

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS – UNICAMP
INSTITUTO DE BIOLOGIA – IB
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL – PPGBV

PROJETO DE DOUTORADO

**Estudos filogenéticos, evolutivos e biogeográficos na tribo
Cryptangieae (Cyperaceae)**

Msc. Suzana Maria dos Santos Costa (doutoranda)
Profa. Dra. Maria do Carmo E. do Amaral (orientadora)

Campinas - SP
Fevereiro de 2014

RESUMO

Cyperaceae é uma família cosmopolita que ocorre em diversos tipos de ambientes, desde formações campestres, onde seu papel ecológico é mais reconhecido, a formações florestadas. Filogenias moleculares recentes esclareceram relações infra-familiares em Cyperaceae, mas a amostragem das tribos é irregular e algumas relações mais rasas apresentaram baixo suporte. Entre as tribos menos amostradas encontra-se Cryptangieae, que compreende espécies com espiguetas e flores unissexuadas e perianto geralmente composto por três escamas hipóginas fimbriadas opostas aos lados do aquênio. O status monofilético de Cryptangieae é ainda duvidoso, uma vez que nas filogenias moleculares da família não foi amostrada toda a diversidade da tribo. Revisões taxonômicas dos gêneros de Cryptangieae foram feitas na última década, mas não foram realizadas análises moleculares; mantendo incerta a relação de Cryptangieae com outras tribos de Cyperaceae e entre seus gêneros. As espécies da tribo ocorrem desde a América Central, em Cuba, até regiões ao sul da América do Sul e apresentam como centros de diversidade as terras altas do Escudo das Guianas e as serras do sudeste brasileiro. A história biogeográfica do grupo ainda não foi extrapolada de hipóteses filogenéticas para a tribo, o que mantém a área ancestral da tribo e padrões de diversificação geográfica desconhecidos para Cryptangieae. A tribo engloba plantas com caracteres vegetativos e reprodutivos singulares. A formação de cáudex e a possível presença de velame nas raízes adventícias de espécies arborescentes, especialmente distribuídas no Escudo das Guianas e ambientes rochosos, não foram largamente estudadas. Também na tribo são encontradas plantas monóicas, com diferentes níveis de separação das espiguetas masculinas e femininas, e dioicas e muitas vezes dimorfismo entre ramos de diferentes sexos; entretanto, a relação dessas características com a polinização anemófila atribuída aos representantes da tribo não foi analisada. A reconstrução da evolução desses e outros caracteres darão evidências sobre a utilidade taxonômica dos mesmos e quais características representam convergências adaptativas para os ambientes de ocorrência da tribo. Hipóteses filogenéticas e as subsequentes análises biogeográficas e reconstrução da evolução dos caracteres podem esclarecer: 1) o status filogenético (monofilético, parafilético, polifilético) e a relação de Cryptangieae com outras tribos de Cyperaceae; 2) o status filogenético e a relação entre os gêneros de Cryptangieae; 3) determinação da área ancestral e padrões de diversificação geográfica de Cryptangieae e seus gêneros; 4) caracteres com potencial taxonômico para Cryptangieae e seus gêneros; 5) caracteres adaptativos para ambientes de ocorrência em Cryptangieae e sua evolução. Serão realizados estudos moleculares com os representantes de Cryptangieae provavelmente usando os seguintes marcadores moleculares: *rbcL*, *ndhF*, *trnL*, ETS e ITS. Serão geradas hipóteses filogenéticas segundo análises estatísticas adequadas e uma dessas hipóteses servirá como base para os estudos biogeográficos e reconstrução da evolução de caracteres. Uma sinopse taxonômica, munida de descrições sucintas, chaves de identificação, comentários taxonômicos e geográficos e ilustrações, será elaborada destacando possíveis rearranjos decorrentes das análises filogenéticas.

Palavras-chave: *Cephalocarpus*, *Cryptangium*, *Everardia*, *Didymiandrum*, *Lagenocarpus*

INTRODUÇÃO

A. Circunscrição taxonômica e relações de parentesco infra- e intergenéricas em Cryptangieae

Cyperaceae apresenta distribuição cosmopolita, engloba mais de 100 gêneros e é terceira maior família entre as monocotiledôneas, com cerca de 5500 espécies (Govaerts *et al.* 2007). Seus representantes são comumente lembrados por habitar locais de solos alagados e corpos d'água, mas alguns gêneros e espécies ocorrem em locais secos e/ou rochosos (Goetghebeur 1998).

Do ponto de vista ecológico, as espécies de Cyperaceae apresentam importante papel na ciclagem de nutrientes em diversas formações vegetais, valor especialmente reconhecido em regiões de clima frio. Tem utilidade econômica positiva geralmente de uso local, servindo de matéria-prima para artesanatos e construções, papelaria e perfumaria, além de uso alimentício e medicinal (Simpson & Inglis 2001); entretanto algumas espécies são reportadas como invasoras de culturas e áreas urbanas (Kissmann 1997; Simpson & Inglis 2001; Lorenzi 2008).

Baseando-se em caracteres morfológicos, Goetghebeur (1998) sugere a distinção de quatro subfamílias (Mapanioideae, Sclerioideae, Caricoideae e Cyperoideae) e 15 tribos em Cyperaceae. Na subfamília Sclerioideae, distinguem-se quatro tribos (Cryptangieae, Trilepideae, Bisboeckelereae e Sclerieae) e dois gêneros *incertae sedis*, *Exochogyne* C.B. Clarke e *Koyamaea* W.W. Thomas & Davidse (Goetghebeur 1998).

A tribo Cryptangieae engloba espécies com espiguetas e flores unissexuadas, geralmente com glumas espiraladas e apresentando três escamas hipóginas fimbriadas como perianto (Goetghebeur 1998). A circunscrição da tribo varia pouco, mas os limites dos seus gêneros são confusos, ainda que o reconhecimento morfológico seja facilitado por caracteres conspícuos como a presença/ausência de cáudex (caule fino perene, mais ou menos lignificado, recoberto por bainhas velhas remanescentes e frequentemente entremeado por raízes adventícias; Goetghebeur 1998), características da espiguetas e perianto e monoícia/dioícia das plantas (Goetghebeur 1998; Koyama 2003, 2004; Vitta 2005) (Tabela 1).

Tabela 1 – Caracteres diagnósticos dos gêneros de Cryptangieae baseados em Goetghebeur (1998), Koyama (2003, 2004) e Vitta (2005).

Gênero/Carácter	Cáudex	Inflorescência	Disposição das glumas	Monoícia/dioícia	Perianto
<i>Cephalocarpus</i> Nees	Presente	Congesta	Espiralada	Monoícia	Escamas hipóginas (3)
<i>Everardia</i> Ridl.	Presente	Laxa	Espiralada	Monoícia e dioícia	Escamas hipóginas (3)
<i>Exochogyne</i> C.B. Clarke	Ausente	Laxa	Dística	Monoícia	Ausente
<i>Lagenocarpus</i> Nees (incl. <i>Cryptangium</i>)	Ausente	Laxa	Espiralada, subdística	Monoícia e dioícia	Escamas hipóginas (3)

Os gêneros *Cephalocarpus* Nees, *Everardia* Ridl. e *Lagenocarpus* Nees incl. *Cryptangium* são geralmente aceitos pelos especialistas como parte de Cryptangieae (Goetghebeur 1998; Koyama 2003, 2004; Vitta 2005). A inclusão de *Exochogyne* C.B. Clarke é menos coesa, sendo aceito na

tribo como gênero (Vitta 2005) ou incluso em *Lagenocarpus* (Koyama 2004) ou ainda mantido *incertae sedis* e fora de Cryptangieae (Goetghebeur 1998).

As plantas da tribo são majoritariamente monóicas e apresentam geralmente espiguetas masculinas basais e femininas apicais na inflorescência, embora sejam conhecidas inversões nesse padrão, com espiguetas masculinas apicais e femininas basais (p.ex.: *Lagenocarpus inversus* C.B. Clarke, *Exochogyne amazonica* C.B. Clarke) (Goetghebeur 1998; Koyama 2003, 2004; Vitta 2005). A dioicia aparece em algumas espécies (*Lagenocarpus celiae* T. Koyama & Maguire,) (Koyama 2003, 2004; Vitta 2005) e já foi utilizada como caráter diagnóstico de gêneros da tribo atualmente desfeitos (*Didymiandrum*; Gilly 1941).

A circunscrição de *Lagenocarpus* varia entre os tratamentos, de modo a incluir diferentes táxons de Cryptangieae. Segundo proposta mais recente, *Lagenocarpus* inclui 26 espécies, entre elas *Lagenocarpus amazonicus* (C.B. Clarke) H. Pfeiff. (= *Exochogyne amazonica* C.B. Clarke) (Koyama 2004). *Lagenocarpus sensu* Koyama (2004) engloba espécies monóicas e dióicas, com folhas basais ou caulinares e inflorescências compostas por inflorescências parciais do tipo panícula, fascículo ou umbeliforme, de maneira geral masculinas na base e femininas no ápice. No tratamento inédito de Vitta (2005) para *Lagenocarpus*, o autor considera *Cryptangium* e *Exochogyne* como gêneros independentes e *Lagenocarpus* passa a conter 12 espécies. *Lagenocarpus sensu* Vitta (2005) inclui espécies sem formação de cáudex, com folhas basais em roseta, espiguetas lateralmente comprimidas, glumas subdísticas, 1(4-5) estames e secção transversal do fruto circular. *Cryptangium sensu* Vitta (2005) engloba 14 espécies: sem formação de cáudex, folhas basais ausentes ou raramente 1-3 sem a formação de roseta, espiguetas ovóides ou elipsoides, glumas espiraladas, 2(3) estames e secção transversal do fruto trígono.

Segundo Koyama (2003), *Everardia* inclui ca. 10 espécies que apresentam cáudex, inflorescências axilares e em panículas laxas e aquênios com ápice cônico (Gilly 1941a; Koyama 2003). *Cephalocarpus* atualmente inclui quatro espécies (Koyama 2003; Kearns 1998); seus indivíduos possuem cáudex, ramos florais axilares, capitados e congestos e aquênio com ápice clavado (Gilly 1942; Koyama 2003). Analisando o trabalho de Koyama (2003), Vitta (2005) sugere que dois táxons tratados como *Lagenocarpus* sejam transferidos para *Everardia*: *L. glomerulatus* Gilly e *L. pendulus* T. Koyama. Essa transferência foi justificada por Vitta (2005) pela formação de cáudex, arranjo das folhas, número de estames e características do aquênio; caracteres que melhor se adequam àquelas descritas para *Everardia* (Koyama & Maguire 1965).

Didymiandrum foi segregado de *Cryptangium* por Gilly (1941b), pela inserção subverticilada das folhas e dioicia das plantas. Esse autor reconhece as espécies *Didymiandrum stellatum* (Bökl.) Gilly e *D. flexifolium* Gilly; esta última posteriormente transferida para *Everardia* (= *Everardia flexifolia* (Gilly) T. Koyama & Maguire; Koyama & Maguire 1965). Goetghebeur (1998) aceita esse gênero monoespecífico, representado por *Didymiandrum stellatum* (Bökl.) Gilly., mas atualmente a espécie é reconhecida ora como *Lagenocarpus stellatus* (Boeck.) Kuntze (*sensu* Koyama 2004), ora como *Cryptangium stellatum* Boeck. (*sensu* Vitta 2005).

Exochogyne possui apenas uma espécie, *Exochogyne amazonica* C.B. Clarke (Kearns *et al.* 1998). Apresenta morfologia diferenciada dentro da tribo, com glumas de disposição dística, ovário bicarpelar lateralmente comprimido e ausência de escamas periânticas. Koyama (2004) considera-o parte de *Lagenocarpus*, sob o nome *Lagenocarpus amazonicus* (C.B. Clarke) H. Pfeiff. Vitta (2005) não estudou a espécie provavelmente por considerá-la espécie de *Exochogyne*. Na lista mundial mais recente de espécies de Cyperaceae, a espécie é citada como *Lagenocarpus amazonicus*

(Govaerts *et al.* 2007).

As circunscrições díspares apresentadas nas revisões de gêneros de Cryptangieae têm gerado inconsistências em listagens da família. Na lista de Cyperaceae do Brasil (Alves *et al.* 2009), por exemplo, há uma apresentação mista entre a proposta de Vitta (2005) e de Koyama (2004) para *Lagenocarpus* e *Cryptangium* (Apêndice A); embora os autores afirmem seguir a circunscrição de Vitta (2005), *Cryptangium verticillatum* (Spreng.) Vitta é listado como *Lagenocarpus verticillatus* (Spreng.) T. Koyama & Maguire. Mesmo estudos recentes realizados em Cyperaceae a nível global apresentam incoerências, como o nome *Didymiandrum stellatum* (Boeck.) Gilly listado entre as espécies amostradas de Muasya *et al.* (2009) e Hinchliff & Roalson (2013).

Filogenias moleculares baseadas em diversos conjuntos de marcadores e táxons esclareceram a relação em diferentes níveis em Cyperaceae (Simpson *et al.* 2007, Muasya *et al.* 2009; Hinchliff & Roalson 2013; Jung & Choi 2013), como reconhecimento de apenas duas subfamílias: 1. Mapanioideae, mantida com as mesmas tribos e; 2. Cyperoideae, contendo representantes das demais subfamílias e tribos descritas em Goetghebeur (1998) (*incl.* tribo Cryptangieae) (Tabela 2). Nesse contexto, a revisão da circunscrição e relações entre as tribos em Cyperoideae é necessária (Muasya *et al.* 2009).

Tabela 2 – Comparação das classificações de Cyperaceae de acordo com Goetghebeur (1998) e Simpson *et al.* (2008) e Muasya *et al.* (2008 [2009]) [retirado de Nagels *et al.* (2009)].

Goetghebeur (1998)	Simpson et al. (2008) Muasya et al. (2008)
Subfamily Mapanioideae	Subfamily Mapanioideae
1. Hypolytreae (+ <i>Exocarya</i> , <i>Capitularina</i>)	1. Hypolytreae
2. Chrysitricheae (+ <i>Hellmuthia</i>)	2. Chrysitricheae (+ <i>Exocarya</i> , <i>Capitularina</i>)
Subfamily Cyperoideae	Subfamily Cyperoideae
1. Scirpeae	1. Scirpeae
2. Fuireneae	2. Fuireneae
3. Eleocharideae	3. Eleocharideae
4. Abildgaardieae	4. Abildgaardieae (+ <i>Arthrostylis</i> , <i>Actinoschoenus</i> , <i>Trachystylis</i>)
5. Cypereae	5. Cypereae (+ <i>Hellmuthia</i>)
6. Dulichieae	6. Dulichieae
7. Schoeneae (+ <i>Arthrostylis</i> , <i>Actinoschoenus</i> , <i>Trachystylis</i> , <i>Rhynchospora</i>)	7. Schoeneae
	8. Rhynchosporae
Subfamily Sclerioideae	
1. Cryptangieae (– <i>Exochogyne</i>)	9. Cryptangieae (+ <i>Exochogyne</i>)
2. Trilepideae	10. Trilepideae
3. Sclerieae	11. Sclerieae
4. Bisboeckelereae	12. Bisboeckelereae
Subfamily Caricoideae	
1. Cariceae	13. Cariceae

No estudo filogenético de Muasya *et al.* (2009), foram amostradas apenas três espécies

[questionavelmente] pertencentes a três gêneros de Cryptangieae. No cladograma apresentado, a tribo aparece mais proximamente relacionada ao clado [Schoeneae + frações de Sclerieae + Bisboeckelereae], precedidos pelos seguintes clados [subfam. Mapanoideae [Trilepideae + frações de Sclerieae]]. Além de outras pequenas modificações na circunscrição de tribos, Muasya *et al.* (2009) propõem a inserção de *Exochogyne* em Cryptangieae. Hinchliff & Roalson (2013) usaram uma compilação de sequências de vários marcadores disponíveis em bancos públicos para Cyperaceae e situaram o clado [Schoeneae + Cryptangieae] como clado-irmão das linhagens subsequentes de Cyperaceae, sendo este clado “precedido” por [Mapanoideae + [Trilepideae [Sclerieae + Bisboeckelereae]]]; sugerindo a inclusão dos representantes de Cryptangieae em Schoeneae.

Outras filogenias moleculares recentes de Cyperaceae estudaram clados mais ricos em espécies e com distribuição mais ampla, como: *Cariceae* (Hendrichs *et al.* 2004; Ford *et al.* 2006, Roalson & Friar 2004, Roalson *et al.* 2001, Starr *et al.* 2004, 2009; Waterway *et al.* 2007); *Cypereae* (Larridon *et al.* 2011a, 2011b, 2013); e *Eleocharis* e gêneros próximos (Hinchliff & Roalson 2009; Hinchliff *et al.* 2010; Roalson & Friar 2000; Roalson 2010; Yano *et al.* 2004); ou aumentaram a abrangência amostral para a família, sem obter resultados muito diferentes dos supracitados para membros de Cryptangieae (Jung & Choi 2013).

Como exposto acima, a circunscrição da tribo Cryptangieae não é fortemente debatida, embora existam indícios sobre a natureza polifilética da tribo. Nos trabalhos de Koyama (2003, 2004), seus gêneros são apontados como próximos a gêneros e tribos diferentes: *Cephalocarpus* e *Everardia* relacionados à *Microdracoides* (Trilepideae) (Koyama 2003) enquanto *Lagenocarpus* (incl. *Cryptangium* e *Exochogyne*) relacionado à Gahnieae [=Schoeneae *sensu* Goetghebeur (1998)] (Koyama 2004).

Estudos moleculares têm o potencial esclarecer se Cryptangieae é um grupo monofilético e sobre a delimitação da tribo e de seus gêneros, mas a amostragem atual é ainda insatisfatória (Muasya *et al.* 2009; Hinchliff & Roalson 2013); não somente pelo baixo número de espécies amostradas mas também por estas não abrangerem a diversidade apontada para a tribo. As espécies amostradas, nomeadamente *Lagenocarpus albo-niger*, *Exochogyne amazonica* e *Didymiandrum stellatum*, podem pertencer a um mesmo gênero, *Lagenocarpus*, a depender da circunscrição adotada, inviabilizando maiores debates. Nesse contexto, a realização de um estudo filogenético molecular para Cryptangieae torna-se necessário.

B. Análises de morfo-anatômica e reconstrução da evolução de caracteres em Cryptangieae

Embora seja lembrada por ocupar ambientes aquáticos e formações abertas, Cyperaceae engloba espécies com diferentes preferências ecológicas, ocorrendo também no interior de florestas, além de bordas e clareiras, em áreas de solo arenoso e seco e em formações rochosas. Suas espécies de Cryptangieae ocorrem em áreas abertas ou arborizadas, em áreas de solo alagado e rico em matéria orgânica, em solo arenoso ou em substrato rochoso (Goetghebeur 1998; Koyama 2003, 2004; Vitta 2005). Por trás dessa variedade de habitats encontra-se uma série de características morfo-anatômicas e fisiológicas em estruturas vegetativas e reprodutivas que permitem a colonização e manutenção das populações nesses ambientes.

Entre as características interessantes já relatadas para a Cyperaceae há a formação de velame em raízes adventícias de espécies arborescentes (com formação de cáudex), mais relacionadas a

ambientes rochosos (Porembski & Barthlott 1995, 2000). A presença de velame nessas raízes pode aumentar a capacidade de absorção de água pelos indivíduos, como amplamente reconhecido em espécies epífitas de Orchidaceae, além de servir como proteção do cáudex contra o fogo (Porembski & Barthlott 1995; Porembski 2000). O cáudex é uma estrutura vertical e acima do solo (Goetghebeur 1998; Porembski & Barthlott 1995), composta por um caule fino recoberto por bainhas de folhas velhas e raízes adventícias e que pode alcançar metros de altura acima do solo (Porembski & Barthlott 1995; Porembski 2006, 2007). Cyperaceae arborescentes ocorrem em sua maioria em ambientes rochosos (Porembski & Barthlott 1995; Porembski 2006) e estão inseridas nas seguintes tribos (Goetghebeur 1998; Porembski & Barthlott 1995; Porembski 2006): Trilepideae, Cryptangieae e Albdigaardieae. Em Cryptangieae a formação de cáudex já foi utilizada na distinção de gêneros (Koyama & Maguire 1965; Koyama 2003, 2004; Vitta 2005), embora algumas inconsistências sejam relatadas (Vitta 2005).

Em Cyperaceae algumas espécies apresentam polinização entomófila, mas a maioria parece ser polinizada pela ação do vento e apresenta as características típicas de tal síndrome, como (Goetghebeur 1998): flores diminutas e numerosas, ramos estigmáticos longos, anteras exertas e grande produção de pólen, além de ocorrer principalmente em ambientes sujeitos à ação do vento.

Especialmente devido ao suposto “desperdício” de grãos de pólen, esse tipo de polinização foi visto como um processo aleatório e pouco eficaz. Entretanto, estudos têm demonstrado que espécies anemófilas apresentam características que aprimoram a liberação (função masculina) e captura (função feminina) de pólen. Essa organização envolve muitas vezes a alocação de recursos em partes masculinas e/ou femininas de acordo com condições ambientais (Ainsworth 2000; Friedman & Barret 2011), grau de difusão/congestão da inflorescência e separação espacial ou temporal dos sexos (Ackerman 2000; Ainsworth 2000; Friedman & Harder 2004; Niklas 1981; Pickup & Barrett 2013). Assim como plantas polinizadas por animais, espécies anemófilas possuem diferentes maneiras para promover a polinização cruzada, tais como (Culley *et al.* 2002; Friedman & Barrett 2009; Friedman 2011): hercogamia, dicogamia, dioiccia e auto-incompatibilidade.

Cryptangieae é uma tribo composta por espécies provavelmente anemófilas e com flores unissexuadas (Goetghebeur 1998). Nessa tribo encontram-se espécies com inflorescências diversamente estruturadas (escapos mais ou menos compridos que as folhas, inflorescências congestionadas e capitadas a paniculadas e laxas, com diferentes níveis de separação espacial, e provavelmente temporal, de flores masculinas e femininas e muitas vezes flexibilidade diferenciada dos eixos de paracládios) e plantas monóicas e dióicas (Koyama 2003, 2004; Vitta 2005).

A “frutificação” de Cryptangieae foi descrita por Koyama & Maguire (1975) como um utrículo que envolve e se adere total ou parcialmente à parede do aquênio (“*Lagenocarpus-type*”). Entretanto, essa interpretação parece ser equivocada e Vitta (2005) identifica as “frutificações” em *Lagenocarpus* e *Cryptangium* (*sensu* Vitta 2005) como aquênios típicos da família, desconsiderando a existência de utrículo, que é na verdade a exocarpo do aquênio, e admitindo as escamas hipóginas como estruturas periânticas. Ainda em Vitta (2005) são reconhecidas diversas características anatômicas do aquênio como importantes para a taxonomia do grupo, como a forma do aquênio no corte transversal e características dos feixes fundamental e placentários.

A análise cuidadosa de certos caracteres vegetativos e reprodutivos e seu confronto com a hipótese filogenética a ser gerada pode evidenciar características úteis para o reconhecimento taxonômico e também evidenciar padrões de evolução desses caracteres em Cryptangieae.

C. Padrões biogeográficos em Cryptangieae

Como explanado acima, Cryptangieae foi relacionada com as seguintes tribos e gêneros em classificações morfológicas e análises moleculares (Koyama & Maguire 1965; Goetghebeur 1998; Koyama 2003, 2004; Vitta 2005; Muasya *et al.* 2009; Hinchliff & Roalson 2013): Trilepideae, Bisboeckelereae, Sclerieae, Schoeneae e o gênero *Koyamaea* W.W. Thomas & Davidse.

As espécies de Cryptangieae ocorrem desde a América Central, em Cuba, a áreas subtropicais da América do Sul e apresentam casos de endemismo principalmente nas terras altas do Escudo das Guianas (*Cephalocarpus*, *Everardia*, *Exochogyne* e *Lagenocarpus* incl. *Cryptangium*) e nas serras do sudeste do Brasil, no Escudo Brasileiro (*Lagenocarpus* incl. *Cryptangium*) (Koyama 2003, 2004; Vitta 2005) (Figura 1, A). As demais tribos e gêneros supracitados apresentam um número variado de gêneros e espécies e diferentes distribuições geográficas (Figura 1, B-F).

Estudos biogeográficos já foram realizados com alguns gêneros de Cyperaceae, incluindo aqueles baseados em resultados moleculares (Chacón *et al.* 2006; Roalson & Friar 2004; Viljoen *et al.* 2013; entre outros). Para Cryptangieae poucas hipóteses biogeográficas foram levantadas, mesmo considerando apenas dados morfológicos. Uma hipótese encontra-se em Koyama & Maguire (1965); sobre a então considerada tribo Lagenocarpeae (= Trilepideae + Cryptangieae *sensu* Goetghebeur 1998), com base em características do aquênio, conclui-se que a tribo é monofilética e tem como área ancestral provável a América (Quadro 1). Entretanto, as tribos Trilepideae e Cryptangieae provavelmente não formam um grupo monofilético e sua relação filogenética não é direta (vide Introdução, seção 1).

Quadro 1 – Hipótese biogeográfica para a tribo Lagenocarpeae (Trilepideae + Cryptangieae) baseada em caracteres do aquênio (Koyama & Maguire 1965, p.13)

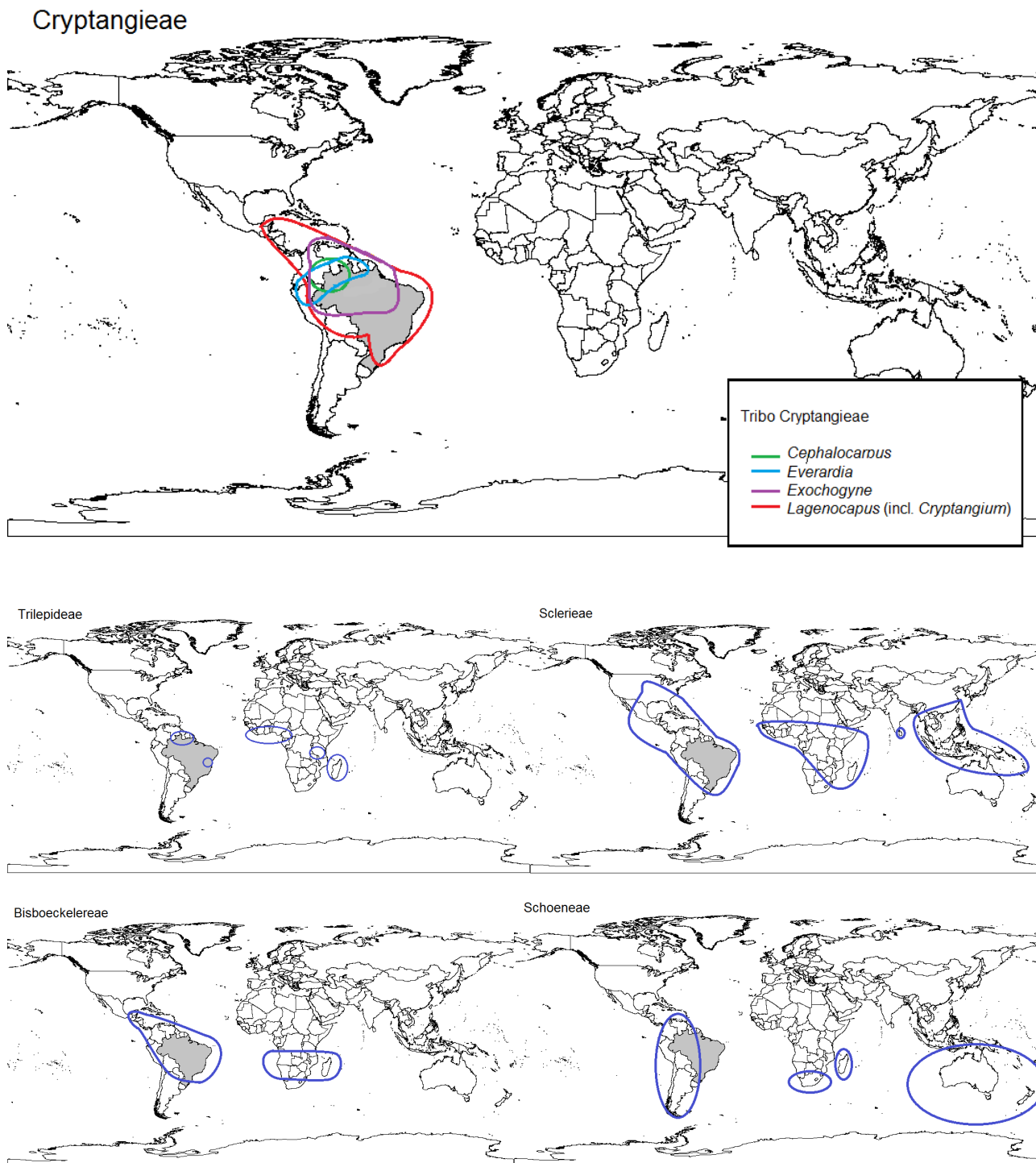
“[...] *The genus Trilepis of South America, possessing the presumptive most primitive features within the tribe, is more closely related to the African genera Coleochloa, Afrotrilepis and Microdracoides than to its five American congeners. This distribution would suggest an early trans-oceanic migration or the existence of an early continuous landmass, and a single line of development.*

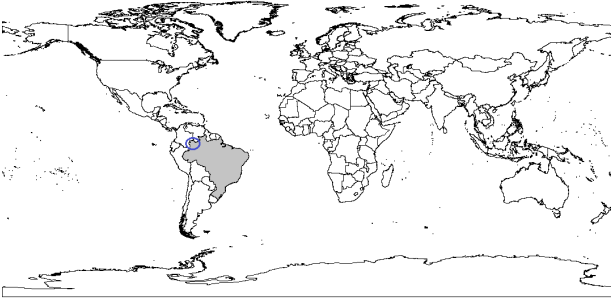
The presumptive more advanced genera have their center or distribution in the Guayana Highland, with only Lagenocarpus occupying the entire American range. It becomes clear that the contemporary center of distribution of Lagenocarpeae as a whole is tropical America. Indeed the archeotypes of the tribe may well have arisen within present American range.

From those considerations there may well be postulated a monophyletic origin of Lagenocarpeae with a probable genesis in what is now America, that there has been a subsequent evolutionary progress assurgence within the tribe in Guayana; and that rather little subsequent evolutionary progress has been made in peripheral Africa. [...]”

A área ancestral e padrões de diversificação de Cryptangieae permanecem desconhecidos. Embora haja relativamente boa quantidade de dados morfológicos disponíveis, pouco pode ser discutido em confronto com os dados moleculares disponíveis.

Figura 1 – Distribuição geográfica dos gêneros de Cryptangieae e de tribos próximas (Goetghebeur 1998; Muasya *et al.* 2009, Hinchliff & Roalson 2013).





OBJETIVOS

- Inferir sobre a delimitação e relações de parentesco entre os gêneros de Cryptangieae (*sensu* Muasya *et al.* 2009) e dessa com outras tribos de Cyperaceae com base em dados moleculares;
- Reconstruir a evolução de caracteres morfo-anatômicos estudados a partir de uma hipótese filogenética gerada para Cryptangieae;
- Analisar os padrões biogeográficos apresentados em Cryptangieae.

MATERIAIS E MÉTODOS

A. Táxons selecionados (Tabela 3):

- Grupo externo - Foram selecionados táxons considerados próximos de acordo com a classificação morfológica mais utilizada (Goetghebeur 1998) e resultados apresentados nas filogenias moleculares recentes para a família (Muasya *et al.* 2009; Hinchliff & Roalson 2013), nomeadamente representantes das tribos: Trilepideae, Schoeneae, Sclerieae, Bisboeckelereae; e do gênero *Koyamaea*;

- Grupo interno – A classificação da tribo segundo Muasya *et al.* (2009) (Cryptangieae *sensu* Goetghebeur 1998 + *Exochogyne*) será considerada nesse trabalho. Serão inclusas espécies abrangendo o quanto possível a diversidade descrita para o grupo (Koyama 2003, 2004; Vitta 2005), com ênfase em espécies que ocorrem no Brasil.

Tabela 3 – Grupo interno (OTUs) e externo inclusos na proposta e espécies de ocorrência no Brasil (*- asterisco; Alves *et al.* 2009)

Grupo	Tribos, Gêneros e/ou espécies
Interno	(tribo Cryptangieae)
	1. <i>Cephalocarpus confertus</i> Gilly *
	2. <i>Cephalocarpus dracaenula</i> Nees*
	3. <i>Cephalocarpus obovoideus</i> T. Koyama *
	4. <i>Cephalocarpus rigidus</i> Gilly ex Gleason & Killip. *
	5. <i>Everardia angusta</i> N.E. Brown
	6. <i>Everardia debilis</i> T.Koyama & Maguire
	7. <i>Everardia diffusa</i> T. Koyama & Maguire
	8. <i>Everardia disticha</i> T.Koyama & Maguire*
	9. <i>Everardia erecto-laxa</i> T.Koyama & Maguire
	10. <i>Everardia flexifolia</i> (Gilly) T.Koyama & Maguire
	11. <i>Everardia longifolia</i> Gilly ex Gleason & Killip.

-
12. *Everardia maguireana* T. Koyama*
 13. *Everardia montana* Ridley*
 14. *Everardia recurvigluma* T. Koyama & Maguire
 15. *Everardia vareschii* Maguire
 16. *Exochogyne amazonica* C.B. Clarke (= *Lagenocarpus amazonicus* C.B. Clarke *sensu* Koyama 2004) *
 17. *Cryptangium bambusoides* Vitta*
 18. *Cryptangium claussenii* C.B. Clarke (*sensu* Vitta 2005) *
 19. *Cryptangium comatum* Boeck. *
 20. *Cryptangium cubense* (Kük.) Vitta
 21. *Cryptangium humile* (Nees) Boeck. *
 22. *Cryptangium junciforme* (Kunth) Boeck. *
 23. *Cryptangium minarum* (Nees) Boeck. (*sensu* Vitta 2005) *
 24. *Cryptangium polyphyllum* (Nees) Boeck. *
 25. *Cryptangium sheperdii* Vitta*
 26. *Cryptangium stellatum* Boeck.*
 27. *Cryptangium subaphyllum* (T. Koyama) Vitta *
 28. *Cryptangium triquetrum* Boeck. *
 29. *Cryptangium venezuelensis* (Davidse) Vitta
 30. *Cryptangium verticillatum* (Spreng.) Vitta *
 31. *Lagenocarpus albo-niger* (St. Hilaire) C.B. Clarke *
 32. *Lagenocarpus bracteosus* C.B. Clarke*
 33. *Lagenocarpus celiae* T.Koyama & Maguire *
 34. *Lagenocarpus eriopodus* T.Koyama & Maguire *
 35. *Lagenocarpus glomerulatus* Gilly (= *Everardia sensu* Vitta 2005) *
 36. *Lagenocarpus griseus* (Böeckeler) H.Pfeifer*
 37. *Lagenocarpus guianensis* Lindley & Nees ex Nees*
 38. *Lagenocarpus inversus* Nees*
 39. *Lagenocarpus lanatus* (T.Koyama & Maguire) T. Koyama (= *Everardia sensu* Vitta 2005)
 40. *Lagenocarpus parvulus* (C.B. Clarke) H.Pfeiffer*
 41. *Lagenocarpus pendulus* T.Koyama (= *Everardia sensu* Vitta 2005)
 42. *Lagenocarpus rigidus* C.B. Clarke*
 43. *Lagenocarpus sabanensis* Gilly*
 44. *Lagenocarpus sericeus* H.Pfeifer*
 45. *Lagenocarpus tenuifolius* (Boeck.) C.B. Clarke*
 46. *Lagenocarpus tristis* (A.St.-Hil) Vitta*
 47. *Lagenocarpus velutinus* Nees*

- Externo
1. *Koyamaea neblinensis* W.W.Thomas & Davidse (*incertae sedis*)*
 2. Trilepideae*
 3. Sclerieae*
 4. Bisboeckelereae*
 5. Schoeneae*
-

B. Áreas de coleta e tipos de amostras

Com base no material examinado das principais revisões focando Cryptangieae (Koyama 2003, 2004; Vitta 2005), foram levantadas as regiões e os estados de ocorrência das espécies (Tabela 4). Durante as expedições, além de espécimes para tombamento em herbários, serão coletados: (i) material em sílica para estudos moleculares; (ii) partes vegetativas (sistema radicular, caulinar e folhas) e reprodutivas (escapo e demais eixos da inflorescência, espiguetas feminina e masculina e aquênios em diferentes níveis de desenvolvimento) fixadas em FAA50 e/ou álcool 70%.

Tabela 4 – Regiões e estados brasileiros de ocorrência dos gêneros de Cryptangieae de acordo com Koyama (2003, 2004) e Vitta (2005) [numeração de táxons segundo tabela 3; realce cinza - regiões brasileiras; realce amarelo – estados com maior riqueza de espécies; realce vermelho – espécies que não ocorrem no Brasil; realce verde – espécies que ocorrem num único estado; realce azul – espécies mais amplamente distribuídas; fonte vermelha – estados sem registro de ocorrência de Cryptangieae; (1*) e realce vermelho – espécie registrada apenas para região, sem estado especificado].

Espécies/ região e estado de ocorrência	NORTE							NORDESTE							CENTRO-OESTE					SUDESTE					SUL			total de estados							
	NO	AC	AM	AP	PA	RO	RR	TO	NE	AL	BA	CE	MA	PI	PB	PE	RN	SE	CO	DF	GO	MT	MS	SE	ES	MG	RJ		SP	S	PR	SC	RS		
1	T		X				X																											2	
2	T		X				X																											2	
3	T		X				X																											2	
4	T		X				X																											2	
5																																		0	
6																																		0	
7																																		0	
8	T																																	1*	
9																																		0	
10																																		0	
11																																		0	
12	T		X																															1	
13	T		X																															1	
14																																		0	
15																																		0	
16	T		X		X			T										T		X													3		
17								T		X														T		X								2	
18									X	X														T		X								3	
19																								T		X	X							2	
20																																		0	
21																								T		X	X							2	
22																								T		X								1	
23																								T	X	X	X	X						5	
24																								T			X							1	
25																													T	X				1	
26	T		X				X																											2	
27																								T	X									1	
28																								T			X	X	T	X	X			4	
29																																		0	
30	T		X	X	X	X	X	X	T	X	X		X					T	X	X	X			T	X	X		X					15		
31									T		X													T		X	X							3	
32																									T		X							1	
33	T		X		X	X																												3	
34	T		X																															1	
35	T		X																															1	
36								T		X														T		X								2	
37	T		X	X	X		X		T		X		X		X	X										X								9	
38									T		X														T		X							2	
39																																			0
40																									T		X								1
41	T																																	1*	
42	T		X	X	X	X	X	X	T		X			X	X			T	X	X				T	X	X	X	X	T	X				16	
43	T	X	X		X		X																	T											5
44																									T		X	X							2
45								T		X														T		X									3
46																									T		X								1
47																									T		X								1
total de espécies	13	1	11	3	6	3	5	2	9	2	9	0	2	0	2	1	1	0	6	2	5	2	0	20	4	18	8	4	3	3	1	0			

C. Estudos Moleculares

Vários marcadores foram utilizados para descrever relações em filogenias moleculares recentes de Cyperaceae. Entre os marcadores mais amplamente amostrados estão o *rbcL* e o *ndhF*, além das regiões ITS e ETS e *trnL-F*. Por sua maior disponibilidade nos banco de dados públicos de sequências, função condizente com as questões aqui levantadas e facilidade reportada de obtenção de novas sequências, esses marcadores serão testados para verificar o grau de variabilidade no grupo e aplicados no trabalho proposto; outros marcadores serão testados quando necessário.

Serão utilizadas amostras de material preservado em sílica ou de material coletas recentes depositadas em herbários, usando o método modificado CTAB de Doyle & Doyle (1987), como descrito em Muasya *et al.* (2002). A amplificação e sequenciamento das regiões provavelmente seguirão protocolos descritos em: Muasya *et al.* (2002), para *rbcL* e *trnL*; Yen & Olmstead (2000), para *ndhF*; e Roalson & Friar (2004), para ITS e ETS (Tabela 5). As sequências alinhadas deverão ser depositadas em um banco público de dados. Ajustes nos protocolos serão realizados sempre que necessários.

Tabela 5 – Técnicas aplicadas para os marcadores selecionados em estudos filogenéticos moleculares de Cyperaceae

Marcador Molecular	Referência Bibliográfica	Métodos de amplificação, sequenciamento e alinhamento de sequências
<i>rbcL</i> e <i>trnL</i>	Muasya <i>et al.</i> (2002)	“[...] <i>Amplification of rbcL</i> was performed in two pieces using the 1F/674R and 636F/1460R (Fay <i>et al.</i> , 1998; Muasya <i>et al.</i> , 1998). The <i>trnL</i> intron and <i>trnL-F</i> intergenic spacer were also <i>amplified</i> in using <i>c/d</i> and <i>e/f</i> pairs of primers (Taberlet <i>et al.</i> , 1991), respectively. [...] <i>Amplified products</i> were <i>purified</i> using the QIAquick PCR purification kit (according to the manufacture’s protocol; Qiagen, West Sussex, UK). <i>Cleaned PCR products</i> were <i>sequenced</i> using the modified dideoxy cycle sequencing with Big-dye terminators and run on an ABI 377 automated sequencer (both according to the manufacturer’s protocol: Applied Biosystems Inc., Warrington, UK). The sequences were edited in Sequence Navigator and assembled in Autoassembler (Applied Biosystems Inc.). Length variation was minimal, so all sequences were <i>aligned</i> by eye.”
<i>ndhF</i>	Yen & Olmstead (2000)	“[...] <i>Double stranded PCR reaction mix for ndhF</i> consisted of 10mM Tris-HCl, pH. 8.3, 50mM KCl, 3mM MgCl ₂ , 2.5mM dNTP, 0.0125 units of Taq polymerase, 0.05 mM of each primer, and 1–5 ml total DNA template in a 50 ml reaction volume. Primers used for <i>ndhF</i> amplification and sequencing largely were described in Olmstead and Sweere (1994) with the following modifications to facilitate amplification and sequencing in Cyperaceae. New and modified primers include: 274Fa (CTTACCTCAATTATGT TAACACTCAT), 972Ra (GC-TAGTATAATGTAAC CCAATTGAGAC), and 1006F (ATTGGTTCGTC TCGAACTGC). Depending on taxon, double stranded <i>ndhF</i> amplification was achieved either in one step (274Fa-39) or two steps (59-1318R, 1006F or 1318-39). The reaction profile for <i>ndhF</i> amplification involves: 928C for one minute; 458C for one minute;

728C for one minute for 40 cycles, followed by final extension at 728C for seven minutes. [...] Double stranded PCR products were cleaned using Qiaquick PCR Purification Kit (Qiagen Inc., Chatworth, CA) and quantified by spectrophotometry. DNA sequencing was accomplished using the cycle sequencing method for both strands using the ABI PRISM Dye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit with AmpliTaq DNA Polymerase, FS (Perkin Elmer; Foster City, CA) and analyzed on an ABI 377 automated sequencer. DNA sequences were assembled using Sequencher version 3.0 (Gene Codes Corporation, Ann Arbor, MI).”

ITS e ETS Roalson & Friar (2004)

“[...] Templates of the nrITS region were prepared using a 1:1 ratio of primers ITS5i (50-AGGTGA CCTGCGGAAGGATCA TT-30) and ITS4i (50-GGT AGT CCC GCC TGA CCT GG-30). Templates of the nrETS region were prepared using a 1:1 ratio of primers ETSf (50-CTG TGG CGT CGC ATG AGT TG-30) and 18Sr (50-AGA CAA GCA TAT GAC TAC TGG CAG G-30, Starr et al. 2003). Polymerase chain-reaction (PCR) amplifications follow the procedures described by Roalson et al. (2001) and Starr et al. (2003). In order to reduce the likelihood of selective amplification of psuedogenes/paralogous ITS/ETS copies, 10% DMSO was included in all amplifications (Buckler and Holsford 1996, Buckler et al. 1997). The PCR products were electrophoresed using a 0.8% agarose gel in a 0.5X TBE (pH 8.3) buffer, and subsequently stained with ethidium bromide to confirm a single product and purified using the PEG precipitation procedure (Johnson and Soltis 1995). Sequencing was performed using an Applied Biosystems Model 373A Automated DNA Sequencing System or an Applied Biosystems Model 377 Automated DNA Sequencing System. Direct cycle sequencing of purified template DNAs followed manufacturer’s specifications, using the PRISM Dye Deoxy Terminator Kit (PE Biosystems) or the ABI Prism BigDye Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit (PE Biosystems). [...] Automated DNA sequencing chromatograms were proofed, edited, and contigs were assembled using Sequencher 3.0 and 4.0 (Gene Codes Corporation, Inc.). The sequences were truncated to include only ITS1, 5.8S, ITS2, the 50 ETS, and a portion of the 50 end of the nrDNA 18S gene. Identification of the terminal ends of ITS1, ITS2, and ETS were based on comparisons with other species of Cyperaceae (Roalson and Friar 2000, Roalson et al. 2001, Starr et al. 2003). The sequences were aligned manually.”

2002) e Mr Bayes (Huelsenbeck & Ronquist 2001), para construção de hipóteses filogenéticas sob os critérios de Máxima Parcimônia (MP), Máxima Semelhança (ML – da expressão em inglês, *maximum likelihood*) e Inferência Bayesiana (BI). Assim como descrito em Muasya *et al.* (2002), inicialmente serão analisados os dados de cada marcador isoladamente e posteriormente, caso possível, se seguirá a análise dos dados reunidos de todos os marcadores. Serão aplicados e descritos os tratamentos e parâmetros estatísticos pertinentes à sustentação das análises e resultados.

D. Inferências biogeográficas

As informações sobre a distribuição geográfica das espécies e gêneros serão obtidas em trabalhos taxonômicos recentes (Koyama 2003, 2004; Vitta 2005), levantamentos florísticos focando Cyperaceae e com a participação de especialistas na família (Prata 2002; Costa 2012; Fédon 2011; entre outros) e em coletas realizadas no presente trabalho; os mapas de distribuição provavelmente serão elaborados usando o programa DIVA (Ronquist 1997). Para a determinação da área ancestral, uma das hipóteses filogenéticas geradas (MP, ML, BI) será confrontada com a distribuição geográfica das espécies (Chácon *et al.* 2000; Givnish *et al.* 2011).

A reconstrução de padrões de diversificação geográfica provavelmente será realizada com a Análise Estatística de Dispersão-Vicariância (S-DIVA; Yu *et al.* 2010); o programa S-DIVA complementa o programa DIVA por permitir a inclusão de incerteza filogenética na análise através do exame de árvores múltiplas, possivelmente apresentando politomias (Givnish *et al.* 2011). As idades de divergências dos ramos, necessária para essa análise, serão resgatadas a partir de registros fósseis (tempo absoluto) ou, caso essa primeira opção não seja possível, a partir de tempo relativo calculado através de uma probabilidade penalizada da taxa de suavização, aplicando o programa r8s (Sanderson 2002).

E. Estudos Morfológicos e Anatômicos

Embora alterações sejam prováveis, uma lista dos caracteres vegetativos e reprodutivos considerados importantes para o entendimento da diversidade morfológica de Cryptangieae é apresentada (Tabela 6; Figura 2). Esses caracteres serão examinados em campo ou laboratório, em exsicatas, através de observações morfológicas (seção e.1), cortes anatômicos (seção e.2) ou MEV (seção e.3), de acordo com a metodologia mais adequada.

Além disso, serão observadas no local de ocorrência das espécies as seguintes características: tipo de solo (alagado, úmido, seco; argiloso, arenoso, rochoso; raso, profundo; rico ou pobre em matéria orgânica) e vegetação (formação aberta ou fechada); o que permitirá interpretações iniciais sobre possíveis adaptações das espécies ao ambiente onde ocorrem.

Tabela 6 – Caracteres vegetativos e reprodutivos selecionados. [tipo de estudo: morf – morfológico; anat – anatômico; MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura]

Tipo de Caráter	Caráter
Vegetativo	presença de velame (anat, MEV) formação de cáudex (anat, morf) folhas apenas basais ou no ápice do caule (morf) caracteres da micromorfologia foliar (anat, MEV)
Reprodutivo	tamanho relativo da inflorescência em relação às folhas (morf) inflorescência terminal ou lateral (morf)

posicionamento do eixo principal da inflorescência (morf)
padrão de distribuição de espiguetas de sexos distintos (morf)
monoícia/dioícia (morf)
localização de espiguetas masculinas (morf)
localização de espiguetas femininas (morf)
proporção do comprimento da bráctea de 1ª ordem e paracládios (morf)
número de ordens por paracládios (morf)
posição de paracládios masculinos (morf)
posição de paracládios femininos (morf)
número de espiguetas por paracládio masculino (morf)
número de espiguetas por paracládio feminino (morf)
número de flores por espiguetas masculina (morf)
número de flores por espiguetas feminina (morf)
relação entre tamanho da espiguetas e comprimento exposto do filete (morf)
presença de crista do conectivo nas anteras (morf)
formato da crista do conectivo(morf)
proporção entre tamanho da espiguetas e comprimento exposto do estilete/estigma (morf)
cor dos estigmas (morf)
tempo de antese em relação à receptividade do estigma (morf)
presença de escamas hipóginas no fruto (morf, MEV)
tricomas das escamas hipóginas do fruto (morf, MEV)
presença de pilosidade na porção apical do fruto (morf, MEV)
forma do corte transversal do fruto (anat)
depressões na base do fruto (morf)
depressões longitudinais no fruto (morf)
formato do ápice do fruto (morf)
formato das células na superfície do fruto (MEV)
características do Feixe Fundamental (FF) (anat)
características dos Feixes Placentários (FP) (anat)

e.1. Obtenção de dados em análises morfológicas (morf)

Para os dados morfológicos, serão feitas observações e medidas em campo, material herborizado e preservado em meio líquido. Os estados de caracteres qualitativos e quantitativos serão obtidos segundo esquema apresentado (Figura 2).

e.2. Obtenção de dados em análises anatômicas (anat)

Os materiais conservados em meio líquido (FAA50 ou Alcool 70) serão desidratados em série etílica (70%, 96%, 100%) e emblocados em em histo-resina. Posteriormente serão cortados em micrótomo rotativo (espessura – a definir), dispostos em lâminas de secagem e corados para melhor visualização de suas estruturas. Serão analisadas estruturas radiculares (provavelmente coradas em safranina e azul de astra; Bukatsch 1972), caulinares (provavelmente coradas em azul de astra e safranina na proporção de 9:1; modificado de Bukatsch 1972 *apud* Kraus & Arduin 1997), foliares (provavelmente coradas em azul de Astra e safranina; Kraus & Arduin 1997), dos eixos da inflorescência e aquênio (provavelmente coradas em azul de toluidina; Vitta 2005). Os cortes serão examinados e fotografados num fotomicroscópio.

e.3. Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

O material desidratado será metalizado com ouro e examinado em microscópio eletrônico de varredura. As seguintes estruturas serão analisadas com a técnica: raízes adventícias, superfície foliar, pólen e aquênios maduros.

F. Reconstrução da evolução de caracteres em *Cryptangieae*

A reconstrução da evolução de caracteres seguirá metodologia descrita em Hinchliff & Roalson (2009), onde haverá: i. mapeamento estocástico, usando o programa SIMMAP (Bollback 2006) para simular a evolução dos caracteres listados numa árvore (hipótese) filogenética gerada no presente trabalho; ii. ainda utilizando o SIMMAP serão recuperadas as transições de estados de caráter em cada linhagem. Provavelmente os modelos gerados no SIMMAP serão comparados a outros modelos ASR; em Hinchliff & Roalson (2009) foi escolhido o modelo gerado pelo programa Mesquite 2.01 build j28 (Maddison & Maddison 2006, 2007), sob o modelo de razão-única Markov.

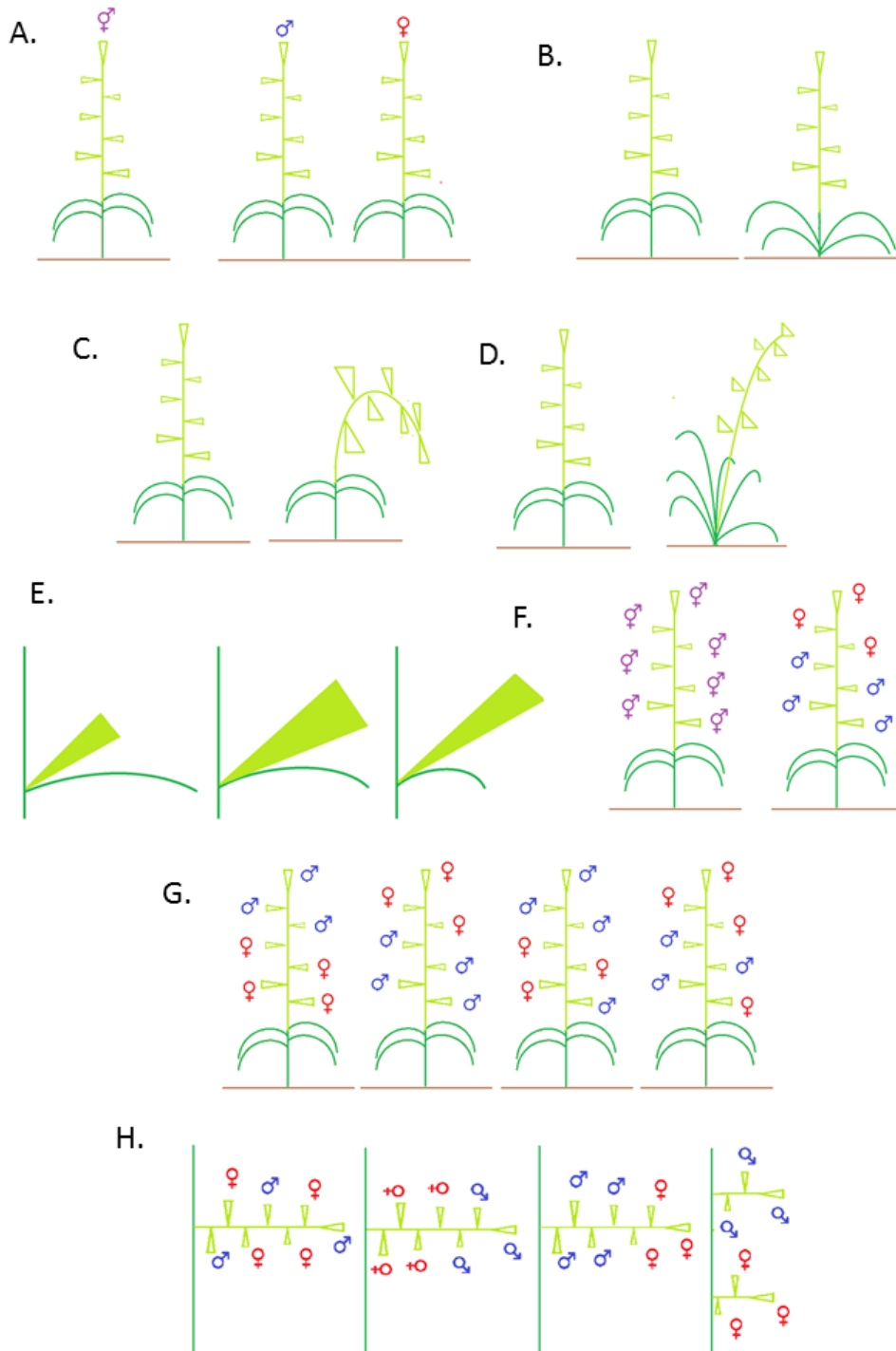
Adequações serão necessárias nessa metodologia, uma vez que, ao contrário de Hinchliff & Roalson (2009), serão considerados caracteres descontínuos, mas de natureza variada (qualitativos e quantitativos) e em maior quantidade na presente proposta.

Para avaliar os padrões de diversificação dos caracteres pretende-se aplicar metodologia também descrita em Hinchliff & Roalson (2009). Pretende-se contrapor uma hipótese de deriva neutra dos caracteres a hipóteses onde hajam padrões de diversificação distintos usando a função *fitDiscrete*, do pacote de análise de diversificação filogenética *geiger 1.2 – 13* (Harmon *et al.* 2007) para o *R 2.7.0 statistical framework* (R Development Core Team 2008); essa função usa a Máxima Semelhança para estimar o melhor encaixe dos dados de caracteres em uma topologia sob diferentes modelos evolutivos (Hinchliff & Roalson 2009). A função *fitDiscrete* requer uma topologia apresentada como um cronograma, caso não sejam encontrados registros fósseis para a calibragem em tempo absoluto, será aplicada uma probabilidade penalizada da taxa de suavização, com o programa *r8s* (Sanderson 2002), para gerar uma árvore ultramétrica com escala cronológica de modo que os comprimentos de ramos representem idades relativas dos nós (Hinchliff & Roalson 2009).

G. Taxonomia da tribo *Cryptangieae*

Será elaborada uma sinopse taxonômica da tribo para permitir a identificação dos grupos monofiléticos encontrados nos estudos filogenéticos moleculares realizados. A sinopse evidenciará os rearranjos nomenclaturais necessários, chaves de identificação para gêneros e espécies, descrições sucintas, comentários taxonômicos e geográficos e ilustrações das espécies. Além das chaves de identificação dicotômicas tradicionais, pretende-se elaborar chaves interativas utilizando o programa *Lucid v3.5*.

Figura 2 – Desenhos esquemáticos com caracteres e estados de caráter. A. Indivíduos monoicos ou dioicos; B. Folhas caulinares ou folhas organizadas em roseta basal. C. Inflorescência ereta ou pendente; D. inflorescência terminal ou lateral; E. Relação entre o comprimento da bráctea e paracládio basal da inflorescência. F. Disposição das flores masculinas e femininas nos paracládios (intercaladas ou separadas); G. Disposição dos paracládios masculinos e femininos na inflorescência; H. Disposição de flores masculinas e femininas nos paracládios.



HIPÓTESES LEVANTADAS

A. Delimitação e relações de parentesco da tribo Cryptangieae

Embora Cryptangieae seja corriqueiramente considerada monofilética, não se exclui a hipótese de que seja um grupo poli- ou parafilético, especialmente considerando a amostragem insuficiente da sua diversidade.

Em hipóteses filogenéticas moleculares recentes para Cyperaceae, Cryptangieae, considerada monofilética, se mostra proximamente relacionada à Schoeneae ou a frações de Sclerieae + Bisboeckelereae (Muasya *et al.* 2009; Hinchliff & Roalson 2013). Caso uma relação direta com gêneros de Trilepideae seja evidenciada, entrará em contradição com essas propostas. As hipóteses subsequentes consideram Cryptangieae como uma tribo monofilética, exceto quando dito o contrário.

Koyamaea foi incluído como grupo externo das análises por ser considerado *incertae sedis* na subfamília Sclerioideae (*sensu* Goetghebeur 1998) e pode estar ou não proximamente relacionada ou mesmo inserida em Cryptangieae. Como não há dados disponíveis que corroborem com nenhuma das hipóteses, para simplificar a apresentação dos resultados esperados, o gênero será considerado externo à Cryptangieae.

B. Delimitação e relações de parentesco dos gêneros de Cryptangieae

As espécies de Cryptangieae têm sido distribuídas entre gêneros com delimitações variadas e frequentemente confusas. As análises moleculares devem esclarecer os limites e riqueza desses gêneros de maneira a melhor concordar com a proposta apresentada em Koyama (2003, 2004), em Vitta (2005) ou outras acomodações alternativas.

A circunscrição de *Cephalocarpus* parece mais estável, mas isso pode dever-se ao fato do gênero não ser tratado ou não receber nenhuma das espécies transferidas no trabalho de Vitta (2005). *Everardia*, ainda que pareça facilmente distinguível pela formação de cáudex apresenta algumas espécies em desacordo entre as propostas de Koyama (2003) e Vitta (2005), especialmente pela transferência de espécies consideradas pertencentes à *Lagenocarpus* (Koyama 2004) ou *Dydymiandrum* (Koyama & Maguire 1965).

Lagenocarpus apresenta a circunscrição mais variada, com a inclusão/exclusão de grupos às vezes considerados gêneros independentes (*Cryptangium*, *Exochogyne*, *Didymiandrum*). Os resultados obtidos por Vitta (2005) serão confirmados se as espécies de *Cryptangium* e *Lagenocarpus* formarem clados monofiléticos distintos. Caso essas espécies apareçam intercaladas ou formem grupos para- ou polifiléticos, a proposta de Koyama (2004) ou uma proposta alternativa serão avaliadas.

Exochogyne é um gênero monoespecífico que apresenta morfologia diferenciada na tribo, especialmente considerando a estruturação da inflorescência e do aquênio, entretanto, essa espécie já foi considerada como pertencente à *Lagenocarpus*. Seu posicionamento nas hipóteses filogenéticas geradas no presente trabalho deve esclarecer essa questão.

Os dados atualmente disponíveis para Cryptangieae levam a crer na existência de cinco gêneros monofiléticos, nomeadamente: *Cephalocarpus*, *Cryptangium*, *Everardia*, *Exochogyne* e *Lagenocarpus*. Esses gêneros podem apresentar relações de parentesco variadas, mas os padrões de distribuição tendem a demonstrar maior proximidade entre gêneros de distribuição amazônica

restrita e com centros de diversidade no Escudo das Guianas (*Cephalocarpus* e *Everardia*) e entre gêneros de distribuição mais ampla, expandindo-se ou restringindo-se ao Escudo Brasileiro e com centro de diversidade nas serras a leste do Brasil (*Lagenocarpus* e *Cryptangium*).

C. Inferências biogeográficas

Com os dados disponíveis, hipóteses sobre a biogeografia da tribo são muito vagas. É possível que área ancestral do grupo seja o Escudo das Guianas ou as serras no sudeste brasileiro. Lembrando que essa origem única tem como prerrogativa o caráter monofilético da tribo; caso Cryptangieae seja uma tribo poli- ou parafilética, poderão ser designadas mais de uma área ancestral. Sobre os padrões de diversificação dos gêneros e da tribo, hipóteses intuídas com os dados atualmente disponíveis seriam demasiado inconsistentes.

D. Reconstrução da evolução de caracteres vegetativos e reprodutivos de Cryptangieae

Quanto à reconstrução da evolução de caracteres, é provável que a ocorrência dos estados de caráter apresente correlação com o ambiente de ocorrência das espécies ou ao grupo taxonômico comprovadamente monofilético.

Tanto os caracteres vegetativos quanto os reprodutivos podem representar uma adaptação gradual ao habitat de ocorrência do clado, por exemplo: 1. Espécies restritas a áreas rochosas devem apresentar velame e cáudex “mais desenvolvidos” que espécies com menor restrição de habitat e ocorrem em outros tipos de substrato; 2. Espécies que ocorrem em áreas mais abertas sujeitas a ação do vento devem apresentar maior número de características consideradas adaptativas para a anemofilia que espécies que ocorrem em bordas de mata.

Adicionalmente, espera-se que a ocorrência de alguns caracteres ou estados de caráter seja dependente, por exemplo: em espécies adaptadas a anemofilia, ocorrerão paracládios de sexos separados, com paracládios femininos serão rígidos e apicais enquanto os masculinos pendentes e basais. Há ainda a possibilidade de que um determinado estado de caráter A esteja vinculado ao surgimento do estado de caráter B, o que talvez fique evidente durante as análises dos padrões de diversificação de caracteres a serem realizadas.

RESULTADOS ESPERADOS

Com a realização desse projeto espera-se esclarecer incongruências sobre: 1. o caráter monofilético e a circunscrição de Cryptangieae e sua relação com outras tribos de Cyperaceae; 2. o caráter monofilético e a circunscrição dos gêneros atualmente aceitos para Cryptangieae, nomeadamente *Cephalocarpus*, *Everardia*, *Exochogyne* e *Lagenocarpus* (incl. *Cryptangium*); 3. prover material acessível para a fácil identificação dos representantes do grupo. Hipóteses sobre biogeografia da tribo, elucidando a área ancestral e padrões de diversificação geográfica dos gêneros e tribo, e reconstrução da evolução e padrões de diversificação de caracteres vegetativos e reprodutivos de Cryptangieae serão outros resultados importantes desse trabalho.

CRONOGRAMA

Atividade/Semestre	1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º
Levantamento Bibliográfico	X	X	X	X	X	X	X	X
Expedições de campo para coleta de material para herborização, em sílica e em meio líquido	X	X	X					
Análises morfológicas e anatômicas e tabelamento de dados	X	X	X	X	X			
Extração, amplificação e sequenciamento dos marcadores moleculares para amostras dos táxons selecionados			X	X	X			
Tratamento estatístico de dados e geração de hipóteses filogenéticas e inferências biogeográficas				X	X	X		
Reconstrução de caracteres (confronto de dados moleculares com dados morfo-anatômicos)						X	X	
Redação dos capítulos da tese						X	X	X
Exame de Qualificação					X			
Pré-Banca								X
Defesa								X

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ackerman, J.D. 2000. Abiotic pollen and pollination: ecological, functional, and evolutionary perspectives. **Plant Systematics Evolution** 222: 167 – 185.
- Ainsworth, C. 2000. Boys and Girls come out to play: the molecular biology of dioecious plants. **Annals of Botany** 86: 211 – 221.
- Alves, M. & Araujo, C.A.; Prata, A.P.; Vitta, F.; Hefler, S.; Trevisan, R.; Gil, A.S.B.; Martins, S.; Thomas, W. 2009. Diversity of Cyperaceae in Brazil. **Rodriguésia**. 60(4): 771 – 782.
- Bollback, J.P. 2006. SIMMAP: Stochastic character mapping of discrete traits on phylogenies. **BMC Bioinformatics** 7 : 88 – 95.
- Chacón, J. & Madriñan, S.; Chase, M.K.; Bruhl, J.J. 2006 . Molecular Phylogenetics of *Oreobolus* (Cyperaceae) and the origin and diversification of americamn species. **Taxon** 55 (2): 359 – 366.
- Culley, T.M. & Weller, S.G.; Sakai, A.K. 2002. The evolution of wind pollination in angiosperms. **Trends in Ecology and Evolution** 17 (8): 361 – 369.
- Doyle, J.J. & Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. **Phytochemical Bulletin** 19: 11 – 15.
- Fedón, I.C. 2011. Liliopsida, Cyperaceae, *Cephalocarpus confertus* Gilly, Guyana Shield, Brazil, Colombia and Venezuela. **Checklist** 7 (3): 348 – 349.
- Ford, B.A. & Iranpour, M.; Naczi, R.F.C.; Starr, J.R.; Jerome, C.A. 2006. Phylogeny of *Carex* subg. *Vignea* (Cyperaceae) based on non-coding nrDNA sequence data. **Systematic Botany** 31 (1): 70 -82.
- Friedman, J. 2011. Gone with the wind: understanding evolutionary transitions between wind and animal pollination in the angiosperms. **New Phytologist** 191: 911 – 913.
- Friedman, J. & Barrett, S.C. 2009. Wind of change: new insights on the ecology and evolution of pollination and mating in wind-pollinated plants. **Annals of Botany** 103: 1515 – 1527.
- Friedman, J. & Barrett, S.C. 2011. Genetic and environmental control of temporal and size-dependent sex allocation in a wind pollinated plant. **Evolution** 65-7: 2061 – 2074.
- Friedman, J. & Harder, L.D. 2004. Inflorescence architecture and wind pollination in six grass species. **Functional Ecology** 18: 851 – 860.
- Gilly, C. 1941a. The genus *Everardia*. **Bulletin of the Torrey Botanical Club** 68 (1): 20 – 31.
- Gilly, C. 1941b. A new cyperaceous genus from northern South America. **Bulletin of the Torrey Botanical Club** 68 (5): 330 – 332.
- Gilly, C. 1942. The genus *Cephalocarpus* Nees (Cyperaceae). **Bulletin of the Torrey Botanical Club** 69 (4): 290 – 297.
- Givnish, J.T. & Barfuss, M.H.J.; Van Ee, B.; Riina, R.; Schulte, K.; Horres, R.; Gonsiska, P.A.; Jabaily, R.S.; Crayn, D.M.; Smith, A.C.; Winter, K.; Brown, G.K.; Evans, T.M.; Holst, B.K.; Luther, H.; Till, H.; Zizka, G.; Berry, P.E.; Sytsma, K.J.. 2011 Phylogeny, adaptative radiation, and historical biogeography in Bromeliaceae: insights from an eight-locus plastid phylogeny. **American Journal of Botany** 98 (5): 872 – 895.
- Goetghebeur, P. 1998. Cyperaceae. In: Kubistzki, K. *et al.* (eds.). **The families and genera of vascular plants. Monocotiledons – Alismatanae and Commelinanae (except Gramineae)**. Pp 141 – 190.

- Harmon, L.J. & Weir, J.; Brock, C.; Challenger, W. 2007. **Geiger: A package for macroevolutionary simulation and estimating parameters related to diversification from comparative phylogenetic data**. Available via the complete R package, website <http://www.r-project.org>.
- Hendrichs, M. & Oberwinkler, F.; Begerow, D.; Bauer, R. 2004. *Carex*, subgenus *Carex* (Cyperaceae) – a phylogenetic approach using ITS sequences. **Plant Systematic and Evolution** 246: 89 – 107.
- Hinchliff, C.E. & Lliully, A.E.; Carey, T.; Roalson, E.H. 2010. The origins of *Eleocharis* (Cyperaceae) and the status of *Websteria*, *Egleria*, and *Chillania*. **Taxon** 59 (3): 709 – 719.
- Hinchliff, C.E. & Roalson, E.H. 2009. Stem structure in *Eleocharis* subgenus *Limnochloa* (Cyperaceae): evidence of dynamic morphological evolution in a group of pantropical sedges. **American Journal of Botany** 96 (8): 1487 – 1499.
- Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F. 2001. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. **Bioinformatics** 19: 1572 – 1574.
- Kissmann, K.G. 1997. **Plantas Infestantes e Nocivas**. Ed. BASF, 2ª edição. São Paulo – SP.
- Koyama, T. 2003. A taxonomic account of the genera *Cephalocarpus* and *Everardia* (Cyperaceae) – Materials for a Cyperaceae monograph of the Flora Neotropica. Part I. **Makinoa** 2: 3 – 38.
- Koyama, T. 2004. A taxonomic revision of the genus *Lagenocarpus* (Cyperaceae) – Materials for a Cyperaceae monograph of the Flora Neotropica. Part II. **Makinoa** 4: 1 – 73.
- Koyama, T. & Maguire, B. 1965. Cyperaceae tribe Lagenocarpeae. **Botany of the Guayana Highlands – part VI** vol 12: 8 – 54.
- Kraus, J. & Arduin, M. 1997. **Manual básico de métodos em morfologia vegetal**. Rio de Janeiro, EDUR.
- Larridon, I. & Reynders, M. Huygh, W.; Bauters, K.; Van de Putte, K.; Muasya, A.M.; Boeckx, P.; Simpson, D.A.; Vrijdaghs, A.; Goetghebeur, P. 2011a. Affinities in C_3 *Cyperus* lineages (Cyperaceae) revealed using molecular phylogenetic data and carbon isotope analysis. **Botanical Journal of Linnean Society** 167: 19 – 46.
- Larridon, I. & Reynders, M. Huygh, W.; Bauters, K.; Vrijdaghs, A.; Leroux, O.; Muasya, A.M.; Simpson, D.A.; Goetghebeur, P. 2011b. Taxonomic changes in C_3 *Cyperus* (Cyperaceae) supported by molecular data, morphology, embryology, ontogeny and anatomy. **Plant Ecology and Evolution** 144 (3): 327 – 356.
- Larridon, I. & Bauters, K.; Reynders, M.; Huygh, W.; Muasya, A.M.; Simpson, D.A.; Goetghebeur, P. 2013. Towards a new classification of the giant paraphyletic genus *Cyperus* (Cyperaceae): phylogenetic relationships and generic delimitation in C_4 *Cyperus*. **Botanical Journal of Linnean Society** 172: 106 – 126.
- Lorenzi, H. 2008. **Plantas Daninhas do Brasil: terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**. Ed. Plantarum. Nova Odessa, SP.
- Maddison, W. P. & Maddison, D.R. 2006. **StochChar: A package of Mesquite modules for stochastic models of character evolution, version 1.1**. Distributed with the Mesquite package, website <http://www.mesquiteproj.org>
- Maddison, W. & Maddison, D.R. 2007. **Mesquite: A modular system for evolutionary analysis**,

version 2.01 build j28. Website <http://www.mesquiteproj.org>.

Muasya, A.M. & Simpson, D.A.; Verboom, G.A.; Goetghebeur, P.; Naczi, R.F.C.; Chase, M.W.; Smets, E. 2009. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data: current progress and future prospects. **Botanical Review** 75: 2 – 21.

Nagels, A. & Muasya, A.M.; Huysmans, S.; Vrijdaghs, A.; Smets, E.; Vinckier, S. 2009. Palynological diversity and major evolutionary trends in Cyperaceae. **Plants Systematic and Evolution** 277: 177 – 142.

Niklas, K.J. 1981. Airflow patterns around some early seed plant ovules and cupules: implications concerning to efficiency in wind pollination. **American Journal of Botany** 68 (5): 635 – 650.

Pickup, M & Barrett, S.C.H. 2013. The influence of demography and local mating environment on sex ratios in a wind-pollinated dioecious plant. **Ecology and Evolution** 3(3): 629 – 639.

Porembski, S. 2007. Tropical inselbergs: habitat types, adaptive strategies and diversity patterns. **Revista Brasileira de Botânica** 30 (4): 579 – 586.

Porembski, S. & Barthlott, W. 1995. On the occurrence of a velamen radicum in Cyperaceae and Velloziaceae. **Nordic Journal of Botany** 15 (6): 625 – 629.

Porembski, S. & Barthlott, W. 2000. Granitic and gneissic outcrops (inselbergs) as centers of diversity for desiccation-tolerant vascular plants. **Plant Ecology** 151: 19 – 28.

R Development Core Team 2008. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, website <http://www.R-project.org>.

Roalson, E.H. & Friar, E.A. 2000. Infrageneric classification of *Eleocharis* (Cyperaceae) Revisited: evidence from the Internal Transcribed Spacer (ITS) region of nuclear ribosomal DNA. **Systematic Botany** 25 (2): 323 – 336.

Roalson, E.H. & Friar, E.A. 2004. Phylogenetic relationships and biogeographic patterns in North American members of *Carex* section *Acrocystis* (Cyperaceae) using nrDNA ITS and ETS sequence data. **Plant Systematic and Evolution** 243: 175 – 187.

Roalson, E.H. & Hinchliff, C.E.; Trevisan, R.; da Silva, C.R.M. 2010. Phylogenetic relationships in *Eleocharis* (Cyperaceae): C₄ photosynthesis origins and patterns of diversification in the spikerushes. **Systematic Botany** 35 (2): 257 – 271.

Ronquist, F. 1996. **DIVA, version 1.1**. Computer program and manual available by anonymous FTP at <ftp.uu.se> or <ftp.systbot.uu.se>, Uppsala University, Uppsala, Sweden.

Ronquist, F. 1997. Dispersal – vicariance analysis: A new approach to the quantification of historical biogeography. **Systematic Biology** 46 : 195 – 203.

Sanderson, M.J. 2002. Estimating absolute rates of molecular evolution and divergence times: A penalized likelihood approach. **Molecular Biology and Evolution** 19 : 101 – 109 .

Simpson, D.A. & Inglis, C.A. 2001. Cyperaceae of economic, ethnobotanical and horticultural importance: a checklist. **Kew Bulletin** 56: 257 – 360.

Starr, J.R. & Harris, S.A.; Simpson, D.A. 2004. Phylogeny of the unispicate taxa in Cyperaceae tribe Cariceae I: generic relationships and evolutionary scenarios. **Systematic Botany** 29 (3): 528 – 544.

Starr, J.R. & Naczi, R.F.C.; Chouinard, B.N. 2009. Plant DNA barcodes and species resolution in

sedges (*Carex*, Cyperaceae). **Molecular Ecology Resources** 9 (suppl.1): 151 – 163.

Simpson, D.A. & Muasya, A.M.; Alves, M.V.; Bruhl, J.J.; Dhooge, S. Phylogeny of Cyperaceae based on DNA sequence data – a new *rbcL* analysis. **Aliso: A Journal of Systematic and Evolutionary Botany** 23 (1): 72 – 83.

Swofford 2002

Vitta, F.A. 2005. **Revisão taxonômica e estudos morfológicos e biosistemáticos em *Cryptangium* Schrad. Ex Nees e *Lagenocarpus* Nees. (Cyperaceae: Cryptangieae)**. Tese de Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal. Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP. Campinas, São Paulo. 276 páginas.

Yano, O. & Katsuyama, T.; Tsubota, H.; Hoshino, T. 2004. Molecular phylogeny of Japanese *Eleocharis* (Cyperaceae) based on ITS sequence data, and chromosomal evolution. **Journal of Plant Research** 117: 409 – 419.

Yu, Y. & Harris, A.J.; He, X. 2010. S-DIVA (Statistical Dispersal – Vicariance Analysis): A tool for inferring biogeographic histories. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 56 : 848 – 850 .

APÊNDICE A – Circunscrição dos representantes da tribo Cryptangieae de acordo com as revisões taxonômicas de Koyama (2003, 2004) e Vitta (2005) e sua apresentação em listagem para o território brasileiro (Alves *et al.* 2009).



LEGENDA:
Verde – mesma circunscrição
Azul – mudança de circunscrição da espécie
Vermelho – mudança de gênero
Amarelo (realce) – circunscrição de Koyama (2004)
(*) – apresentação nova, Alves *et al.* (2009)?