



Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia
Programa de Pós-graduação em Botânica

**Filogenia de *Parkia* R.Br. (Leguminosae: Mimosoideae) baseada
em sequências de DNA de cloroplasto**

Lorena Conceição Oliveira

Manaus, AM
Julho, 2015

Lorena Conceição Oliveira

Filogenia de *Parkia* R.Br. (Leguminosae: Mimosoideae) baseada em sequências de DNA de cloroplasto

Orientador: Michael John Gilbert Hopkins
Coorientadora: Doriane Picanço Rodrigues

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica).

**Manaus, AM
Julho, 2015**



DIVISÃO DOS
CURSOS DE
PÓS-GRADUAÇÃO

AULA DE QUALIFICAÇÃO



PARECER

Aluno (a): **LORENA CONCEIÇÃO OLIVEIRA**
Curso: BOTÂNICA
Nível: Mestrado
Orientador: MICHAEL JOHN GILBERT HOPKINS (INPA)

Título:

"*Filogenia de Parkia R. Br. (Leguminosae: Mimosoideae)*"

BANCA JULGADORA

TITULARES:

ALBERTO VICENTINI (INPA)
DANIELE APARECIDA MATOSO (UFAM/INPA)
MÁRIO HENRIQUE TERRA- ARAÚJO (INPA)

SUPLENTES:

CHARLES EUGENE ZARTMAN (INPA)
CHARLES ROLAND CLEMENT (INPA)

EXAMINADORES	PARECER	ASSINATURA
ALBERTO VICENTINI	(X) Aprovado () Reprovado	
DANIELE APARECIDA MATOSO	(X) Aprovado () Reprovado	
MÁRIO HENRIQUE TERRA- ARAÚJO	(X) Aprovado () Reprovado	

Manaus (AM), 21 de Março de 2014.

OBS: A banca julgadora aconselha o discente a se aprofundar
maior na teoria/problemas sobre sistemática filogenética.

Alberto Vicentini
Coordenador do Programa de
Pós-Graduação em Botânica
PO. 272/2012 DCBO/INPA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO DO INPA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA
Av. André Araújo, 2936 – Bairro: Aleixo – Caixa Postal: 2223 – CEP: 69067-375- Manaus/AM.
Fone/Fax: (+55) 92 3643-3119

site: <http://pg.inpa.gov.br> e-mail: pgbotanica@inpa.gov.br



ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BOTÂNICA DO INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA

Aos vinte três dias do mês de julho de 2015 às 09:00h, no auditório da diretoria do INPA-Campus I, reuniu-se a Comissão Examinadora da Defesa Pública, composta pelos seguintes membros: Dr. Marcelo Fragomeni Simon, da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (Cenargen), Dra. Daniele Aparecida Matoso, da Universidade Federal do Amazonas –UFAM e Dr. Marcos Eduardo Guerra Sobral, da Universidade Federal de São João Del-Rei, tendo como suplentes: Dr. Alberto Vicentini, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA e Dra. Maria de Lourdes da Costa Soares Moraes, do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA sob a presidência do primeiro, a fim de proceder a arguição pública da **DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**, intitulada: **“Filogenia de *Parkia* R.Br. (Leguminosae: Mimosoideae) baseada em seqüências de DNA de cloroplasto”**, da discente: **Lorena Conceição Oliveira**, sob orientação: Dr. Michael John Gilbert Hopkins e Co-orientação: Dra. Doriane Picanço Rodrigues.

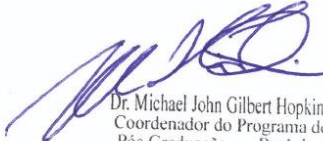
Após a exposição, dentro do tempo regulamentar, a discente foi argüida oralmente pelos membros da Comissão Examinadora, tendo recebido o conceito final:

EXAMINADORES	PARECER	ASSINATURA
MARCELO FRAGOMENI SIMON	(X) APROVADO	() REPROVADO
DANIELE APARECIDA MATOSO	(X) APROVADO	() REPROVADO
MARCOS EDUARDO GUERRA SOBRAL	(X) APROVADO	() REPROVADO
ALBERTO VICENTINI	() APROVADO	() REPROVADO
MARIA DE LOURDES DA C. S. MORAES	() APROVADO	() REPROVADO

Manaus (AM), 23 de julho de 2015.

OBS: _____

Nada mais havendo, foi lavrado a presente ata, que, após lida e aprovada, foi assinada pelos membros da Comissão Examinadora.


 Dr. Michael John Gilbert Hopkins
 Coordenador do Programa de
 Pós Graduação em Botânica
 PO. 258/ 2014. 19/07/2015

- O48 Oliveira, Lorena Conceição .
Filogenia de *Parkia* R.Br. (Leguminosae: Mimosoideae) baseada em sequências de DNA de cloroplasto/Lorena Conceição Oliveira. --
- Manaus: [s.n.], 2015.
- f. : il.
- Dissertação (Mestrado) --- INPA, Manaus, 2015.
Orientador : Michael John Gilbert Hopkins .
Coorientador : Doriane Picanço Rodrigues.
Área de concentração : Botânica.
1. Filogenia molecular. 2. DNA de cloroplasto . 3.
Leguminosae . I. Título.

CDD 583.32

Sinopse:

Foram inferidas relações filogenéticas de 22 espécies de *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae) com base em dados do marcador molecular cloroplastidial *trns-trnG*, por meio de abordagens analíticas de máxima parcimônia e inferência bayesiana. Também foi investigada a evolução de seis caracteres morfológicos consistentes para tipificação de grupos infragenéricos dentro gênero.

Palavras-chaves: filogenia molecular, DNA de cloroplasto, legumes

*Para minha mãe Maria:
de quem mais ouvi falar da beleza das flores.
Com amor dedico.*

Agradecimentos

Ao Programa de Pós-Graduação em Botânica do INPA, que tornou possível a realização deste trabalho.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Ao meu orientador Dr. Mike Hopkins pela amizade, confiança, entusiasmo e por compartilhar comigo todo o seu conhecimento botânico.

À minha co-orientadora Dra. Doriane Rodrigues pela amizade, confiança, e principalmente, pela paciência e ensinamentos na minha “iniciação” nas técnicas moleculares.

À Dra. Daniele Matoso, ao Dr. Mario H. A. Terra pelas contribuições durante a avaliação do trabalho e pelo auxílio nas análises filogenéticas.

Ao Dr. André Amorim, ao Dr. Marcelo Simon, ao Dr. Ulf Mehling e a Suzanna Costa pela concessão de algumas amostras utilizadas neste trabalho.

Aos professores Dr. Alberto Vicentini, Dr. Charles Zartman, Dr. Valdely Knupp, Dr. Marcos Sobral, Dr. Florian Wittmann, Dra. Maria Piedade, pelos ensinamentos nas disciplinas da pós-graduação.

Aos colegas do PPGBot-INPA pelo agradável convívio, conversas e confraternizações ao longo desses dois anos de pós-graduação.

Aos colegas do Laboratório de Evolução Aplicada pelas discussões sobre as técnicas moleculares e pela ajuda na realização das mesmas.

Ao pessoal do Parque Nacional do Viruá pela acolhida sempre carinhosa e pelo auxílio nas coletas em Roraima.

A Léia e a Neide (secretária do PPG Bot-INPA) pelo auxílio, sempre gentil, em algumas questões burocráticas do curso de pós-graduação.

Aos amigos David, Diana, Lilian e Marina pela acolhida carinhosa, e por tornar a saudade de casa mais amena.

Ao pessoal lá de casa Luciana, Alexander, Andiará, Pablo, a pequena Maria Vitória, e minha mãe, Maria, que com sua “alma botânica” é a minha maior inspiração...

RESUMO

Parkia R.Br. (Leguminosae: Mimosoideae) é um gênero pantropical com aproximadamente 34 espécies distribuídas em três seções taxonômicas (*Parkia*, *Platyparkia* e *Sphaeroparkia*), definidas com base no tipo e arranjo de suas flores na inflorescência. Nos neotrópicos, a bacia amazônica é o principal centro de diversidade taxonômica e morfológica do gênero com ocorrência de aproximadamente 56% das espécies descritas; o gênero também ocorre nos paleotrópicos, nas fisionomias florestais da África, Ásia, região Indo-Pacífico e Madagascar. Com o objetivo de testar o monofiletismo de *Parkia*, auxiliar na elucidação das relações entre suas espécies, e contribuir para sua classificação dentro Mimosoideae, foram inferidas relações filogenéticas de 22 espécies do gênero, com abordagens analíticas de Máxima Parcimônia e Inferência Bayesiana, utilizando-se sequências do marcador cloroplastidial *trnS-trnG*. Seis caracteres morfológicos (tipo de inflorescência, cor das flores férteis, franja de estaminódios, tipo das brácteas, glândula nas anteras e tipo de deiscência dos frutos) foram mapeados com o intuito de investigar sua evolução a partir da hipótese filogenética resultante da árvore de Inferência Bayesiana. O monofiletismo de *Parkia* foi sustentado em todas as análises por altos valores de *bootstrap* e probabilidade posterior (BS 1.0, PP 1.0). Foram recuperados dois clados principais, o primeiro inclui as espécies paleotrópicas, e o segundo compreende as espécies dos neotrópicos. Os caracteres morfológicos analisados apresentaram baixos níveis de homoplasia e foram coerentes no suporte de alguns clados e subclados. Quanto à classificação infragenérica apenas a seção *Parkia* não foi recuperada como monofilética, a monofilia das seções *Platyparkia* e *Sphaeroparkia* foi fortemente sustentada (BS 1.0, PP 1.0). A ausência de suporte estatístico faz com que as relações de *Parkia* com outros gêneros em Mimosoideae permaneçam incertas. Embora nossas análises tenham utilizado apenas uma região do DNA, nossos resultados fornecem uma filogenia preliminar das espécies de *Parkia* com base em dados moleculares, fornecendo bases para uma investigação da evolução de caracteres morfológicos, além de contribuir para a elucidação das suas relações com outros gêneros de Mimosoideae.

Palavras-chave: Leguminosae, Mimosoideae, filogenia molecular, *trnS-trnG*, evolução de caracteres morfológicos

ABSTRACT

Parkia R.Br. (Leguminosae: Mimosoideae) is a pantropical genus with about 34 species distributed in three taxonomic sections (*Parkia*, *Platyparkia* and *Sphaeroparkia*), defined based on the type and arrangement of the flowers in the inflorescence. In the Neotropics, the Amazon basin is the main center of taxonomic and morphological diversity of the genus containing approximately 56% of described species, the genus also occurs in paleotropics in the forest formations of Africa, Asia, Indo-Pacific region and Madagascar. In order to test the monophyly of *Parkia*, assist in the elucidation of species relationships, and contribute to the ranking within Mimosoideae the phylogenetic relationships of 22 species of the genus were inferred, using Maximum Parsimony and Bayesian analyses of the trnS-trnG chloroplast marker sequences. Six morphological characters (type of inflorescence, color of fertile flowers, staminodial fringe, type of bracts, anther glands and type of fruit dehiscence) were mapped in order to investigate their evolution from the inference tree of the resulting Bayesian phylogenetic hypothesis. The monophyly of *Parkia* was sustained in all analyzes with high bootstrap values and posterior probability (BS 1.0, PP 1.0). Two geographically structured clades were recovered, the first clade consists of the paleotropical species and the second the neotropical species. The morphological analysis showed low levels of homoplasy and were consistent in support of some clades and subclades. In the infrageneric classification section *Parkia* was found not to be monophyletic, whilst the monophyly of *Platyparkia* and *Sphaeroparkia* sections were strongly supported (BS 1.0, PP 1.0). The relation of *Parkia* to other genera of Mimosoideae remains uncertain, but our results suggest the hypothesis of a closer relationship with *Leucaena*. Although our analyzes have used only a single DNA region, our results provide a first preliminary phylogeny of *Parkia* species based on molecular data, providing the basis for an investigation of the evolution of morphological characters, and contributing to the elucidation of its relations with other genera of Mimosoideae.

Keywords: Leguminosae, Mimosoideae, molecular phylogeny, trnS-trnG, evolution of morphological characters

SUMÁRIO

Apresentação	1
Organização da Dissertação	2
Referências Bibliográficas	3
Capítulo 1. Filogenia de <i>Parkia</i> R.BR. (Leguminosae: Mimosoideae) baseada em sequências de DNA de cloroplasto	6
Resumo	7
Introdução	8
Materiais e Métodos	10
Táxons amostrados	10
Extração, amplificação e sequenciamento do DNA	11
Análises filogenéticas	12
Evolução e seleção caracteres morfológicos	12
Resultados	13
Características das sequências	13
Análises filogenéticas	13
Discussão	15
Relações filogenéticas em <i>Parkia</i>	15
Implicações taxonômicas	20
Evolução de caracteres morfológicos	21
Agradecimentos	23
Literatura Citada	23
Apêndice 1	27
Apêndice 2	28
Apêndice 3	29

APRESENTAÇÃO

Leguminosae possui grande diversidade de formas e habitats, compreende ca. de 751 gêneros e 19.500 espécies. É a terceira maior família das angiospermas em número de espécies – depois de Orchidaceae e Asteraceae – e a segunda (depois de Poaceae) em importância econômica e agrícola (Lewis *et al.*, 2005; LPWG, 2013). Tradicionalmente, a família está dividida em três subfamílias: Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae (Bentham, 1865) embora alguns autores como Hutchinson (1964) e Cronquist (1981, 1988) as tenham considerado como famílias independentes, estudos filogenéticos sustentam as leguminosas como uma única família (Chase *et al.*, 1993; Doyle, 1994; Kass e Wink, 1996; Doyle *et al.*, 1997, 2000; Soltis *et al.*, 2000; Kajita *et al.*, 2001; Wojciechowski *et al.*, 2003, 2004; Judd e Olmstead, 2004; LPWG, 2013). A família está inserida na ordem Fabales, juntamente com Polygalaceae, Surianaceae e Quillajaceae, e apresenta como sinapomorfias morfológicas, elementos de vaso com perfurações simples, embrião grande e verde, e ausência de ácido elágico, caracterizam-se também pela capacidade de suas raízes fixarem nitrogênio por meio de simbiose com outros organismos (APG II, 2003). O notável sucesso evolutivo em termos de diversificação, alcançado por Leguminosae, deve-se muito em parte, por essa sua capacidade de fixação de nitrogênio.

Mimosoideae é a segunda maior entre as subfamílias de Leguminosae, com aproximadamente 83 gêneros e 3.273 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do mundo (Lewis *et al.*, 2005). Morfológicamente, as Mimosoideae diferem das demais subfamílias pelas folhas geralmente bipinadas (com exceção do gênero *Inga*), corola com prefloração valvar e flores actinomorfa, agrupadas em capítulos, espigas, glomérulos, racemos e umbelas (Barroso *et al.*, 1991). Lewis e Elias (1981) dividiram a subfamília em cinco tribos: Acacieae, Ingeae, Mimoseae, Mimosygantheae e Parkieae, baseando se na morfologia do androceu e caracteres do fruto. Entretanto, análises filogenéticas com base em marcadores moleculares (Luckow *et al.*, 2000, 2003) não apoiam esta divisão. Assim, de acordo com esses estudos, em Mimosoideae são atualmente reconhecidas três tribos: Mimoseae, Acacieae e Ingeae.

Parkia R.Br. foi descrito por Brown (1826) com base, principalmente na prefloração imbricada dos lobos do cálice (Hopkins, 1986). Desde sua descrição o gênero vem sofrendo uma série de reorganizações em relação à sua posição em Mimosoideae; atualmente, com a dissolução da tribo Parkieae, o gênero foi incluído em Mimoseae. Quanto a sua relação com outros gêneros em Mimoseae, análises filogenéticas recentes com base em dados do gene

cloroplastidial *matK* indicam *Parkia* como provável gênero irmão do grupo Piptadenia (Lewis *et al.*, 2005; LPWG, 2013).

Atualmente, o gênero abrange aproximadamente 34 espécies, amplamente distribuídas pelos trópicos. Na região neotropical ocorre desde Honduras até o sudeste do Brasil, sendo a Amazônia seu principal centro de endemismo e região de maior amplitude de variação morfológica descrita para o gênero. Nos paleotrópicos, sua ocorrência é registrada na África, Ásia, Madagascar e região Indo-Pacífico (Hopkins, 1986). O mais recente e relevante tratamento taxonômico para o gênero foi realizado por Hopkins (1986), neste estudo foi proposta a atual circunscrição infragenérica de *Parkia*, onde, baseando-se principalmente na morfologia da inflorescência, o autor dividiu o gênero em três seções: *Parkia*, *Platyparkia* e *Sphaeroparkia*.

A taxonomia de Leguminosae tem sido bem estudada, entretanto sua classificação ainda é complexa, com muitos grupos apresentando problemas de delimitação no nível de gênero e definidos com base em trabalhos tradicionais. Diversos estudos filogenéticos baseados em dados moleculares foram realizados para a família, entretanto, muitos gêneros, incluindo *Parkia*, ainda não foram analisados neste contexto.

OBJETIVOS

O presente trabalho foi conduzido com os objetivos de: (1) testar a monofiletismo de *Parkia*; (2) estimar uma hipótese para as relações filogenéticas de 22 espécies incluídas no gênero e (3) investigar a evolução de alguns caracteres morfológicos dentro do gênero. Nosso trabalho também visa contribuir para elucidar as relações de parentesco de *Parkia* com os demais gêneros incluídos em Mimosoideae, e desta forma contribuir para a taxonomia de Leguminosae.

Organização da Dissertação

A dissertação está organizada em um capítulo, onde é apresentado um estudo filogenético molecular de *Parkia*. O capítulo é um manuscrito que segue as normas de formatação da revista à qual o mesmo será submetido. Algumas modificações na formatação foram feitas com o intuito de facilitar a leitura.

REFERÊNCIAS

- APG II. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399–436.
- Barroso, G.M., Morim, M.P., Peixoto, A.L. e Ichaso, C.L.F., Guimarães, E.F. & Lima, H.C. de. 1991. *Sistemática de Angiospermas do Brasil*. Viçosa, MG: Imprensa Universitária 2: 15-100.
- Bentham, G. 1865. Leguminosae. In Bentham, G. e Hooker, J.D. *Genera Plantarum*. 1: 434–600. London: Lovell Reeve & Co.
- Brown, R. 1826. Appendix pages 206-246 in D. Denham & H. Clapperton. *Narrative of travels and discoveries in northern and central Africa*.
- Chase, M., Soltis, D., Olmstead, R., Morgan, D., Les, D., Mishler, B., Duvall, M., Price, R., Hills, H., Qiu, Y.L., Kron, K., Rettig, J., Conti, E., Palmer, J., Manhart, J., Sytsma, K., Michaels, H., Kress, W.J., Donoghue, M., Clark, W.D., Hedren, M., Gaut, B., Jansen, R., Kim, K.J., Wimpee, C., Smith, J., Furnier, G., Straus, S., Xiang, Q.Y., Plunkett, G., Soltis, P., Swensen, S., Eguiarte, L., Learn, G., Jr., Barrett, S., Graham, S., Dayanandan, S. e Albert, V. 1993. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene *rbcL*. 1993. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 80: 528-580.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University, New York.
- Cronquist, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants. The New York Botanical Garden, New York.
- Doyle, J.J. 1994. Phylogenetic of the legume family: an approach to understanding the origins of nodulation. *Annual Reviews Ecology Systematics* 25: 325-349.
- Doyle, J.J., Doyle, J.L., Ballenger, J.A., Dickson, E.E., Kajita, T. e Ohashi, H. 1997. A phylogeny of the chloroplast gene *rbcl* in the Leguminosae: taxonomic correlations and insights into the evolution of nodulation. *American Journal of Botany* 84: 541-554.
- Doyle, J.J., Chappill, J.A., Bailey, C.D. e Kajita, T. 2000. Towards a comprehensive phylogeny of legumes evidence from *rbcl* sequences and nonmolecular data. In P.S. Herendeen & A. Bruneau (eds.). *Advances in Legume Systematics*. Part 9. The Royal

- Botanic Gardens, Kew, p. 1-20.
- Hopkins, H.C.F. 1986. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae): *Flora Neotropica* 43: 1-123.
- Hutchinson, J. 1964. *The genera of flowering plants (Angiospermae)*. v. 1. Oxford: Claderon Press. v. 1.
- Judd, W.S. e Olmstead, R.G. 2004. A survey of tricolpate (eudicot) phylogenetic relationships. *American Journal of Botany* 91: 1627-1644.
- Kajita, T.H.; Ohashi, H.; Tateishi, Y.; Bailey, C.D. e Doyle, J.J. 2001. RbcL and legume phylogeny, with particular reference to Phaseoleae, Millettieae and Allies. *Systematic Botany* 26: 515-536.
- Kass, E. e Wink, M. 1996. Molecular evolution of Leguminosae: phylogeny of the three subfamilies based on rbcL sequences. *Biochemical Systematics and Ecology* 24: 365-378.
- Legume Phylogeny Working Group; Bruneau, A, J.J. Doyle, P. Herendeen, C.E. Hughes, G. Kenicer, G. Lewis, B. Mackinder, T.R. Pennington, M.J. Sanderson, M.F. Wojciechowski, E. Koenen, et al. 2013. Legume phylogeny and classification in the 21st century: progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon* 62(2):217-248.
- Lewis, G.P. e Elias, T. 1981. Mimosae. In: Polhill, R.M. e Raven, P.H. (eds.). *Advances in Legume Systematics*, part 1. Kew: Royal Botanic Gardens. p. 143-151.
- Lewis, G., B.D. Schrire, B.A. Mackinder, e M. Lock. 2005. *Legumes of the world*. Kew: Royal Botanic Gardens. p. 1-12.
- Luckow, M., White, P.J. e Bruneau, A. 2000. Relationships Among the Basal Genera of Mimosoid Legumes. In: P. S. Herendeen & A. Bruneau (Eds.) *Advances In Legume Systematics*, part 9, p. 165-180.
- Luckow, M., Miller, J., Murphy, D. e Livshultz, T. 2003. A phylogenetic analysis of the Mimosoideae (Leguminosae) based on chloroplast DNA sequence data. In: Klitgaard, B.B. e Bruneau, A. (Eds.). *Advances in Legume Systematics*, part 10, Higher level systematics: 197-220.
- Soltis D.E, Soltis P.S, Chase M.W, Mort M.E, Albach D.C, Zanis M., Savolainen V., Hahn W.H, Hoot S.B, Fay M.F et al. 2000. Angiosperm phylogeny inferred from a combined data set of 18S rDNA, rbcL and atpB sequences. *Botanical Journal Linnean Society* 133: 381-461.
- Wojciechowski, M.F. 2003. Reconstructing the phylogeny of legumes (Leguminosae): an

early 21st century perspective. In B. B. Klitgaard & A. Bruneau (eds.). *Advances in legume systematics: Higher Level Systematics*, Part 10. The Royal Botanic Gardens, Kew. p. 5-35.

Wojciechowski, M.F., Lavin, M. e Sanderson, M.J. 2004. A phylogeny of legumes (Leguminosae) based on analysis of the plastid matK gene resolves many well-supported subclades within the family. *American Journal of Botany* 91(11): 1846-1862.

**FILOGENIA DE *Parkia* R.BR. (LEGUMINOSAE: MIMOSOIDEAE)
BASEADA EM SEQUÊNCIAS DE DNA DE CLOROPLASTO**

LORENA CONCEIÇÃO OLIVEIRA^{1,2}, DORIANE PICAÑO RODRIGUES¹ e MICHAEL
JOHN GILBERT HOPKINS¹

¹ Programa de Pós-Graduação em Botânica, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia,
Caixa Postal, CEP: 69067-375, Manaus, Amazonas, Brasil

² autor para correspondência (oliveiralc27@gmail.com)

Resumo—*Parkia* R.Br. é um gênero das Leguminosas que inclui cerca de 34 espécies de distribuição pantropical. Este estudo apresenta as relações filogenéticas de 22 representantes do gênero com base em sequências da região do DNA cloroplastidial *trnS-trnG*. Foram realizadas análises de Máxima Parcimônia e de Inferência Bayesiana. Seis caracteres morfológicos (tipo de inflorescência, cor das flores férteis, franja de estaminódios, tipo de brácteas, glândula na antera e tipo de deiscência dos frutos) foram mapeados na topologia da árvore Bayesiana com intuito de investigar a evolução destes caracteres. *Parkia* foi sustentado como monofilético em todas as análises. Nossas análises recuperam dois clados principais: o primeiro inclui as espécies do Velho Mundo e segundo as espécies do Novo Mundo. Os caracteres morfológicos por nós investigados apresentaram baixo ou nenhum nível de homoplasia. Embora nosso estudo esteja baseado em apenas uma região do DNA, nossos resultados providenciaram uma filogenia preliminar de *Parkia* com base em dados moleculares, fornecendo bases para investigar a evolução de caracteres morfológicos, além de contribuir para a sua classificação dentro de Mimosoideae.

Palavras-chave—evolução de caracteres morfológicos, filogenia, Leguminosae, Mimosoideae, *trnS-trnG*.

INTRODUÇÃO

Leguminosae é uma das mais importantes famílias de angiospermas, e alcançou um notável sucesso evolutivo em termos de diversificação, muito em parte pela sua capacidade de fixação de nitrogênio por meio de simbiose com outros organismos. Assim como a maioria das famílias botânicas sua classificação tem sido feita com base em trabalhos tradicionais, baseados em caracteres morfológicos que muitas vezes revelam-se extremamente homoplásicos, levando à ordenação de grupos não-naturais. Com o advento do uso de dados moleculares para inferir as relações de parentesco entre as espécies, têm-se revelado as limitações da análise morfológica, principalmente pela deficiência de variações entre certos cladogramas, excesso de homoplasias, ou até mesmo complexidades relacionadas ao seu padrão evolutivo (O'Grady et al. 1999; Juchum 2007).

Parkia R.Br. é um gênero da família Leguminosae com ca. de 34 espécies arbóreas amplamente distribuídas pelos trópicos do Novo e do Velho Mundo. As espécies ocorrem em diferentes habitats incluindo desde florestas da África, Ásia, Madagascar e Região Indo-Pacífico, até florestas de várzea, florestas periodicamente inundadas e florestas de areia branca pobre em nutrientes da região amazônica (Hopkins 1986). As espécies de *Parkia* apresentam alto grau de simpatria; Luckow e Hopkins (1995) descreveram quatro áreas de endemismo: (1) América do Sul, (2) África, (3) Madagascar e (4) Região Indo-Pacífico. A Amazônia é o principal centro de diversidade morfológica e taxonômica, com ca. de 56% das espécies reconhecidas (Hopkins 1986; Luckow e Hopkins 1995).

Brown (1826) descreveu o gênero pela presença de flores férteis de cálice cilíndrico com prefloração imbricada, dez estames férteis levemente conados até a base e pela presença de estaminódios em algumas espécies. Desde sua definição o gênero vem sofrendo uma série de reorganizações em relação à sua classificação infragenérica. Bentham (1875) dividiu o gênero em duas seções *Euparkia* (espécies africanas, asiáticas e parte das espécies

neotropicais) e *Paryphosphaera* (demais espécies neotropicais). Posteriormente, Ducke (1949) realizou um estudo com ênfase nas espécies neotropicais, onde descreveu cinco espécies novas, propôs a circunscrição do gênero em cinco seções, manteve parte das espécies neotropicais submetidas à seção *Paryphosphaera*, as espécies do Velho Mundo continuaram submetidas à *Euparkia*, e criou duas novas seções, *Platyparkia* e *Sphaeroparkia*, onde agrupou o restante das espécies neotropicais. Hopkins (1986) propôs uma nova circunscrição para o gênero, reconhecendo três seções com base nos tipos funcionais das flores e seus arranjos na inflorescência (Tabela 1). Na seção *Sphaeroparkia*, a autora inclui as espécies de inflorescências formadas inteiramente por flores férteis; na seção *Platyparkia* foram reunidas as espécies que apresentam dois tipos de flores em suas inflorescências, flores férteis e nectaríferas, e por fim, na seção *Parkia* agrupou as espécies com inflorescências contendo os três tipos de flores: férteis, nectaríferas e flores neutras formando estaminódios.

A presença de um cálice cilíndrico com lobos desiguais de prefloração imbricada tem sido a sinapomorfia morfológica que distingue *Parkia* dos demais gêneros em Leguminosae (Fig. 1E). Estudos filogenéticos recentes realizados para a subfamília Mimosoideae com base em dados de regiões de cloroplasto *trnL-F*, *matK* e *rbcL*, sugerem o monofiletismo do gênero. Dentro de Mimosoideae *Parkia* aparece supostamente como clado irmão do grupo Piptadenia (Lewis et al. 2005; LPWG 2013). Entretanto, tais estudos propuseram o monofiletismo do gênero com base em acessos de apenas duas ou três espécies de *Parkia*.

Luckow e Hopkins (1995) inferiram relações filogenéticas para o gênero com base em dados de 52 caracteres morfológicos. Neste estudo, *Parkia* aparece como monofilético, e supostamente teve origem neotropical. Segundo os autores o gênero originou-se na América do Sul e pode ter ocorrido pelo menos um evento de dispersão para os paleotrópicos. Em relação à classificação seccional proposta por Hopkins (1986), as seções *Parkia* e *Platyparkia* foram recuperadas como monofiléticas, e a seção *Sphaeroparkia* aparece como parafilética.

Entretanto, os autores reconheceram que o gênero mostra uma riqueza de variação morfológica, o que dificulta a inferência de relações filogenéticas para suas espécies com base apenas em caracteres morfológicos.

Nosso trabalho teve como objetivo testar o monofiletismo de *Parkia* e estimar uma árvore filogenética para o gênero com base em dados do marcador cloroplastidial *trnS-trnG*. Investigamos também a evolução de alguns caracteres morfológicos úteis para distinção de clados e subclados dentro do gênero.

Tabela 1. Classificação de *Parkia* utilizada neste estudo baseada em Hopkins (1986). Números entre colchetes representam o número total de espécies e o número de espécies incluídas neste estudo.

1. Sect. *Parkia* [28/17]

2. Sect. *Platyparkia* [3/2]

3. Sect. *Sphaeroparkia* [3/3]

MATERIAIS E MÉTODOS

Táxons amostrados - Neste estudo foram amostradas 22 das 34 espécies de *Parkia*, todas as três seções descritas por Hopkins (1986) foram representadas neste estudo (Tabela 1). Para a região neotropical foram amostradas 17 espécies, os paleotropicals estão representados por seis acessos, dos quais três espécies são africanas, duas asiáticas e uma espécie de Madagascar. Como grupo externo foram amostrados os gêneros *Adenantha*, *Entada*, *Leucaena*, *Pentaclethra*, *Plathymenia* e *Prosopis*, escolhidos com base em estudos filogenéticos prévios da subfamília Mimosoideae (Luckow et al. 2003; Lewis et al. 2005;

LPWG 2013). Nomes das espécies, vouchers e acessos no GenBank estão listados no Apêndice 1.

Extração, amplificação e sequenciamento do DNA– O DNA total foi extraído de amostras de tecidos foliares frescos ou desidratados em sílica-gel, utilizando-se o protocolo CTAB 5% descrito por Oliveira et al. (em prep.). Foi selecionado o espaçador intergênico *trnS-trnG*, localizado entre os genes *trnS*^(GCU) e *trnG*^(UCC) na grande região de cópia única do DNA de cloroplasto, devido a sua alta variação interespecífica em *Parkia*. Para amplificação das amostras foram utilizados os iniciadores *trnS* (5' AAC TCG TAC AAC GAT TAG CAA TC^{3'}) e *trnG* (5' GAA TCG AAC CCG CAT CGT TAG^{3'}) descritos por Shaw et al. (2007).

As reações em cadeia polimerase (PCR) foram conduzidas em volume total de 20µl, contendo na concentração final, ~10 ng de DNA de cada amostra, 1X tampão, 1 mmol/L de MgCl₂, 10 mmol/L dNTPs, 1 pmol/L de cada iniciador e 1,5 U de *Taq* DNA polymerase (Kapa Biosystems, USA). As condições de PCR foram: 80°C por 5 min; 30 ciclos de 95°C por 1 min, 50°C, por 1 min, *ramp* de 0.3°C/s até 65°C, e 65°C por 4 min; extensão final a 65°C por 4 min, performadas em Termociclador Veriti (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA). Os produtos da PCR foram purificados por tratamento enzimático com ExoSap (Fermentas, St. Leon-Rot, Germany) e sequenciadas em sequenciador automático por eletroforese capilar ABI 3730 com kit ABI BigDye Terminator v.3.1 (Applied Biosystems Inc., Foster City, CA).

As sequências consenso foram montadas utilizando-se o programa Sequencer v.4.1 (GeneCodes Corp., Ann Arbor, Michigan, USA), o alinhamento foi feito utilizando-se a ferramenta MUSCLE (Edgar 2004) implementada no programa MEGA v.6 (Tamura et al. 2014). Os alinhamentos resultantes foram corrigidos manualmente. Estimação dos sítios variáveis e composição nucleotídica foram feitos no programa MEGA v.6 (Tamura et al.

2014). Inserções e deleções não ambíguas foram codificadas seguindo se o método de codificação de diferença simples de acordo com Simmons e Ochoterena (2000).

Análises filogenéticas—Análises de máxima parcimônia (MP) foram conduzidas no programa PAUP* v.4b.10 (Swofford 2002), as árvores foram encontradas através de busca heurística, com adição de taxa passo a passo (*stepwise addition*) e algoritmo *tree bisection and reconnection* (TBR) como método de rearranjo entre os ramos. Foram realizadas 100.000 replicações.

A análise de Inferência Bayesiana (IB, Rannala e Yang 1996; Yang e Rannala 1997) foi realizada no programa BEAST v.1.8.2 (Heled e Drummond 2010; Drummond et al. 2015). O modelo de substituição nucleotídica escolhido foi o HKY + G com base no Critério de Informação Akaike (AIC; Akaike 1974) implementado no programa JModelTest (Posada 2008). As cadeias de Monte Carlo Markov (MCMC) foram executadas duas vezes por 50.000.000 de gerações registrando os parâmetros da árvore a cada 25.000 gerações. Os resultados foram verificados no programa Tracer v. 1.6 (Rambaut e Drummond 2009). Os dados das corridas foram combinados após a exclusão de árvores executando-se o *burn-in*. O tamanho das amostras e os valores estimados (ESS) foram >200.

Evolução de caracteres morfológicos—Foram selecionados 6 caracteres (Tabela 2) com intuito de investigar a evolução de caracteres morfológicos que suportam grupos infragenéricos em *Parkia*. Esses caracteres foram descritos de acordo com as observações no material coletado, combinado com observações em coleções de herbário e dados publicados (Hopkins 1982, 1983, 1986, 1994, 2000). Os caracteres selecionados foram: tipo de inflorescência, cor das flores férteis, tipo das brácteas, franja de estaminódios, glândula na antera e tipo de deiscência dos frutos. Para reconstrução do estado de caráter ancestral, os

caracteres foram otimizados na topologia da árvore obtida pelo consenso de maioria das análises de Inferência Bayesiana, utilizando-se o Mesquite 2.01 (Maddison e Maddison, 2007). A codificação dos estados de caráter está apresentada na tabela 2.

Tabela 2. Estados de caráter utilizados em nossas análises

Estados de caráter	
1. Tipo de inflorescência	(0) três tipos funcionais de flores (1) dois tipos funcionais de flores (2) um tipo funcional de flores
2. Cor das flores férteis	(0) creme ou amarela (1) rosa ou vermelha
3. Franja de estaminódios	(0) ausente (1) reduzida (2) bem desenvolvida
4. Tipo de brácteas	(0) truncada (1) alongada
5. Glândula na antera	(0) ausente (1) estipitada (2) séssil
6. Tipo de deiscência dos frutos	(0) deiscentes (1) indeiscentes

RESULTADOS

Características das sequências—A matriz de alinhamento da região *trnS-trnG* compreende 706 pb, dos quais 469 pb (66,4%) são sítios variáveis e 243 pb (34,4%) são sítios parcimoniosos. Os níveis de variação informativa de *trnS-trnG* para *Parkia* são altos se comparados com outras regiões não-codificadoras do DNA de cloroplasto (*trnL*, *rpL32-trnL*, *trnL-F*, *trnK*, *rps16-trnK*, *psbA-trnH* e *psbD-trnT*, testadas neste estudo, Apêndice 1), além disso, o espaçador intergênico *trnS-trnG* está entre as regiões mais variáveis do DNA cloroplastidial (Shaw et al. 2007).

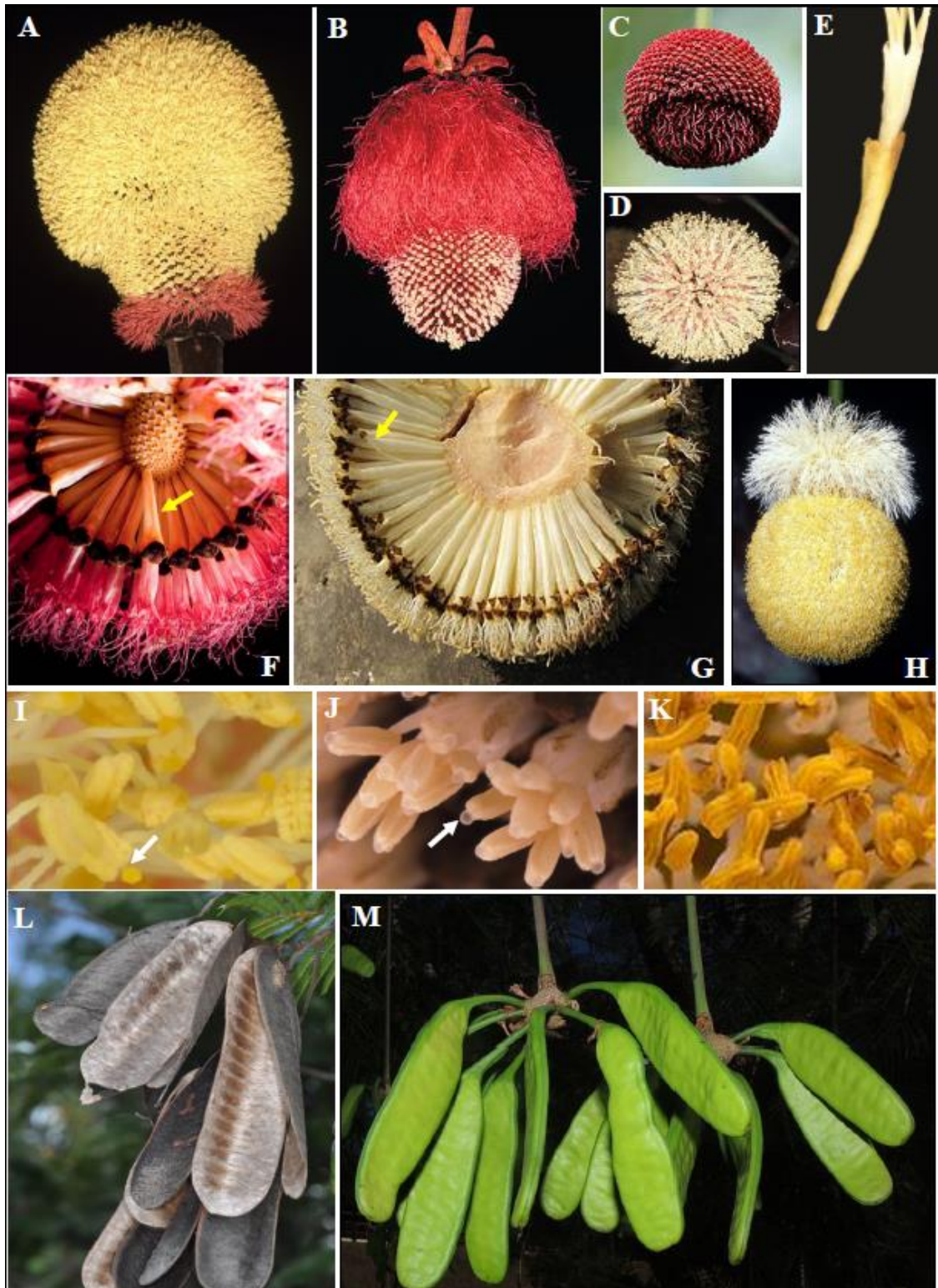


Fig.1. Imagens de *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). (A) *P. decussata*, inflorescência com flores férteis amarelas no ápice, flores nectaríferas na porção mediana e estaminódios na base; franja de estaminódios ausente (B) *P. igneiflora*, inflorescência com flores férteis vermelhas; (C) *P. platycephala*, inflorescência com flores férteis vermelhas na porção mediana até a base e flores nectaríferas no ápice; (D) *P. ulei*, capítulo com todas flores férteis; flores férteis de cor creme; (E) *P. gigantocarpa*, cálice de lobos desiguais; (F) *P. velutina*, brácteas florais truncadas; (G) *P. speciosa*, brácteas florais alongadas; (H) *P. bicolor*, franja de estaminódios pouco desenvolvida; (I) *P. multijuga*, glândulas estipitadas no ápice da antera; (J) *P. nitida*, glândulas da antera sésseis; (K) *P. speciosa*, anteras sem glândulas; (L) *P. ulei*, frutos deiscentes e (M) *P. platycephala*, frutos indeiscentes.

Análises filogenéticas—As análises de Máxima Parcimônia resultaram em 12 árvores igualmente parcimoniosas de 464 passos (CI = 0.81, RI = 0.92). As topologias das árvores encontradas tanto nas análises de Parcimônia quanto de Inferência Bayesiana foram similares. Entretanto, a resolução de alguns clados foi maior nas análises Bayesianas, portanto o consenso de maioria proveniente destas análises foi utilizado para discussão neste estudo (Fig. 2).

O monofiletismo de *Parkia* foi fortemente sustentado tanto nas análises de Parcimônia quanto nas análises Bayesianas (BS 1.0, PP 1.0). *Parkia* dividiu-se em dois clados principais fortemente sustentados (PP 1.0), representados pelas letras A e B. O clado A inclui as espécies paleotropicals (PP 1.0) e o clado B é formado pelas espécies neotropicais (PP 1.0). A análise Bayesiana foi congruente com a análise de MP na recuperação dos mesmos grupos principais. Essa análise diferiu pelo posicionamento do clado que inclui *Parkia bahiae* e *P. cachimboensis*, que nas análises de MP aparece como grupo irmão do clado que inclui *P. platycephala* e *P. pendula* e não é mantido na análise Bayesiana. Embora alguns grupos estejam fracamente suportados, as relações entre as espécies foram fortemente sustentadas em ambas as análises. Neste estudo nós focamos nossas discussões nos clados com valores de probabilidade posterior >0.97.

O relacionamento entre *Parkia* e os gêneros utilizados como grupo externo foi proposto em estudos filogenéticos baseados em dados moleculares (Luckow et al. 2003, 2005). As relações de *Parkia* com o grupo externo, ainda são obscuras, ausência de suporte na análise Bayesiana e o baixo valor de *bootstrap* na árvore de MP (BS 0.67), além da pouca representatividade de outros gêneros de Mimosoideae, nos impedem de assumir uma posição mais conclusiva. As hipóteses de parentesco entre os gêneros do grupo externo obtidas em nossas análises corroboram outros estudos filogenéticos realizados para Mimosoideae (Luckow et al. 2003; 2005).

DISCUSSÃO

Relações filogenéticas em Parkia—Todas as análises suportaram o monofiletismo de *Parkia* como circunscrito por Hopkins (1986). Hipóteses prévias de monofilia do gênero foram providenciadas por outros estudos baseados em dados morfológicos (Luckow e Hopkins 1995) e dados moleculares (Luckow et al. 2003, 2005; LPWG 2013). Nossas análises recuperaram dois clados principais dentro de *Parkia* sustentados por altos valores de probabilidade posterior (1.0).

O clado A é exclusivamente paleotropical, incluindo todas as espécies do Velho Mundo amostradas neste estudo. Morfologicamente, este clado é sustentado pela presença de frutos indeiscentes que diferenciam se daqueles encontrados nas espécies neotropicais, pela presença de valvas espiraladas e pela presença de um mesocarpo farináceo (exceto em *Parkia madagascariensis*). A inflorescência é constituída pelos três tipos funcionais de flores, os estaminódios se localizam na base do capítulo e são pouco desenvolvidos, e não há presença de franja de estaminódios, com exceção de *P. bicolor*, que apresenta uma franja reduzida. As flores nectaríferas geralmente são menores que as flores férteis e estão agrupadas na porção mediana do capítulo, numa constrição denominada de anel de néctar (Baker e Harris 1957); esta estrutura é uma sinapomorfia putativa para o clado. Biogeograficamente, estas espécies são estritamente endêmicas: *P. timoriana* e *P. speciosa* só ocorrem na região Indo-Pacífico. *Parkia bicolor*, *P. biglobosa* e *P. filicoidea* são restritas ao continente africano e *P. madagascariensis* é endêmica da ilha de Madagascar. As espécies da região Indo-Pacífico mostram uma semelhança global, especialmente nos capítulos e frutos. O conjunto de caracteres encontrado nessas espécies é semelhante ao observado nas espécies africanas. Ambas têm capítulos pendentes com franja de estaminódios reduzida ou ausente; diferem na cor das inflorescências, as flores das espécies africanas são vermelhas, enquanto as asiáticas

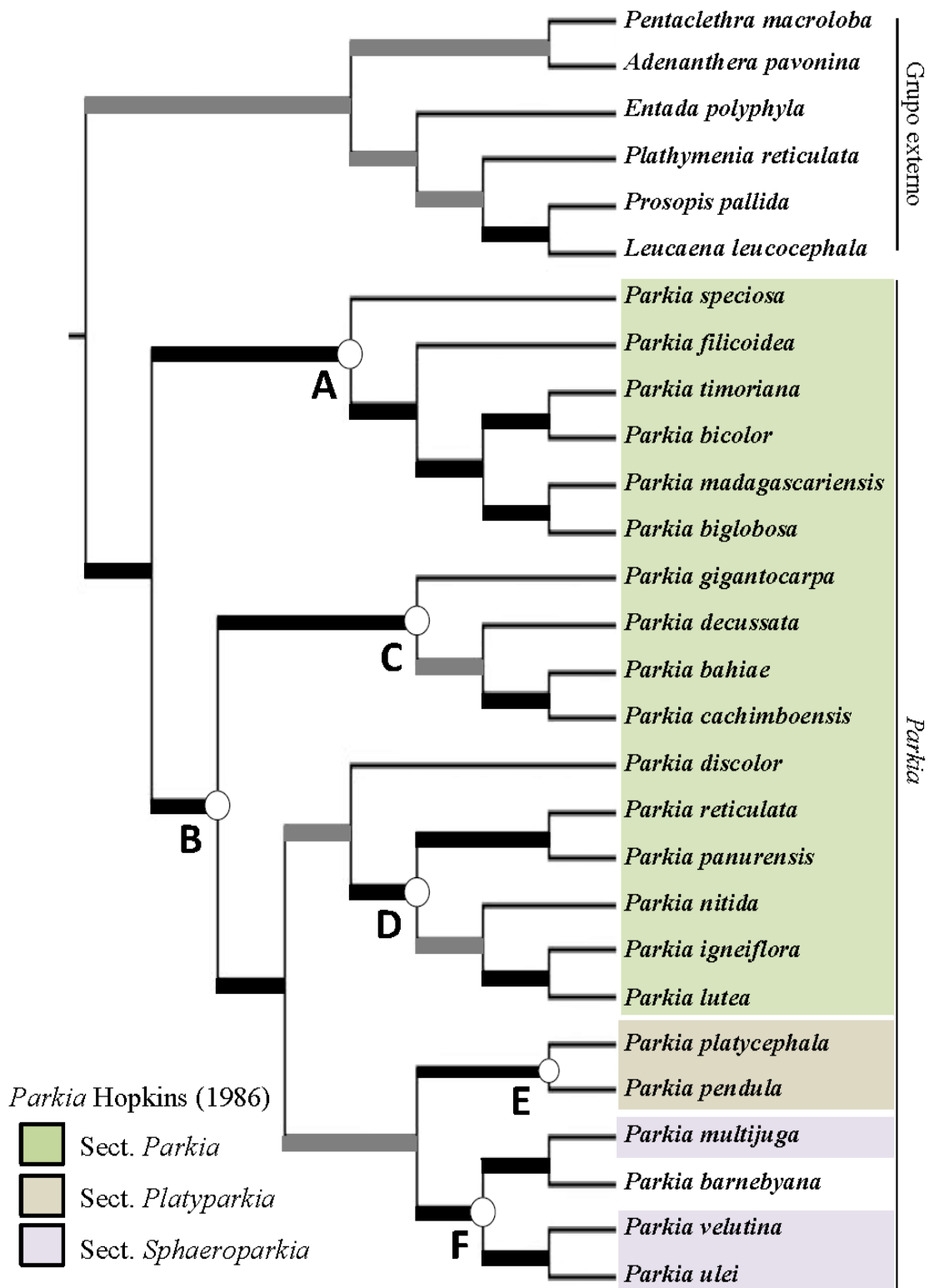


Fig. 2. Árvore de consenso de maioria derivada das análises de Bayesiana inferidas para 22 espécies de *Parkia* e gêneros relacionados, baseada na região do DNA de cloroplasto *trnS-trnG*. Ramos de cor cinza correspondem aos valores de probabilidade posterior < 0.97 e > 0.77 e ramos de cor preta correspondem aos valores de probabilidade superior > 0.97 .

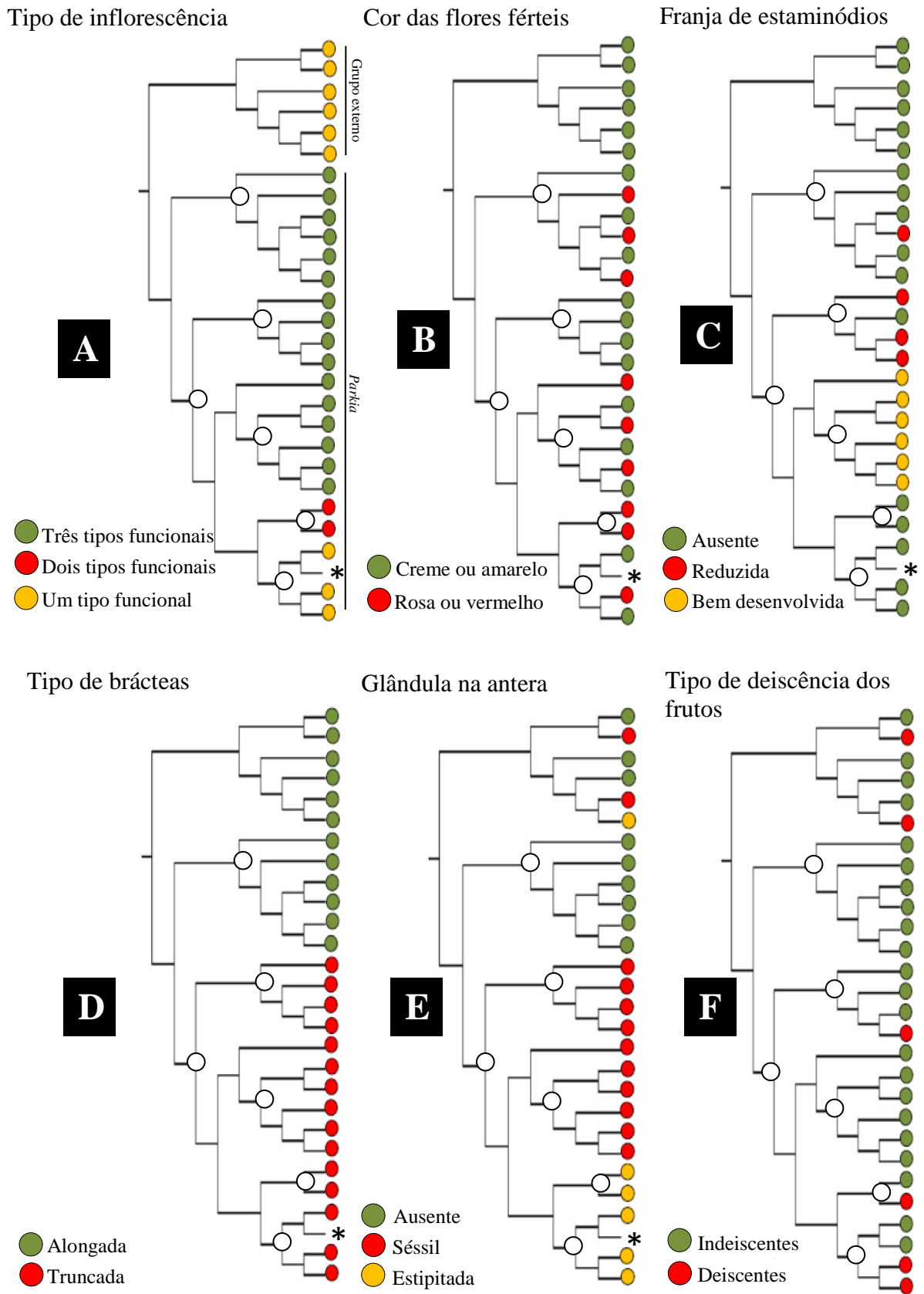


Fig. 3. Árvores de *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae) mostrando a evolução de seis caracteres morfológicos (tipo de inflorescência, cor das flores férteis, franja de estaminódios, tipo de brácteas, glândula na antera e tipo de deiscência dos frutos). Asterisco representa estado de caráter desconhecido.

têm flores amarelas (Hopkins 1994). Na região neotropical as espécies apresentam capítulos eretos com pouca ou nenhuma franja de estaminódios, ou pendentes com uma franja bem desenvolvida, e as flores são vermelhas, amarelas ou uma combinação de ambas; isso sugere que as espécies paleotropicais podem ser mais estreitamente relacionadas entre si do que com qualquer uma das espécies neotropicais (Hopkins 1983,1986, 1994).

O clado B inclui as espécies neotropicais amostradas neste estudo, aparecendo bem suportado (PP 1.0) em nossas análises. Este clado é morfologicamente eclético, incluindo as espécies com maior amplitude de variação morfológica; neste estudo o clado apresenta como sinapomorfia morfológica putativa a presença de glândula na antera.

O clado C é um subclado dentro do clado B, e surge bem suportado pelos dados moleculares (PP 1.0). Morfologicamente suas espécies apresentam inflorescências com os três tipos funcionais de flores, a franja de estaminódios é reduzida ou ausente (*Parkia decussata*) e flores férteis de cor amarela ocorrem em todas as espécies deste grupo, mas este estado de caráter não pode ser considerado uma sinapomorfia para o grupo na filogenia inferida porque é compartilhado com outras espécies. Dentro deste clado *P. cachimboensis* e *P. bahiae* aparecem como espécies-irmãs (PP 1.0); morfologicamente, apresentam pólen semelhante (Luckow e Hopkins 1995).

O clado D também é um subclado aninhado dentro do clado B, morfologicamente diagnosticado pela presença de franja de estaminódios bem desenvolvida, frutos indeiscentes e presença de uma glândula séssil na antera. As espécies deste clado são as que mais apresentam afinidade morfológica, na análise filogenética com base em dados morfológicos, feita por Luckow e Hopkins (1995) aparecem agrupadas em uma politomia.

O clado E é um subclado do clado B, e corresponde perfeitamente à circunscrição da seção *Platyparkia* (Hopkins, 1986). Em nossas análises a presença de inflorescências com dois tipos de flores funcionais aparece como sinapomorfia morfológica do clado. A relação de

Parkia pendula e *P. platycephala* é sustentada por uma série de caracteres morfológicos como capítulos clavados, flores nectaríferas distais, inserção das sementes em duas linhas, flores férteis e anteras vermelhas e pétalas livres.

O clado F é um subclado dentro do clado B e agrupa as espécies circunscritas por Hopkins (1986) na seção *Sphaeroparkia*; é facilmente diagnosticado pelas inflorescências globosas com todas as flores férteis. *Parkia barnebyana*, não foi incluída por Hopkins (2000) em nenhuma das seções taxonômicas do gênero, principalmente devido à ausência de caracteres florais. Aqui a espécie aparece neste clado como espécie irmã de *P. multijuga*, em sua descrição a autora já havia destacado a afinidade morfológica de *P. barnebyana* com as espécies da seção *Sphaeroparkia*.

Quanto à distribuição, as espécies neotropicais de *Parkia* têm se diversificado principalmente na região amazônica: das 19 espécies neotropicais, 17 são registradas para Amazônia e cerca de 7 são restritas ao bioma. Das espécies aqui amostradas, *Parkia multijuga*, *P. discolor*, *P. gigantocarpa*, *P. cachimboensis*, *P. igneiflora*, *P. panurensis* e *P. ulei* são restritas às florestas da Amazônia. *Parkia gigantocarpa* e *P. multijuga*, ocorrem em florestas de terra firme, essa última também ocorre em florestas de várzea. *Parkia ulei*, *P. cachimboensis*, *P. igneiflora* e *P. panurensis* ocorrem em campinaranas e *P. discolor* em florestas de igapó. Outras espécies como, *Parkia decussata*, *P. nitida*, *P. pendula* também ocorrem em florestas de terra firme da Amazônia, mas não são restritas a região. *Parkia platycephala* é mais comum no cerrado, e sua distribuição estende-se por todo o nordeste do Brasil, e *P. bahiae* ocorre em florestas de restinga na costa da Bahia.

Implicações taxonômicas—Em relação à classificação infragenérica proposta por Hopkins (1986), nossas análises não suportam a monofilia da seção *Parkia*, que aparece extensamente parafilética. As espécies incluídas nesta seção estão distribuídas em três linhagens, uma

incluindo as espécies paleotropicais e as demais compreendem as espécies neotropicais.

As seções *Platyparkia* e *Sphaeroparkia* aparecem agrupadas em um clado moderadamente sustentado na árvore Bayesiana (PP 0.85). *Parkia platycephala* e *P. pendula*, representantes da seção *Platyparkia*, em nossas análises aparecem como espécies irmãs em um clado fortemente sustentado (PP 1.0). A seção *Sphaeroparkia* foi recuperada como monofilética (PP 1.0), *Parkia multijuga* aparece como espécie irmã de *P. barnebyana* (PP 1.0) e *P. velutina* como espécie-irmã de *P. ulei* (PP 1.0). Embora *Parkia barnebyana* não tenha sido incluída em nenhuma das três seções, seus caracteres vegetativos e dos frutos, já haviam sido mencionados por Hopkins (2000) como semelhantes àqueles encontrados nas espécies de *Sphaeroparkia*. Aqui a espécie aparece como irmã de *P. multijuga*, dentro do clado F, em uma relação fortemente sustentada (PP 1.0)

Em um contexto filogenético as relações infragenéricas de *Parkia* já haviam sido propostas em análises de Luckow e Hopkins (1995). Essas autoras inferiram hipóteses de parentesco para 31 espécies do gênero com base em 52 caracteres morfológicos. Neste estudo, Luckow e Hopkins (1995) recuperaram as seções *Parkia* e *Platyparkia* como monofiléticas. O monofiletismo da seção *Parkia* foi sustentado pela presença de flores férteis no ápice do capítulo, e a seção *Platyparkia* foi recuperada como monofilética pela presença de flores nectaríferas no ápice da inflorescência e pelas sementes dispostas em duas linhas no fruto. A seção *Sphaeroparkia* foi considerada parafilética e a presença de inflorescência com todas as flores férteis foi tida como estado de caráter plesiomórfico.

Nossas análises apoiam a definição de novos limites seccionais dentro de *Parkia*, em particular da seção *Parkia*. Entretanto, uma amostragem taxonômica mais ampla e inclusão de mais dados são necessárias para uma nova circunscrição infragenérica do gênero.

Evolução de caracteres morfológicos—Os caracteres morfológicos analisados neste estudo

estão apresentados na Figura 1. Em nossas análises apresentaram baixos níveis de homoplasias e foram consistentes na tipificação de clados e subclados. O tipo de inflorescência foi o caráter-chave utilizado por Hopkins (1986) para delimitação dos limites seccionais dentro de *Parkia*. Em nossas análises esses caracteres não apresentaram grau de homoplasia, e foram consistentes para tipificação de alguns grupos. A presença de inflorescências com os três tipos funcionais de flores (Fig. 1B), é provavelmente uma simplesiomorfia dentro de *Parkia*, e apareceu primeiro no clado das espécies paleotropicals (clado A) e foi conservado ao longo de algumas linhagens no clado neotropical. Inflorescência com dois tipos funcionais de flores (Fig. 1A) é considerada sinapomorfia para o clado que inclui as espécies *Parkia pendula* e *P. platycephala* (clado E). A presença de inflorescências com um tipo de flores funcionais (Fig. 1D) é supostamente uma sinapomorfia para o clado que inclui as espécies *P. ulei*, *P. barnebyana*, *P. multijuga* e *P. velutina* (clado F). O padrão de cor das flores férteis foi o caráter mais homoplásico em nossas análises. Flores férteis de coloração creme ou amarela (Fig. 1A, 1C) aparecem como estado de caráter bem conservado dentro do clado C, e o padrão de coloração rosa ou vermelho (Fig. 1B, 1D) é consistente para diagnosticar o clado E, nas demais linhagens este estado caráter é extremamente homoplásico. Quanto à morfologia das brácteas florais, nossas análises evidenciam uma modificação nas brácteas do tipo truncada no clado das espécies paleotropicals (clado A) para o tipo alongada no clado das espécies neotropicals (clado B). A glândula na antera é supostamente ausente no clado das espécies paleotropicals; em nossa filogenia, este caráter aparece primeiro no clado das espécies neotropicals, e houve diferenciação do estado de caráter sésil (Fig. 1F) para estipitada (Fig. 1H) ao longo das linhagens deste clado. Franja de estaminódios reduzida (Fig. 1C) surgiu primeiro no clado das espécies paleotropicals e apareceu pelo menos mais três vezes ao longo das linhagens neotropicals. A presença de estaminódios formando uma franja bem desenvolvida (Fig. 1B) é

o estado de caráter bem conservado no clado D. O tipo de deiscência dos frutos apresentou baixo nível de homoplasia em nossas análises; frutos deiscentes (Fig. 1L) aparecem primeiro no clado C e surgem mais duas vezes dentro do clado F. Frutos indeiscentes (Fig. 1G) ocorrem na maioria das espécies de *Parkia*; apareceram primeiro no clado paleotropical, são um estado de caráter bem conservado dentro deste clado e ao longo de uma linhagem no clado neotropical (clado D), mas os frutos indeiscentes das espécies paleotropicais diferem daqueles encontrados nas espécies neotropicais pelas valvas retorcidas em forma de espiral nas espécies do Velho Mundo.

Nossos resultados confirmam o monofiletismo do gênero *Parkia* em sua atual circunscrição. Em relação a sua classificação infragenérica, apesar de nossas análises apoiarem uma revisão dos limites seccionais dentro do gênero, é necessária uma maior amostragem taxonômica, principalmente das espécies paleotropicais. Os caracteres morfológicos foram consistentes para o suporte de alguns clados e subclados, e apresentaram baixo ou nenhum nível de homoplasia em nossas análises. A ausência de valores robustos de *bootstrap* e de probabilidade posterior faz com que a relação de *Parkia* com os gêneros utilizados como grupo externo permaneça obscura.

AGRADECIMENTOS—Nós agradecemos ao André Amorim, Helen Hopkins, Mário Terra Araújo, Suzanna Costa, Ulf Mehlig, aos membros do Laboratório de Evolução Aplicada da Universidade Federal do Amazonas e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior.

LITERATURA CITADA

- Akaike, H., 1974. A new look at the statistical model identification. *IEEE Trans. Autom. Contr.* 19: 716-723.
- Baker, H.G. e B. J. Harris. 1957. The pollination of *Parkia* by bats and its attendant evolutionary problems. *Evolution* 11: 449-460.
- Bentham, G. 1875. Revision of suborder Mimoseae. *Transactions of the Linnaean Society London* 30: 335-664.
- Brown, R. 1826. Appendix pages. Pp. 206-246 in D. Denham & H. Clapperton. *Narrative of travels and discoveries in northern and central Africa.*
- Drummond, A.J., e A. Rambaut. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology* 7: 214 .
- Drummond, A.J., M.A. Suchard, D. Xie e A. Rambaut. 2012. Bayesian phylogenetics with BEAUti and the BEAST 1.8.2. *Molecular Biology and Evolution* 29: 1969-1973.
- Ducke, A. 1949. *Schrankia, Mimosa*. In: Notas sobre a flora neotrópica. II: As Leguminosas da Amazônia brasileira. 2º ed. Revisada e aumentada. *Boletim técnico do Instituto de Pesquisas e Experimentação Agropecuárias do Norte* 18: 53-58.
- Edgar, R.C., 2004. MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research* 32: 1792-1797.
- Heled, J., e A.J. Drummond. 2010. Bayesian inference of species-trees from multilocus data. *Molecular Biology and Evolution* 27: 570-580.
- Holmgren, P.K., e N.H. Holmgren. 2004. Online edition of Index Herbariorum (<http://www.nybg.org/bsci/ih/>). New York Botanical Garden Website, Bronx.
- Hopkins, H.C.F. 1982. Three new species of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae from tropical south America. *Brittonia* 34(3): 346-350.
- . 1983. The taxonomy, reproductive biology, and economic potential of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae) in Africa and Madagascar. *Botanical Journal of the*

- Linnean Society* 87: 135-167.
- . 1984. Floral biology and pollination ecology of the neotropical species of *Parkia*.
Journal of Ecology 72: 1-23.
- . 1986. *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae): Flora Neotropica 43: 1-123.
- . 1994. The Indo-Pacific species of *Parkia* (Leguminosae: Mimosoideae). *Kew
Bulletin* 49: 181-234.
- . 2000. *Parkia barnebyana* (Leguminosae: Mimosoideae), a new species from
Venezuelan Guyana. *Kew Bulletin* 55(1): 133-136.
- Juchum, F. do S. 2007. Análise filogenética das variantes morfológicas foliares de
Caesalpinia echinata Lam. (pau-brasil) na região sul baiana com base em sequências
de DNA. Dissertação de mestrado. Ilhéus, BA. Universidade Estadual de Santa Cruz.
- Legume Phylogeny Working Group; Bruneau, A, J.J. Doyle, P. Herendeen, C.E. Hughes, G.
Kenicer, G. Lewis, B. Mackinder, T.R. Pennington, M.J. Sanderson, M.F.
Wojciechowski, E. Koenen, et al. 2013. Legume phylogeny and classification in the
21st century: progress, prospects and lessons for other species-rich clades. *Taxon*
62(2):217-248.
- Lewis, G., B.D. Schrine, B.A. Mackinder e M. Lock. 2005. *Legumes of the world*. Kew:
Royal Botanic Gardens. p. 1-12.
- Luckow, M. e H.C.F. Hopkins. 1995. A cladistic analysis of *Parkia* (Leguminosae:
Mimosoideae). *American Journal of Botany* 82: 1300-1320.
- Luckow, M. e J. Grimes. 1997. A survey of anther glands in the Mimosoid Legume tribes
Parkieae and Mimoseae. *American Journal of Botany* 84(3):285-297.
- Luckow, M., P.J. White, e A. Bruneau. 2000. Relationships Among the Basal Genera of
Mimosoid Legumes. In: P. S. Herendeen & A. Bruneau (Eds.) *Advances in Legume
Systematics*, part 9, p. 165-180.

- Luckow, M., J. Miller, D. Murphy, e T. Livshultz. 2003. A phylogenetic analysis of the Mimosoideae (Leguminosae) based on chloroplast DNA sequence data. In: Klitgaard, B.B. & Bruneau, A. (Eds.). *Advances in Legume Systematics*, part 10, Higher level systematics: 197-220.
- Luckow, M. 2005. Tribe Mimoseae. In: G. Lewis, B. Schrire, B. Makinder & M. Lock, *Legumes of the World*. Royal Botanic Gardens, Kew. P. 163-183.
- Maddison, W.P., e D.R. Maddison. 2007. Mesquite: A modular system for evolutionary analysis. Version 2.01, website <http://mesquiteproject.org> .
- O'Grady, P.M. 1999. Reevaluation of phylogeny in the *Drosophila obscura* species group based on combined analysis of nucleotide sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 12(2): 124-139.
- Oliveira, L.C., D.P. Rodrigues e M.J.G. Hopkins. Em prep. A protocol for extraction of DNA from species of Fabaceae (Juss.), with high levels of secondary compounds and polysaccharides in the Amazon region. Pp 1-10.
- Posada, D. 2008. JModeltest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*: 1253-1256.
- Rambaut, A. e A. J. Drummond. 2007. Tracer v1.4, website <http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>.
- Rannala, B. e Z. Yang. 1996. Probability distribution of molecular evolutionary trees: a new method of phylogenetic inference. *Journal Molecular Evolution* 43: 304-311.
- Schrire, B.D., M. Lavin e G.P. Lewis. 2005. Global distribution patterns of the Leguminosae: Insights from recent phylogenies. *Biologiske Skrifter* 55 : 375-422 .
- Shaw, J., E.B. Lickey, E.E. Schilling e R.L. Small. 2007. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: The tortoise and the hare III. *American Journal of Botany* 94: 275-288.
- Simmons, M. P. e H. Ochoterena. 2000. Gaps as characters in sequence-based phylogenetic

analyses. *Systematic Biology* 49 : 369-381 .

Swofford, D.L. 2002. PAUP* Phylogenetic analysis using parsimony version (*and other methods), v.4.0 beta 10; Sunderland: Sinauer Associates.

Tamura, K., J. Dudley, M. Nei e S. Kumar. 2007. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 24: 1596-1599.

Yang, Z. e B. Rannala. 1997. Bayesian phylogenetic inference using DNA sequences: a Markov chain Monte Carlo method. *Molecular Biology and Evolution* 14, 717-724.

Apêndice 1. Lista do material utilizado neste estudo. Dados depois da espécie correspondem à origem geográfica, voucher/herbário. Acrônimos para herbários: CEPEC = Centro de Pesquisas do Cacau; HUFMA = Herbário da Universidade Federal do Maranhão; INPA = Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; K= Royal Botanical Garden; MG = Museu Goeldi; PERD = Parque Estadual do Rio Doce.

Táxon	Voucher
	Origem: Coletor (Herbário)
<i>Adenanthera pavonina</i> L.	Brasil: Oliveira 14 (PERD)
<i>Entada polyphyla</i> Benth.	Brasil: Oliveira 23 (PERD)
<i>P. bahiae</i> H.C.Hopkins	Brasil: Amorim 8574 (CEPEC)
<i>P. barnebyana</i> H.C.Hopkins	Brasil: Hopkins 1902 (INPA)
<i>P. bicolor</i> A.Chev.	Gana: Ameka 223 (K)
<i>P. biglobosa</i> (Jacquin) R.Br	Burkina Faso: Teklehaima 219 (K)
<i>P. cachimboensis</i> H.C.Hopkins	Brasil: Hopkins (INPA)
<i>P. decussata</i> Ducke	Brasil: Oliveira 93 (INPA)
<i>P. discolor</i> Spruce ex Benth.	Brasil: Oliveira 94 (INPA)
<i>P. filicoidea</i> Oliv.	República do Quênia: Robertson 7287 (K)
<i>P. gigantocarpa</i> Ducke	Brasil: Hopkins (MG)
<i>P. igneiflora</i> Ducke	Brasil: Oliveira 95 (INPA)
<i>P. lutea</i> H.C.Hopkins	Brasil: Hopkins (INPA)
<i>P. madagascariensis</i> R.Vig.	Madagascar: Ameka (K)
<i>P. multijuga</i> Benth.	Brasil: Oliveira 86 (INPA)
<i>P. nitida</i> Miq.	Brasil: Oliveira 97 (INPA)
<i>P. panurensis</i> Benth. ex H.C.Hopkins	Brasil: Oliveira 83 (INPA)
<i>P. pendula</i> (Willd.) Benth. ex Walp.	Brasil: Oliveira 70 (INPA)
<i>P. platycephala</i> Benth.	Brasil: Chaves (HUFMA)
<i>P. reticulata</i> Ducke	Brasil: Mehlig 605 (INPA)
<i>P. speciosa</i> Hassk	Singapura: SBG (K)
<i>P. timoriana</i> (DC.)Merr.	Singapura: SBG 467 (K)
<i>P. ulei</i> (Harms) Kuhlman	Brasil: Oliveira 84 (INPA)
<i>P. velutina</i> Benoist	Brasil: Oliveira 76 (INPA)
<i>Pentaclethra maculosa</i> (Willd.) Kuntze	Brasil: Oliveira 92 (INPA)
<i>Plathymenia reticulata</i> Benth.	Brasil: Oliveira 55 (PERD)
<i>Prosopis pallida</i> (Willd.) Kunth.	Brasil: Oliveira 57 (PERD)
<i>Leucaena leucocephala</i> (Lam.) de Wit.	Brasil: Oliveira 100 (INPA)

Apêndice 2. Marcadores moleculares testados para este estudo; tamanho do alinhamento e número de sítios informativos em pares de bases (pb).

Região	Tam. do alinhamento	Sítios informativos
<i>trnK</i>	674 pb	113 pb
<i>trnL</i>	433 pb	8 pb
<i>trnL-trnF</i>	506 pb	10 pb
<i>psbD-trnT</i>	654 pb	23 pb
<i>psbA-trnH</i>	403 pb	37 pb
<i>rps16-trnK</i>	804 pb	519 pb
<i>rpl32-trnL</i>	483 pb	45 pb
<i>trnS-trnG</i>	706 pb	243 pb

Apêndice 3. Árvore de consenso estrito das análises de máxima parcimônia inferidas para 22 espécies de *Parkia* e gêneros relacionados, baseada na região do DNA de cloroplasto *trnS-trnG*. Ramos de cor cinza correspondem aos valores de *bootstrap* < 97% e > 64%, e ramos de cor preta correspondem aos valores > 97%.

