de *Cambessedesia* deve ter ocorrido devido às mudanças climáticas e geológicas às quais foram submetidas a Cadeia do Espinhaço.

A determinação de áreas de endemismo é útil para a definição de áreas prioritárias para conservação. Assim, tendo em vista que *Cambessedesia* é endêmico do cerrado e que algumas de suas espécies já se encontram em listas de espécies ameaçadas, além de o cerrado apresentar apenas 2,2% de sua área integralmente protegidos (KLINK, 2005), as análises de área de endemismo de *Cambessedesia* realizadas no presente trabalho podem servir de subsídios para propostas de conservação.

## 6 REFERÊNCIAS

AGRIPINO, D.G.; LIMA, M.E.L.; SILVA, M.R. *et al.* Screening of Brazilian plants for antimicrobial and DNA damaging activities. I. Atlantic rain forest. Ecological Station Juréia-Itatins. **Biota Neotropica** v. 4, n. 2, 30 set. 2004.

ALMEDA, F. Shrinking tribes in Brazil. General distribution of campo rupestre in Brazil, 1999. Disponível em: [www.calacademy.org/science\\_now/archive/academy\\_research/almeda.php](http://www.calacademy.org/science_now/archive/academy_research/almeda.php). Acessado em: 05 abr. 2007.

BARROSO, G.M. **Sistemática de Angiospermas do Brasil**. v.2, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, 1991.

BALDWIN, B.G.; SANDERSON, M.J.; PORTER, *et al.* The ITS Region of Nuclear Ribosomal DNA: A Valuable Source of Evidence on Angiosperm Phylogeny. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 82, n. 2, p. 247-277, 1995.

BENITES, V.M.; CAIAFA, A.N.; MENDONÇA, E.S.; SCHAEFER, C.E.; KER, J. C. Solos e vegetação nos complexos de altitude da Mantiqueira e do Espinhaço. **Floresta e Ambiente**, v. 10, n. 1, p. 76-85, jan./jul. 2003.

BAUMGRATZ, J.F. Duas novas espécies de *Huberia* DC. (Melastomataceae) para o Brasil. **Rodriguésia**, v. 50, n. 76/77, p. 39-47, 1999.

BREMER, K. The limits of amino acid sequence data in angiosperm phylogenetic reconstruction. **Evolution**, v. 42, p. 795-803, 1988.

BROWN, J.H.; LOMOLINO, M.V. **Biogeografia**. 2ª ed. Ribeirão Preto, SP: FUNPEC editora, 2006.

BRUMANO, A. Espécie nativa pode recuperar o cerrado. **Hoje em dia**. Minas Gerais. Disponível em: [www.icb.ufmg.br/big/leeb/Hoje\\_em\\_dia\\_cerrado.pdf](http://www.icb.ufmg.br/big/leeb/Hoje_em_dia_cerrado.pdf). Acesso em: 04 fev. 2007.

CHOMCZYNSKI, P.; MACKEY, K.; DREWS, R.; WILFINGER, W. DNAzol®: A reagent for the rapid isolation of genomic DNA. **BioTechniques**, v. 22, p. 550-553, 1997.

COGNIAUX, A. Melastomataceae. Tribus I. Microliceae. *In*: C. F. P. De MARTIUS e A. G. EICHLER (Eds.). **Flora brasiliensis**, v.14, parte 3, Fasc.89, Col.1, 01 mar. 1883.

COGNIAUX, C.A. Mélastomacées. *In*: CANDOLLE, A. e CANDOLLE, C. (Eds.). **Monographiae phanerogamarum**, v.7, n. 1, p. 1256. G.Masson, Paris, France, 1891.

CONCEIÇÃO, A.A. Ecologia Vegetal em Campos Rupestres da Chapada Diamantina, Bahia, *In*: QUEIROZ, L.P.; RAPINI, A.; GIULIETTI, A.M. **Rumo ao amplo conhecimento da biodiversidade do semi-árido brasileiro**. Disponível em: <http://www.uefs.br/ppbio/cd/portugues/capitulo9.htm>. Acesso em: 30 set. 2007.

COSTA, R; PEREIRA, G.; TAVARES-DE-SOUZA. Estabelecimento do protocolo de extracção de DNA e caracterização molecular de uma colecção de *Dactylis glomerata*. **M. Melhoramento**, v. 38, p. 46-53, 2002.

DOYLE, J. J.; DOYLE, J. L.. A rapid DNA isolation method for small quantities of fresh tissues. **Phytochem. Bull. Bot. Soc. Amer.** v. 19, p. 11-15, 1987.

DOYLE, J.J. Gene trees and species trees: molecular systematics as one-character taxonomy. **Systematic Botany**, v. 17, n. 1, p. 144-163, 1992.

EWING, B.; HILLIER, L.; WENDL, M.C.; GREEN, P. Base-calling of automated sequencer traces using Phred. I. Accuracy assessment. **Genome Research**. v. 8, p. 175-185, 1998.

FARRIS, A successive approximation approach to character weighting. **Systematic Zoology**, v.18, n. 4, p. 374-385, dez. 1969.

FELSENSTEIN J. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. **Evolution**, v. 39, p. 783-791, 1985.

FERRI, M. G. **Vegetação brasileira (Reconquista do Brasil)**. Belo Horizonte: Itatiaia, 1980.

FRACASSO, C. M. Biologia da polinização e reprodução de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) (Melastomataceae). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, São Paulo. **Dissertação de Mestrado**, 2003.

FRITSCH, P. W.; ALMEDA, F.; RENNER, S. S. *et al.* Phylogeny and circumscription of the near-endemic Brazilian tribe Microlicieae (Melastomataceae). **American Journal of Botany**, v. 91, n. 7, p. 1105-1114, jul. 2004.

GIULIETTI, A.M. PIRANI, J.R. Patterns of geographic distribution of some plant species from Espinhaço Range, Minas Gerais and Bahia, Brazil. *In*: VANZOLINI, P.E. HEYER, W.R. (Eds.). **Proceedings of a workshop on neotropical distribution patterns**. Rio de Janeiro: Academia Brasileira de Ciências, p. 39-69, 1987.

GOLOBOFF, P. **NDM/VNDM programs for identification of areas of endemism**, 2005. Disponível em [www.zmuc.dk/public/phylogeny/endemism](http://www.zmuc.dk/public/phylogeny/endemism). Acesso em 03 fev. 2007.

GORDON, D. Viewing and Editing Assembled Sequences Using Consed *In*: BAXEVANIS, A. e DAVISON, D. (Eds.). **Current Protocols in Bioinformatics**. New York: John Wiley & Co., 11.2.1-11.2.43, 2004.

GROSSO, M. L.; SZUMIK, C. Phylogeny and biogeography of the genus *Pelinoidea* Cresson (Diptera-Ephydriidae), **Zootaxa** 1510: 35–50, 18 jun. 2007.

HALL, T.A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. **Nucleic Acids Symposium Series**, v. 41, p. 95-98, 1999.

HILLIS, D.M.; DIXON, M.T. Ribosomal DNA: Molecular Evolution and Phylogenetic Inference. **The Quarterly Review of Biology**, v. 66, n. 4, p. 411-453, dez. 1991.

IBAMA. **Ecosistemas brasileiros: cerrado**. Disponível em: <http://www.ibama.gov.br/ecosistemas/cerrado.htm>. Acesso em: 04 jun. 2007.

JANIES, D. A. e WHEELER, W. C. Theory and practice of parallel direct optimization. *In: DESALLE, R.; GIRIBET, G.; EHEELER, W. C. (Eds.) Molecular Systematics and Evolution: Theory and Practice*. Basel: Birkhäuser Verlag, p.115-123, 2002.

KLINK, Carlos A.; MACHADO, Ricardo B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v.1, n. 1, jul. 2005.

LATTIF, A.A. **DNAzol Reagents from Invitrogen**. Disponível em: <http://www.biocompare.com/prorev.asp?profrevid=493>. Acesso em: 30 set. 2007.

MADDISON, W.P., MADDISON, D.P. **Mesquite: A modular system for evolution analysis**. Version 2.0, University of British Columbia and Arizona, 2007.

MARTINS, A. B. Novas espécies do gênero *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 2, n. 2, p. 77-83, 1983.

MARTINS, A. B. Revisão taxonômica do gênero *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, São Paulo. **Dissertação de Mestrado**, 1984.

MARTINS, A. B. Novos taxa para o gênero *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 8, p. 177-183, 1985.

MARTINS, A. B. New species in Brazilian Melastomataceae. **Kew Bulletins**, v. 48, n. 2, 1993.

MARTINS, A. B. *Cambessedesia* DC. *In: STANNARD, B.L. Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina-Bahia, Brazil*. Royal Botanic Gardens, KEW, 1995.

MARTINS, E. Revisão taxonômica do gênero *Trembleya* DC (Melastomataceae). Universidade Estadual de Campinas. Campinas, São Paulo. **Tese de Doutorado**, 1997.

MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. Grupo De Trabalho Do Bioma Cerrado. **Programa nacional de conservação e uso sustentável do bioma cerrado: Programa Cerrado Sustentável**, pp. 67, set. 2006.

MIRANDA, V.F.O; BACCI Jr., M., MARTINS, V.G.; FURLAN, A. Plant or fungal sequences? An alternative optimized PCR protocol to avoid ITS (nrDNA) misamplification. **Braz.Arch.Biol.Tech.**, 2007 (no prelo).

MEYER, D. **Análise filogenética de seqüências de DNA** *In*: AMORIM, D.S. Elementos básicos de sistemática filogenética. 2ªed. São Paulo: Editora Holos.

NIXON, K.C. e CARPENTER, J.M. On outgroups. **Cladistics**, 9: 413-426, 1993.

OLIVEIRA, J.S.; SOUZA, S.E.; OLIVEIRA, L.L.; CARVALHO, D.A.; MOREIRA, D.M.O. Distribuição do fungo *Cladosporium cladosporioides* em regiões produtoras de café na Bahia. **Bahia Agric.**6(3): 72-75, 2004.

PAGE, R.D.M.; HOLMES, E.C. **Molecular evolution, a phylogenetic approach**. UK: Blackwell Publishing Company, 1998.

PAGE, R.D.M. **TREEVIEW: An application to display phylogenetic trees on personal computers**. Computer Applications in the Biosciences, v. 12, p. 357-358. 1996.

PAGE, R.D.M. **NDE: Nexus Data Editor**, versão 0.5.0. University of Glasgow, 2001.

PHILLIPS, A., JANIES, D. e WHEELER, W. Multiple sequence alignment in phylogenetic analysis. **Molecular Biology and Evolution**, 16 (3): 317-330, 2000.

RENNER, S.S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic Journal of Botany** v. 13, p. 519-540, 1993.

RENNER, S.S.; MEYER, K. Melastomeae come full circle: biogeographic reconstruction and molecular clock dating. **Evolution**, v. 55, n. 7, p. 1315–1324, 24 fev. 2001.

RIZZINI, C.T. **Tratado de Fitogeografia do Brasil. Aspectos ecológicos, sociológicos e florísticos**. 2ª ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural Edições Ltda., 1997.

ROMERO, R. Revisão taxonômica de *Microlicia* sect. *Chaetostomoides* (Melastomataceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n.4, p. 429-435, 2003.

ROMERO, R. e MARTINS, A.B. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 1, p. 19-24, mar. 2002.

SAADI, A. A geomorfologia da Serra do Espinhaço em Minas Gerais e de suas margens **Geonomos**, v. 3, n. 1, p. 41-63, 1995.

SERENO, P. Logical basis for morphological characters in phylogenetics. **Cladistics**, v. 23, p. 1-23, 2007.

SCOTLAND, R.W.; OLMSTEAD, R.G.; BENNETT, J.R. Phylogeny reconstruction: the role of morphology. **Systematic Biology**, v. 52, n. 4, p. 539-548, ago. 2003.

SUNDERAM, V.S. PVM: a framework for parallel distributed computing. **Journal of Concurrency: Practice and Experience**, v. 24, n. 2, p. 315-330, 1990.

SZUMIK, C., CUEZZO, F., GOLOBOFF, P., CHALUP, A. An optimality criterion to determine areas of endemism. **Systematic Biology**, v. 51, n. 5, p. 806-816, out. 2002.

SZUMIK, C. e GOLOBOFF, P. Areas of Endemism: An Improved Optimality Criterion. **Systematic Biology**, v. 53, n. 6, p. 968-977, dez. 2004.

SWOFFORD, D. L. **PAUP\*: phylogenetic analysis using parsimony (\* and other methods)**, versão 4.0b10. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA, 2001.

THOMPSON, J.D.; HIGGINS, D.G.; GIBSON, T.J. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position specific gap penalties and weight matrix choice. **Nucleic Acids Research**. v. 22, p. 4673-4680, 1994.

TRIANA, J.J. Les Mélastomacées. **Transactions of the Linnean Society**, London, v. 28, p. 1- 188, 1871.

VAN DEN BERG, C. **Nota técnica: Bancos de DNA de Plantas**. Laboratório de Sistemática Molecular de Plantas, Universidade Estadual de Feira de Santana. Disponível em: <http://www.cria.org.br/cgee/documentos/NotaTecnicaBancosdeDNA22-04-05.doc>. Acesso em: 23 set. 2007.

WATSON, L., e DALLWITZ, M.J. **The families of flowering plants: descriptions, illustrations, identification, and information retrieval**, 1992. Versão: 29 jul. 2006. Disponível em: <http://delta-intkey.com>. Acesso em: 01 ago. 2007.

WEISS, M.R. Floral color change: a widespread functional convergence. **American Journal of Botany**, v. 82, n. 2, p. 167-185, fev. 1995.

WHEELER, W. C. Optimization alignment: the end of multiple sequence alignment in phylogenetics? **Cladistics**, v. 12, p. 1-9, 1996.

WHEELER, W. C. Measuring Topological Congruence by Extending Character Techniques. **Cladistics**, v. 15, p. 131-135, 1999.

WHEELER, W. Homology and the optimization of DNA sequence data. **Cladistics**, v. 17, p. S3-S11, 2001.

WHITE, T. J., BRUNS, T., LEE, S. e TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: INNIS, M.A.; GELFAND ,D.H.; SNINSKY, J. J.; WHITE, T. J. [eds.]. **PCR Protocols: a guide to methods and applications**, p. 315-322, San Diego: Academic Press, 1990.

WILEY, E. O. **Phylogenetics: the theory and practice of phylogenetic systematics**. E.U.A.: Wiley-Interscience publication, p. 1116-119, 1981.

WILEY, E. O.; CAUSEY-SIEGEL, D.; BROOKS, D.R.; FUNK, V.A. **The Compleat Cladist, a primer of phylogenetic procedures**. Lawrence, Kansas: Museum of Natural History, The University of Kansas, special publication n. 19, 1991.

WURDACK, John J. Atlas of Hairs for Neotropical Melastomataceae. **Smithsonian Contributions to Botany**, n. 63. Washington: Smithsonian Institution Press, 1986.

ZUNINO, M.; ZULLINI, A. Biogeografía, la dimensión de la evolución. 2ª edición, México: Casa Editrice Ambrosiana, 2003.